

В. Е. Вотева, С. И. Тертышный

Гистоморфометрическая характеристика супратенториальных менингиом головного мозга

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: менингиома, площадь поперечного сечения ядер, плотность клеток.

Гистоморфометрические исследования имеют потенциальную ценность для диагностических целей при изучении опухолей головного мозга. С целью гистоморфометрического исследования менингиом изучили операционный материал, полученный во время нейрохирургических операций у 39 больных в возрасте от 40 до 66 лет. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и еозином; ядра клеток изучали с помощью морфометрических показателей (площадь поперечного сечения, диаметр объекта; дополнительные – коэффициенты формы и элонгации). Количественный анализ плотности расположения опухолевых клеток проводили с использованием морфометрической сетки со сторонами 100×130 мкм. Установили, что площадь поперечного сечения ядер опухолевых клеток в доброкачественных менингиомах при различных ее вариантах характеризуется сходными размерами. Плотность расположения клеток зависит от выраженности фиброза и обызвествления в различных вариантах доброкачественных менингиом. При атипических и анапластических менингиомах возрастает площадь поперечного сечения ядер опухолевых клеток и увеличение плотности их расположения, что отражает нарастание степени их атипии. Это указывает на целесообразность использования морфометрического метода для улучшения диагностики менингиом различных стадий злокачественности.

Гістоморфометрична характеристика супратенторіальних менингіом головного мозку

В. Є. Вотева, С. І. Тертишний

Гістоморфометричні дослідження мають потенційну цінність для діагностичних цілей при вивченні пухлин головного мозку. З метою гістоморфометричного дослідження менингіом вивчили операційний матеріал, який отримали під час нейрохірургічних операцій у 39 хворих віком від 40 до 66 років. Гістологічні препарати фарбували гематоксилином і еозином; ядра клітин вивчали за допомогою морфометричних показників (площа поперечного перерізу, діаметр об'єкта; додаткові – коефіцієнти форми й елонгації). Кількісний аналіз щільності розміщення пухлинних клітин виконували з використанням морфометричної сітки зі сторонами 100×130 мкм. Встановили, що площа поперечного перерізу ядер пухлинних клітин у доброякісних менингіомах при їх різних варіантах характеризується схожими розмірами. Щільність розташування клітин залежить від вираженості фіброзу та вапнування в різноманітних варіантах доброякісних менингіом. При атипових та анапластичних менингіомах збільшується площа поперечного перерізу ядер пухлинних клітин і збільшення щільності їхнього розташування, що показує підвищення ступеня їхньої атипії. Це вказує на доцільність використання морфометричного методу для поліпшення діагностики менингіом різних стадій злоякісності.

Ключові слова: менингіома, площа поперечного перерізу ядер, щільність клітин.**Патологія.** – 2014. – №1 (30). – С. 72–75

Histological and morphometric characteristics of supratentorial meningiomas of the brain

W. E. Voteva, S. I. Tertishnyi

Aims. Histological and morphometric investigation was performed in this work, using meningioma samples, obtained during neurosurgical treatment.

Methods and results. It is shown that the cross sectional area of the nuclei of tumor cells in benign meningiomas in different subtypes is characterized by similar dimensions. The density of the cells depends on the extent of fibrosis and calcification in various subtypes of benign meningiomas.

Conclusion. Cross-sectional area of the nuclei of tumor cells and density of their location is increased in atypical and anaplastic meningiomas, which reflects the increasing degree of atypia. This indicates the expediency of using a morphometric method for improving the diagnosis and grading of these tumors.

Key words: meningioma, nuclear morphometry, cell density.**Pathologia.** 2014; №1 (30): 72–75

Развитие современных методов клинической диагностики и хирургического лечения опухолей ЦНС диктует необходимость достоверной морфологической верификации опухолевого поражения с определением его гистогенеза, морфологического варианта и степени злокачественности новообразования. В последней классификации ВОЗ [1] продолжается обсуждение взаимоотношений гистологической структуры менингиом и агрессивности их роста, прогноза качества жизни, а также частоты рецидивирования. Установление степени злокачественности менингиомы – важный фактор опре-

деления биологического поведения опухоли и решающее обстоятельство в выборе терапевтических методов [2]. Однако нередко гистологическое исследование не позволяет определить степень злокачественности неопластического процесса, а проведение относительно дорогостоящих иммуногистохимических исследований во многих лабораториях крайне ограничено. Между тем в патогистологических исследованиях опухолевых заболеваний широко используются более доступные морфометрические методы, позволяющие максимально объективизировать процесс диагностики [3–5].

