

8. Jewett D.L. Auditory-evoked far fields averaged from the scalp of humans / D.L. Jewett, J.S. Williston. – Brain. 1971; 94(4):681–696.

9. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system / D.T. Kemp // J Acoustic Soc Am 1978; 64: 1386–91.

10. Prevalence of cerebral palsy and intellectual disability among children identified in two U.S. / M.J. Maenner, S.J. Blumberg, M.D. Kogan

[et al.] // National Surveys, 2011–2013. – Ann Epidemiol. – 2016 Jan 12.

11. Saugstad O.D. Perinatal health in Europe: neonatal aspects / O.D. Saugstad // Proceedings of the 5-th World Congress of Perinatal Medicine. – Barcelona, 2001. – 1–4.

12. The prevalence and predictive value of weak language skills in children with very low birth weight—a longitudinal study / S. Stolt, J. Ma-

tomaki, A. Lind [et al.]. – Acta Paediatr. – 2014 Jun; 103(6):651–8.

13. Windmill I.M. Universal screening of infants for hearing loss: Further justification / I.M. Windmill // J Pediatr. – 1998. – 318–319

14. Zwierzchowska A. Deafness and motor abilities level / A. Zwierzchowska, K. Gawlik, M. Grabara // Biology of Sport, Vol. – 2008. – 25: 263–274.

## МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

Г.Н. Маслякова, А.В. Медведева, И.С. Аристова

# ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ НИЗКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ СЛУЧАЕВ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОГО ВАРИАНТА ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА

УДК 616.61-006-036.22:311(470.44)(045)

Установлено и уточнено дифференцирование (грейд G) 358 случаев светлоклеточного почечно-клеточного рака с помощью морфологического и иммуногистохимического методов исследования. Составлена таблица реагирования цитокератиновых антител (СК 5/6, 7, 8, 10/13, 17, 18, 19, 20) для каждого G почечно-клеточного рака в сравнении с нормальной почечной тканью.

**Ключевые слова:** светлоклеточный почечно-клеточный рак, морфология, грейд, иммуногистохимия, цитокератины.

Differentiation (Grade) was installed and updated in 358 cases of renal clear cell carcinoma by morphological and immunohistochemical methods. Reaction table of cytokeratin antibodies (CK 5/6, 7, 8, 10/13, 17, 18, 19, 20) was compiled for each Grade of renal cell carcinoma with control of normal renal tissue.

**Keywords:** renal clear cell carcinoma, morphology, Grade, immunohistochemical method, cytokeratin antibodies.

**Введение.** Злокачественные опухоли почки занимают 10-е место среди других эпителиальных новообразований [1]. В отличие от большинства европейских стран и США, где ежегодный прирост уровня заболеваемости почечно-клеточным раком (ПКР) составляет 2–3% и вызывает у зарубежных исследователей тревогу, в России ежегодный прирост уровня заболеваемости ПКР составляет 6–9% [1,8,10–12,14]. Считается, что рак почки растет довольно медленно и длительно; имеет выраженную собственную фиброзную капсулу; не прорастает в лоханку, капсулу почки или сосуды органа. Однако со временем опухоль начинает проявлять агрессию – появляются признаки инвазии в вышеназванные структуры

почки, что является опасным в плане метастазирования [3,6,7,11].

ПКР длительное время клинически себя не проявляет, часто опухоли обнаруживают случайно, при профилактическом медицинском осмотре или при обследовании по поводу других заболеваний. Если же у больного появляются какие-либо жалобы (боли в области почек, гематурия), то в таких случаях, как правило, определяются уже запущенные стадии рака с инвазией в различные структуры почки или наличие метастазов [2,11]. В условиях такой неблагоприятной онкологической обстановки актуальным становится проведение всестороннего исследования для своевременного обнаружения и адекватной диагностики ПКР.

Тактика лечения и прогноз развития злокачественных опухолей почек определяются в первую очередь морфологической характеристикой опухолевого процесса [4,6,9,13]. Гистологическое исследование позволяет определить степень дифференцирования злокачественного новообразования, что крайне важно для прогноза течения заболевания. Для наиболее

распространенного – светлоклеточного варианта ПКР степень дифференцирования характеризуется показателем грейда опухоли (G). Существует 4 степени дифференцирования рака почки: G1 – максимально высокодифференцированная, G2 – умереннодифференцированная, G3 – низкодифференцированная, G4 – крайне низкодифференцированная или недифференцированная опухоль. По рекомендациям ВОЗ 2004 г. определены гистологические признаки грейда светлоклеточного ПКР: форма и размер ядер опухолевых клеток, распределение хроматина, форма и размер ядрышек, наличие митозов [9,13]. Чем выше степень дифференцирования опухоли (меньше G – G1), тем более мелкие и однотипные ядра она имеет (не более 10 мкм), хроматин и ядрышки не просматриваются. Со снижением дифференцирования (увеличением G – G3, G4) ядра становятся крупнее, полиморфнее, хроматин и ядрышки становятся различимы [4,9,13]. Однако установление степени дифференцирования злокачественной опухоли только гистологическим методом имеет несколько субъективный характер.

ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» МЗ России: **МАСЛЯКОВА Галина Никифоровна** – д.м.н., проф., зав. кафедрой, директор НИИ клинической и фундаментальной уронефрологии, **МЕДВЕДЕВА Анна Валентиновна** – к.м.н., доцент; **АРИСТОВА Ирина Сергеевна** – к.м.н., зав. кафедрой Саратовского филиала НОУ ВПО Медицинский университет «Реавиз», saratov@reaviz.ru, iriaristova@yandex.ru.

Иммуногистохимическое исследование в настоящее время считается «истиной в последней инстанции», так как позволяет максимально точно определить гистогенез опухоли и установить степень ее дифференцирования [5]. В настоящее время это является весьма актуальным, поскольку при низкой степени дифференцирования ПКР эпителиальные клетки теряют свой характерный вид и становятся более похожими на мезенхимальные. Именно этим аспектам в настоящее время уделяется пристальное внимание. Мы не встретили исследований, посвященных изучению зависимости экспрессии цитокератинов от степени дифференцирования ПКР, хотя это является чрезвычайно важным, так как именно степень дифференцирования определяет злокачественный потенциал опухоли.

Таким образом, **целью** нашего исследования явилось: проанализировать экспрессию цитокератинового профиля (5\6, 7, 8, 10\13, 17, 18, 19, 20) при различных степенях дифференцирования (G) светлоклеточного рака почки, что наиболее важно в низкодифференцированных случаях для диагностики и прогнозирования течения опухоли.

**Материалы и методы исследования.** Материалом для исследования явился послеоперационный материал 358 больных, оперированных в клинической больнице им. Р.В. Миротворцева ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» за 5,5 лет (с 2006 по 2011 г.). Был проведен анализ морфологических данных, включающих также данные иммуногистохимического исследования цитокератинового профиля (СК 5\6, 7, 8, 10\13, 17, 18, 19, 20) при различной степени дифференцирования (G1, G2, G3, G4) светлоклеточного ПКР. Уровень экспрессии антигенов осуществлялся путём суммарной оценки выраженности окрашивания опухолевых клеток и общего числа позитивно окрашенных клеток. Случай расценивался как позитивный, если имело место любое по интенсивности окрашивание более 10 % опухолевых клеток. При окрашивании менее 10 % опухолевых клеток результат расценивался как нулевой. Слабая реакция более чем у 10% опухолевых клеток со слабым окрашиванием расценивалась как «1+», при умеренном окрашивании более чем у 10 % опухолевых клеток – «2+», выраженное интенсивное окрашивание более чем 10% опухолевых клеток – «3+». В качестве группы сравнения выраженность экспрессии цито-

кератинов определялась в нормальной ткани почки (эпителий канальцев).

**Результаты и обсуждение.** При анализе историй болезни в период с 2006 по 2011 г. выяснилось, что в урологических отделениях клинической больницы им. Р.В. Миротворцева получили оперативное лечение по поводу различных опухолей почек 487 чел., из них злокачественными опухолями страдали 459 пациентов (94% всех опухолей), а наиболее распространенный светлоклеточный вариант ПКР был выявлен у 358 чел., что составило 82,5% от всех ПКР.

Из 358 светлоклеточных ПКР признаки инвазии имели 274, из них 35 – первые признаки начала метастазирования – раковые эмболы, прорастание в сосудистую ножку почки, а 19 – метастазы в лимфоузлы или гематогенные метастазы.

Согласно рекомендациям ВОЗ (2004), с помощью окуляра микрометра нами была определена степень дифференцирования (грейд - G) всех светлоклеточных ПКР. Были получены следующие данные: G1 почечно-клеточного рака обнаружили у 52 пациентов, G2 – у 199, G3 – у 75 и G4 – у 32. При анализе историй болезни было отмечено, что высоко- и умереннодифференцированные (G1 и G2) формы светлоклеточного ПКР чаще не имели клинических проявлений и обнаруживались случайно при плановом медицинском осмотре или при комплексном обследовании при наличии других заболеваний. В большинстве случаев ПКР не имел инвазивного роста и метастазов. Однако следует отметить, что в 17 случаях даже при высокой степени дифференцирования (G1 и G2) светлоклеточного рака все же имелись начальные признаки агрессивности – начало инвазии в капсулу или лоханку, что со временем, несомненно, прогрессировало бы и дало глубокую инвазию в структуры почки и, возможно, метастазы.