Работы по компьютерному анализу морфометрических данных опухолей ЦНС единичны [6–9], однако гистоморфометрические исследования имеют потенциальную ценность для диагностических целей при исследовании опухолей головного мозга [10,11].

Цель работы

Провести гистоморфометрический анализ клеточного состава менингиом, необходимый для улучшения их дифференциальной диагностики.

Материалы и методы исследования

В работе изучен операционный материал менингиом, удаленный во время нейрохирургических операций у 39 больных в возрасте от 40 до 66 лет. В группу исследования включены 30 доброкачественных менингиом (Grade I): 7 менинготелиоматозных менингиом ($n=7$), 4 ангиоматозных ($n=4$), 6 фиброзных ($n=6$), 7 переходных ($n=7$), 6 псаммоматозных ($n=6$), 2 атипичические ($n=2$) – Grade II и 7 анапластических менингиом ($n=7$) – Grade III [1].

Проведен гистоморфометрический анализ гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином. Количественные показатели вычисляли с использованием компьютерной системы цифрового анализа изображений KS 200 (Kontron Elektronik, Германия, лиц. №0200299). Исследуемые объекты (ядра клеток) изучали с помощью морфометрических показателей: площадь поперечного сечения (AREA), диаметр объекта (диаметр объектов неправильной формы вычисляли через эквивалентную их площадь – параметр DCIRCLE). В качестве дополнительных морфометрических характеристик изучаемых объектов использовали коэффициенты (индексы) формы (КФ) и элонгации (КЭ). Эти коэффициенты более объективно характеризовали опухолевый клон клеток. Коэффициент формы вычисляли по формуле $FCIRCLE=4\pi AREA/PERIM$. Его значение было равно «1» для идеально круглых объектов и приближалось к «0» для максимально удлинённых. Коэффициент элонгации характеризовал степень удлиненности исследуемого объекта, его вычисляли как отношение минимального линейного размера к максимальному линейному размеру объекта. Все указанные характеристики вычисляли в автоматическом режиме, что позволило получить объективную характеристику изучаемых структурных элементов.

Количественный анализ плотности расположения опухолевых клеток проводили с использованием морфометрической сетки со сторонами 100×130 мкм. При исследовании количественных параметров в каждом наблюдении проанализировали от 10 до 20 полей зрения при увеличении микроскопа в 600 раз. В целях исключения ошибок в ходе количественной морфометрии все этапы обработки гистологического материала были строго унифицированы. Для повышения точности морфометрических исследований один и тот же объект измеряли 4 раза. Вычисленная граница ошибки при проведении морфометрических исследований составила 4,48%.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе «Statistika® for Windows 6.0». Вы-

числяли среднее значение (M), среднее квадратическое отклонение (σ), стандартную ошибку репрезентативности среднего значения (m), рассчитывали 95% доверительный интервал среднего значения. Корреляционную связь выявляли с расчетом коэффициента Пирсона (для непараметрических данных). Результаты считали достоверными при $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение

Гистоморфологически большинство изученных опухолей имели неоднородный тканевой и клеточный состав. В структуре менингиом одного и того же гистологического варианта отмечали участки других вариантов доброкачественных менингиом, поэтому при гистологическом исследовании вариант опухоли верифицировали по преобладающему компоненту.

В фиброзных менингиомах преобладающим типом клеток являлись фибробластоподобные арахноидэндотелиоциты с овальными, вытянутыми ядрами, содержащие мелкозернистый хроматин, нередко ядра были гиперхромными. Клетки формировали пучки, идущие в разных направлениях, часто отмечали концентрические структуры, псаммомные тельца и участки гиалиноза. Плотность опухолевых клеток составляла $46,6\pm 13,22$. В участках фиброзных менингиом с волокнистым межклеточным матриксом, площадь которого нередко превышала клеточную массу, преобладали клетки с площадью поперечного сечения ядер $37,13\pm 4,47$ мкм². КФ и КЭ составил $0,80\pm 0,07$ и $0,62\pm 0,12$ соответственно. В участках однородного компактного матрикса не волокнистого строения имело место новообразование микрососудов.

Псаммоматозные менингиомы содержали большое число концентрических и псаммомных телец различного размера. Степень выраженности обызвествления также была различной: от начинающегося до сплошных известковых тел с хорошо выраженной слоистостью. От этого зависела и плотность клеток опухоли, которая составляла в участках с умеренным количеством псаммомных телец $46,5\pm 4,0$. Клетки опухоли вне концентрических структур и псаммомных тел были сходны с клетками менинготелиоматозной менингиомы, имели площадь поперечного сечения ядер $39,14\pm 6,72$ мкм², КФ и КЭ – $0,89\pm 0,04$ и $0,74\pm 0,1$ соответственно.