Все случаи низко- и недифференцированных форм светлоклеточного

ПКР (G3, G4) имели те или иные признаки инвазии, в некоторых случаях (12) – это только начало или неполная инвазия капсулы или лоханки почки, но чаще (из 107 в 95) наблюдались глубокая инвазия, прорастание в жировую клетчатку, надпочечник, сосудистую ножку почки, наличие регионарных или отдаленных метастазов.

При проведении иммуногистохимического исследования мы учитывали данные литературы о том, что цитокератиновые антитела дают положительную реакцию на эпителиальные клетки. Так, в зарубежных и отечественных источниках имеются данные, что светлоклеточный ПКР дает положительную реакцию на СК высоких цифр – СК18, СК19 [9,13].

При анализе иммуногистохимической реакции на цитокератины мы выявили, что нормальные эпителиальные клетки почечных канальцев дают умеренную или выраженную положительную иммуногистохимическую реакцию на цитокератины как низких, так и высоких цифр (СК 5\6, 10\13, 17, 18, 19), кроме СК7 и СК20 (таблица).

Светлоклеточный ПКР высокодифференцированный (G1) дал положительную реакцию со всем рядом цитокератинов, кроме СК7, однако наиболее выраженная положительная реакция наблюдалась при обработке СК18. Умереннодифференцированный (G2) рак почки выявил похожую реакцию: выраженная положительная реакция с цитокератинами высоких цифр – максимальная реакция с СК18, с СК 7 – отрицательная, с СК 5\6 – слабopоложительная реакция. При анализе иммуногистохимической реакции низкодифференцированного (G3-4) ПКР была отмечена ярко выраженная положительная реакция СК 17,19,20 и слабо выраженная или отрицательная реакция СК 5\6, 7,8,10\13. Следует отметить, что в случаях низкодифференцированного ПКР с саркоматозными элементами (G4) даже реакция СК18 была отрицательной (таблица), что, возможно, связано с приобретением

#### Сравнительная характеристика реагирования цитокератинов (СК) при различной степени дифференцирования (G) светлоклеточного почечно-клеточного рака

Исслед. материал	Антитела							
	СК 5\6	СК 7	СК 8	СК 10\13	СК 17	СК 18	СК 19	СК 20
N ткань (эпителий канальц.)	2+	0	1+	2+	2+	3+	3+	0
G1	2+	0	2+	2+	2+	3+	2+	2+
G2	1+	0	2+	2+	2+	3+	2+	2+
G3	0	0	2+	0	0	3+	2+	0
G4	0	0	2+	2+	3+	0	3+	3+

Примечание. 0 – отсутствие реакции, 1+ слабо положительная, 2+ умеренно положительная, 3+ резко положительная реакции.

низкодифференцированными опухолевыми клетками функционального и морфологического атипизма. Клетки стромы опухоли всегда давали только отрицательный результат реагирования антител, что определялось только при иммуногистохимическом исследовании, тогда как при окраске гематоксилином и эозином дифференцировать саркомоподобные опухолевые элементы от стромы было невозможно. Примечательно, что реакция СК7 во всех случаях светлоклеточного ПКР была отрицательной. Однако использование СК7 возможно для дифференциальной диагностики светлоклеточного варианта с другими вариантами ПКР (например, при хромофобном ПКР, по данным литературы [9,13], реагирование с СК7 положительное). Таким образом, разные степени дифференцирования (G) светлоклеточного варианта ПКР реагируют с различными цитокератинами по-разному и только на основе реакции цитокератиновых антител уточнить степень дифференцирования светлоклеточного ПКР практически невозможно, необходимо использование комплексного гистологического и иммуногистохимического исследования.

**Заключение.** Поиск новых методов диагностики и прогноза развития ПКР является актуальной проблемой в связи с увеличением частоты развития опухолей, их поздней диагностикой, агрессивным течением и неблагоприятным прогнозом. Использование дополнительного иммуногистохимического исследования при низкодифференцированных опухолях почки является целесообразным и может являться обязательным методом, последовательно выполняемым после стандартного гистологического исследования. Иммуногистохимический метод с помощью цитокератинового ряда антител позволяет провести диф-

ференциальную диагностику саркоматозного ПКР с мезенхимальными опухолями, определить вариант опухоли и в некоторых случаях поможет уточнить G (грейд) опухоли, что позволит своевременно назначить адекватное лечение и спрогнозировать течение заболевания.