Переходные менингиомы характеризовались сочетанием участков менинготелиоматозного, синцитиального типа и участков с типичной фибробластической дифференцировкой. В соответствие с этим регистрировали 2 группы клеток, различающихся по морфометрическим показателям: с площадью поперечного сечения ядер $49,78\pm 5,93$ и $30,59\pm 4,16$ мкм² соответственно; КФ – $0,87\pm 0,05$ и $0,67\pm 0,10$, КЭ – $0,54\pm 0,13$ и $0,43\pm 0,11$. Плотность клеток в поле зрения в среднем составляла $70\pm 6,5$. В опухоли отмечали обилие менинготелиоматозных концентрических структур диаметром в среднем 50 мкм, часто вокруг центрально расположенного сосуда. Сосуды преобладали в участках более рыхлого строения с меньшей плотностью клеточного компонента и преобладанием стромального компонента волокнистого строения.

Менинготелиоматозные менингиомы представлены

большими клетками со светлыми ядрами с диффузным расположением мелкозернистого хроматина. Большинство клеток имели полигональную форму и не имели четких границ. Плотность клеток в поле зрения в среднем составила 55 ± 5 , площадь поперечного сечения ядер – $45,24 \pm 4,77$ мкм², КФ и КЭ – $0,87 \pm 0,02$ и $0,71 \pm 0,1$ соответственно. В участках повышенной клеточной плотности клетки формировали завихрения с образованием концентрических структур, между которыми находилась более рыхлая опухолевая ткань с большим количеством мелких клеток и большим количеством сосудов. Развитие соединительнотканного компонента в опухоли было скудное, единичные пучки коллагеновых волокон разделяли опухолевую ткань на ячейки, что придавало ей альвеолярное строение. Стенки большинства сосудов были толстые, склерозированные, местами гиалинизированные. В окружности опухоли определяли утолщенные мозговые оболочки с множеством толстостенных сосудов. В опухоли также отметили мелкие участки обызвествления диаметром 44–90 мкм.

Ангиоматозная менингиома при гистологическом исследовании сходна с менинготелиоматозным вариантом опухоли, однако отмечены различия в виде обилия мелких и крупных сосудов с толстыми, частично гиалинизированными стенками, а также более значительным ядерным полиморфизмом опухолевых клеток. Ядра преимущественно были крупные, с ровными контурами ядерной мембраны, гиперхромные, с признаками дистрофии и площадью поперечного сечения $44,78 \pm 6,92$ мкм², КФ – $0,87 \pm 0,04$, КЭ – $0,7 \pm 0,09$. Плотность клеток в поле зрения в среднем составляла $61,66 \pm 2,2$. В единичных клетках при тщательном изучении большого количества полей зрения отмечены митозы. Кроме большого количества сосудов обнаружены многочисленные клетки с вакуолизированной цитоплазмой, встречались кровоизлияния. Такая картина напоминала гемангиобластому, но наличие участков с концентрическими структурами позволяло установить правильный диагноз.

Гистологическая картина атипических менингиом имела сходство с менингиомами других типов, чаще напоминала менинготелиоматозный вариант. Однако они отличались более высокой плотностью клеток – 82 клетки в поле зрения, более выраженным ядерным полиморфизмом, наличием митозов и мелких участков некрозов. Площадь поперечного сечения ядер опухолевых клеток составляла $65,78 \pm 16,97$ мкм², КФ и КЭ – $0,80 \pm 0,08$ и $0,59 \pm 0,11$ соответственно.

Анапластические менингиомы характеризовались плотным расположением клеток в виде скоплений с нечеткими границами. Ядра округлой или округло-овальной формы с неровными контурами ядерной мембраны, гиперхромные, с выраженным ядерным полиморфизмом, иногда множественные и гигантские с грубой структурой хроматина со средними значениями площади поперечного сечения $72,6 \pm 19,79$. КФ и

КЭ – $0,83 \pm 0,02$ и $0,69 \pm 0,09$ соответственно. Плотность клеток в поле зрения в среднем составляла $94 \pm 12,5$. При анапластической менингиоме отсутствовали концентрические структуры, псаммомные тельца и очаги обызвествления, что характерно для доброкачественных вариантов менингиом. Частый признак злокачественной менингиомы – некротические изменения различной формы и величины.

При атипических и анапластических менингиомах существенно возрастает площадь поперечного сечения ядер опухолевых клеток, что отражает нарастание степени их атипичности (линейная зависимость между степенью нарастания площади ядер и градацией злокачественности Grade – прямая сильная связь, коэффициент Пирсона $r=0,89$, $p<0,05$). При этом также возрастают в сравнении с доброкачественными менингиомами средние абсолютные значения отклонений данных, что говорит о значительном разбросе (дисперсии) множества количественных характеристик и позволяет активизировать меру полиморфизма клеток.

В работах зарубежных авторов установлена статистическая связь между отдельными морфометрическими параметрами и клиническим течением менингиом [6]. Ядерный полиморфизм, отмеченный в нашем исследовании, сам по себе не является достаточным критерием для отличия атипических менингиом от злокачественных, но в сочетании с фактором формы и митотической активностью, как указывают авторы, может помочь в дифференциальной диагностике этих опухолей [3]. Также в исследовании установлена достоверная связь между площадью поперечного сечения ядер опухолевых клеток и нарастанием степени злокачественности менингиом.

Показатели площади поперечного сечения ядер и плотности расположения клеток в изученных менингиомах представлены на *рис. 1*.

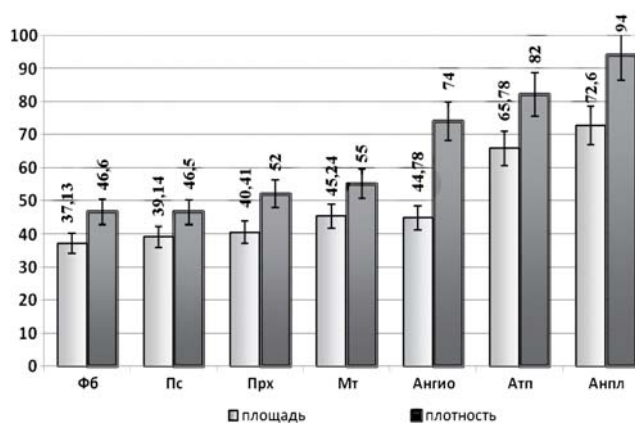


Рис. 1. Показатели площади поперечного сечения ядер и плотности расположения клеток в изученных менингиомах.

Примечания: Фб – фиброзные менингиомы, Пс – псаммоматозные менингиомы, Прх – переходные менингиомы, Мт – менинготелиоматозные менингиомы, Ангио – ангиоматозные менингиомы, Атп – атипические менингиомы, Анапл – анапластические менингиомы.

Выводы

Клеточный состав доброкачественных менингиом характеризовался опухолевыми клетками, практически сходными по своим размерам. Плотность клеток в поле зрения во многом зависела от выраженности фиброза и обызвествления в различных вариантах доброкачественных менингиом.

При атипических и анапластических менингиомах существенно возрастает площадь поперечного сечения ядер опухолевых клеток, что отражает нарастание степени их атипии. Нарастание степени атипии также сопровождается увеличением плотности расположения

опухолевых клеток. В отличие от плотности расположения клеток и площади поперечного сечения ядер, коэффициенты формы и элонгации не показательны для установления степени злокачественности менингиомы и определения их агрессивности.

Проведенные исследования указывают на целесообразность использования морфометрического метода для улучшения диагностики различных менингиом.

Перспективы дальнейших исследований в данном направлении предполагают выделение достоверных морфометрических критериев для оценки частоты рецидивирования менингиом и агрессивности их роста.