### Литература

1. Давыдов М.И. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2006 году / М.И. Давыдова, Е.М. Аксель // Вестник Российского онкологического научного центра имени Н.Н. Блохина РАМН. - 2008. - Т. 19. № 2 (прил.1). - 152 с.
2. Davydov M.I. Malignant tumors in Russia and the CIS countries in 2006 / M.I. Davydov, E.M. Aksel // Bulletin of the Russian Cancer Research Center named after NN Blokhin. - 2008. - T. 19. № 2 (pril.1). - 152.
3. Завалишина Л.Э. Молекулярно-биологические факторы инвазивного роста и метастазирования рака при морфологическом исследовании: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Л.Э. Завалишина. - М., 2006. - 45 с.
4. Zavalishina L.E. Molecular-biological factors of invasive growth and metastasis of cancer at morphological research: avtoref.dis. ... Dr. med. Sciences / L.E. Zavalishina. - M., 2006. - 45 s.
5. Клинико-морфологические и молекулярно-биологические особенности почечно-клеточного рака в прогнозировании результатов хирургического лечения / В.С. Дорошенко, А.Ф. Лазарев, С.Ф. Варламов [и др.] // Проблемы клинической медицины. - 2008. - № 1(13). - С. 39-48.
6. Clinical and morphological and molecular biological characteristics of renal cell carcinoma in predicting the results of surgical treatment / V.S. Doroshenko, A.F. Lazarev, S.F. Varlamov [et al.] // Problems of clinical medicine. - 2008. - № 1 (13). - P. 39-48.
7. Пальцев М.А. Атлас патологии опухолей человека / М.А. Пальцев, Н.М. Аничков. - М.: «Медицина», 2005. - 424 с.
8. Paltsev M.A. Atlas of pathology of human tumors / M.A. Paltsev, N.M. Anichkov. - M.: «Medicine», 2005. - 424 p.
9. Петров С.В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С.В. Петров, Н.Т. Райхлин. - Казань, 2004. - 451 с.
10. Petrov S.V. Manual immunohistochemical diagnosis of human tumors / S.V. Petrov, N.T. Reichlin. - Kazan, 2004. - 451 p.
11. Пономарева Ю.А. Клинико-морфологические критерии прогноза при раке почки: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ю.А. Пономарева. - СПб., 2007. - 19 с.
12. Ponomareva Y.A. Clinical and morphological criteria for prognosis in renal cancer. author. diss. ... PhD / Y.A. Ponomareva. - SPb., 2007. - 19 p.
13. Роль некоторых клинико-морфологических критериев в прогнозе рака почки / С.Х. Аль-Шукри, М.Г. Рыбакова, А.Э. Лукьянов, Ю.А. Пономарева // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. - 2005. - Т.12, №3. С.34-38.
14. The role of some clinical and morphological criteria in the prediction of kidney cancer / S.H. Al-Shukri, M.G. Rybakova, A.E. Lukyanov, Y. Ponomareva // Scientific notes of State Medical University. Acad. I.P. Pavlova. - 2005. - vol.12, №3. S.34-38.
15. Состояние онкологической помощи населению России в 2008 г. / Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. - М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий». - 2009. - 192 с.
16. Status of cancer care to the population of Russia in 2008 / Ed. V.I. Chissova, V.V. Starinskaya, G.V. Petrova. - M. FSI «MNIOT them. PA Gertsena Medical Technologies». - 2009. - 192 p.
17. Юрин А.Г. Опухоли почек (рабочие стандарты патологоанатомического исследования) / А.Г. Юрин. - СПб.: Издательство СПб. городского патологоанатомич. бюро, 2006. - 83 с.
18. Jurin A.G. Tumors of the kidney (mortem examination working standards) / A.G. Jurin. - A.S. Saint-Petersburg: Publishing St. Petersburg City mortem Bureau, 2006. - 83 p.
19. Automated uro-oncology data collection: the Cancer Research Uro-Oncology Database / Charlesworth P.J., Kilbey N., Taylor M. [et al.] // BJU Int. 2009. Nov. Vol. 20. [Epub ahead of print].
20. TNM T3A renal cell carcinoma: adrenal gland involvement in not the same as renal fat invasion / Han K.R., Bui M.H., Pantusk A.J. [et al.] // J. Urol. 2003. Vol. 169. P. 899-903.
21. Jemal A. Cancer statistics, 2002 / A. Jemal // Cancer J.Clin. 2002. Vol. 52. P. 23-47.
22. Pathology and Genetics of Tumors of Urinary System and Male Genital Organs / Eds. John N. Eble, Guido Sauter, Jonathan I. Epstein, Esabell A. Sesterhen // World Health Organization Classification of Tumors. - Lion, 2004. - P. 5-76. (359 p.).
23. American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer, 2004 / Smith R.A., Cokkinides V., Eyre H.J. // Cancer J. Clin. - 2004. - Vol. 54. - P. 41-52.