Список литературы

1. WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System / D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler (Eds.) [et al.]. – Geneva, 2007. – 309 p.
2. Commins D.L. Review of Meningioma Histopathology / D.L. Commins, R.D. Atkinson, M.E. Burnett // *Neurosurg. Focus.* – 2007. – Vol. 23. – № 4. – P. E3.
3. Atypical meningioma: morphometric analysis of nuclear pleomorphism / [A. Pennella, C. Ferri, T. Lettini et al.] // *Pathologica.* – 2000. – Vol. 92. – № 1. – P. 25–31.
4. Sreeshyla H.S. Morphometric evaluation of AgNORs in odontogenic cysts / H.S. Sreeshyla, R. Shashidara, U.S. Sudheendra // *Anal Quant Cytol Histol.* – 2013. – Vol. 35. – № 5. – P. 273–277.
5. Quantitative morphometric analysis of hepatocellular carcinoma: development of a programmed algorithm and preliminary application / [F.Y. Yap, J.T. Bui, M.G. Knuttinen et al.] // *Diagn Interv Radiol.* – 2013. – Vol. 19. – № 2. – P. 97–105.
6. Computerized morphometry as an aid in distinguishing recurrent versus nonrecurrent meningiomas / [S. Noy, E. Vlodaysky, G. Klorin et al.] // *Anal Quant Cytol Histol.* – 2011. – Vol. 33. – № 3. – P. 141–150.
7. Inagawa H. Qualitative and quantitative analysis of cytologic assessment of astrocytoma, oligodendroglioma and oligoastrocytoma / H. Inagawa, K. Ishizawa, T. Hirose // *Acta Cytol.* – 2007. – Vol. 51. – № 6. – P. 900–906.
8. Karyometric features of low and high grade glial tumors as compared with their MRI appearance / [M. Scarpelli, R. Montironi, U. Salvolini et al.] // *Anal. Quant. Cytol. Histol.* – 2004. – Vol. 26. – № 2. – P. 87–96.
9. Батороев Ю.К. Цитопатология и гистоморфология опухолей нервной системы : дис. на соискание ученой степени д.мед.н. / Ю.К. Батороев. – Иркутск, 2009. – 310 с.
10. Nafe R. Histomorphometry of brain tumours / R. Nafe, W. Schlote // *Neuropathol Appl Neurobiol.* – 2004. – Vol. 30. – № 4. – P. 315–328.
11. Boruah D. Utility of Nuclear Morphometry in Predicting Grades of Diffusely Infiltrating Gliomas / D. Boruah, P. Deb // *ISRN Oncology.* – 2013. – Vol. 1. – № 8. – 8 p.

References

1. Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Cavenee, W. K. (Eds.). (2007). *World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System.* Geneva, Switzerland
2. Commins, D. L., Atkinson, R. D., & Burnett, M. E. (2007) Review of Meningioma Histopathology. *Neurosurgical Focus*, 23(4), E3.
3. Pennella, A., Ferri, C., Lettini, T., Serio, G., Cimmino, A., Caniglia, D. M., et al. (2000). Atypical meningioma: morphometric analysis of nuclear pleomorphism. *Pathologica*, 92(1), 25–31.
4. Sreeshyla, H. S., Shashidara, R., & Sudheendra, U. S. (2013). Morphometric evaluation of AgNORs in odontogenic cysts. *Analytical and quantitative cytology and histology*, 35(5), 273–277.
5. Yap, F. Y., Bui, J. T., Knuttinen, M. G., Walzer, N. M., Cotler, S. J., Owens, C. A., et al. (2013). Quantitative morphometric analysis of hepatocellular carcinoma: development of a programmed algorithm and preliminary application. *Diagnostic and interventional radiology*, 19(2), 97–105. doi: 10.4261/1305-3825.
6. Noy, S., Vlodaysky, E., Klorin, G., Drumea, K., Ben Izhak, O., Shor, E., & Sabo, E. (2011). Computerized morphometry as an aid in distinguishing recurrent versus nonrecurrent meningiomas. *Analytical and quantitative cytology and histology*, 33(3), 141–50.
7. Inagawa, H., Ishizawa, K., & Hirose, T. (2007). Qualitative and quantitative analysis of cytologic assessment of astrocytoma, oligodendroglioma and oligoastrocytoma. *Acta Cytologica*, 51(6), 900–906.
8. Scarpelli, M., Montironi, R., Salvolini, U., Messori, A., & Bartels, P. H. (2004). Karyometric features of low and high grade glial tumors as compared with their MRI appearance. *Analytical and quantitative cytology and histology*, 26(2), 87–96.
9. Батороев, Ю. К. (2009) *Цитопатология и гистоморфология опухолей нервной системы* (Dis... dokt. med. nauk). [Cytopathology and histomorphology of tumors of the nervous system. Dr. med. sci. diss.]. Irkutsk [in Russian].
10. Nafe, R., & Schlote, W. (2004). Histomorphometry of brain tumours. *Neuropathology and applied neurobiology*, 30(4), 315–328.
11. Boruah, D., & Deb, P. (2013). Utility of Nuclear Morphometry in Predicting Grades of Diffusely Infiltrating Gliomas. *ISRN Oncology*, 2013, 1–8. doi: 10.1155/2013/760653/eCollection 2013.

Сведения об авторах:

Вотева В. Е., заочный аспирант каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: vanda.voteva@yandex.ru.

Тертышный С. И., д. мед. н., профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права, Запорожский государственный медицинский университет.

Надійшла в редакцію 08.04.2014 р.