Л.М. Захарцева
Е.В. Черкасов
Л.Г. Некрасова

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ, Україна

Ключові слова: *діагностика, гепатоцелюлярна карцинома, фіброламелярний варіант, аденома печінки, імуногістохімія.*

ДІАГНОСТИКА ФІБРОЛАМЕЛЯРНОГО ВАРІАНТА ГЕПАТОЦЕЛЮЛЯРНОЇ КАРЦИНОМИ

Діагностика фіброламелярного варіанта гепатоцелюлярної карциноми, (ФЛ-ГЦК) викликає труднощі в практичній медицині. Виходячи з цього, в статті наведено огляд сучасних методів діагностики ФЛ-ГЦК, морфологічну характеристику цього варіанта раку, опис властивого йому імунофенотипу, а також критеріїв диференційної діагностики, висвітлено власний досвід діагностики ФЛ-ГЦК у хворої 1999 р. народження.

Гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК) — злоякісна пухлина, що походить з гепатоцитів. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), станом на 1990 р. частота первинного раку печінки серед усіх злоякісних новоутворень, за винятком раку шкіри, становила 7,2% у чоловіків та 3,4% у жінок [1].

Існує декілька гістологічних підтипів ГЦК. Зокрема, фіброламелярний варіант (ФЛ-ГЦК) становить 1% серед усіх ГЦК. Відмінності між зазначеними морфологічними формами полягають у тому, що фіброламелярний варіант трапляється переважно у молодих пацієнтів у неураженій гепатитом печінці. При цьому варіанті, як правило, не спостерігається підвищення рівня альфа-фетопротеїну в сироватці крові. Дані щодо прогнозу фіброламелярного варіанта порівняно зі звичайною ГЦК у різних дослідженнях суперечливі. Остання виникає переважно у пацієнтів старшого віку, які часто мають цироз печінки [2]. У доступній літературі описано випадок раку печінки змішаної гістологічної будови з поєднанням звичайної ГЦК з фіброламелярним варіантом [3]. Класифікація пухлин травного тракту (ВООЗ 2000 р.) розглядає фіброламелярний варіант як цитологічний різновид ГЦК, але у сучасній класифікації ВООЗ 2010 р. ФЛ-ГЦК описується як окрема нозологічна одиниця (ICD-O code: 8171/3) [1, 4].

Клінічно ФЛ-ГЦК проявляється незначним болем у животі, нудотою, слабкістю та зменшенням маси тіла. Як правило, біохімічні маркери функції печінки у нормі або дещо підвищені [5].

Резекція печінки є методом вибору у лікуванні хворих на ФЛ-ГЦК, включаючи рецидивні випадки. Частота рецидивів при ФЛ-ГЦК коливається від 30 до 100%, середній термін розвитку рецидивів — 37 міс. У нерезектабельних випадках рекомендується трансплантація печінки. Ефективність неоад'ювантної та ад'ювантної хіміотерапії у пацієнтів із ФЛ-ГЦК залишається не доведеною, враховуючи, що даних про терапевтичний ефект недостатньо у зв'язку з низькою частотою цієї патології [6].

ФЛ-ГЦК характеризується позитивною реакцією при визначенні специфічних для гепатоцитів імуногістохімічних маркерів: аргінази-1, HepPar-1, раково-ембріонального антигену (pCEA), Glypican-3 (позитивна реакція відмічається у ⅔ випадків). Переважно в клітинах пухлини виявляють позитивну реакцію при визначенні цитокератину 7-го типу (CK7) та антигену CD68. У разі негативної реакції на згадані маркери діагноз ФЛ-ГЦК вважається сумнівним [7].

Нещодавно з'явилися дані про роль методу флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH) та зворотної полімеразної ланцюгової реакції (RT-PCR) у підтвердженні діагнозу ФЛ-ГЦК. У 80% випадків у клітинах пухлини виявляють делецію гена білка теплового шоку (DNAJB1) на 19-й хромосомі з утворенням химерного транскрипту DNAJB1-PRKACA. Транскрипт DNAJB1-PRKACA та реаранжування локуса PRKACA встановлюють за допомогою RT-PCR та FISH відповідно, які у майбутньому можуть бути використані з метою верифікації ФЛ-ГЦК у складних діагностичних випадках [7, 8].

Враховуючи наявність у клінічній практиці патологоанатомів помилок при діагностиці ФЛ-ГЦК через невисоку частоту цього варіанта ГЦК, представляємо випадок ФЛ-ГЦК із метастазом у середостінні з власної практики.

КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК

Пацієнтка І., 1999 р. народження, у 2014 р. звернулася зі скаргами на біль тупого характеру у ділянці правого підребер'я. З анамнезу захворювання відомо, що пацієнтка вважає себе хворою протягом місяця, коли вперше при проходженні профілактичного планового ультразвукового дослідження виявлено новоутворення у печінці. За даними ультразвукового дослідження від 13.12.2013 р., у проекції IV та V сегментів печінки візуалізується гіпоехогенне утворення розміром 8,2×5,2 см.

Пацієнтка не хворіла на вірусні гепатити, туберкульоз, венеричні хвороби. Алергологічний анамнез не обтяжений. Загальний стан пацієнт-

ки задовільний, на момент огляду свідомість ясна. Шкіра тілесного кольору, слизові оболонки — блідо-рожеві, чисті. Периферична пастозність відсутня. Тони серця ритмічні, звучні. При аускультації патологічні шуми не вислуховуються. Гемодинаміка стабільна. Артеріальний тиск: 120/70 мм рт. ст. Пульс: 70 уд./хв. Дихання везикулярне. Хрипи відсутні. Частота дихання: 14 дихальних рухів за хвилину. Живіт м'який, бере участь у акті дихання, при пальпації чутливий, доступний глибокій пальпації. Симптоми подразнення очеревини не визначаються. Перистальтика задовільної активності. Фізіологічні випорожнення в нормі, регулярні. Діурез задовільний.

За даними лабораторного дослідження, маркери вірусних гепатитів негативні. Значення онкомаркерів (альфа-фетопротеїну, CA-19–9, CA-125, раково-ембріонального антигену) — у межах норми.

На початку 2014 р. в одному з наукових медичних інститутів було проведено оперативне лікування — мезогепатектомію з лімфодисекцією вузлів черевного стовбура та гепатодуоденальної зв'язки. При ревізії печінки: у IV та V сегментах та частково VIII виявлено солідне утворення 12×14×12 см. Післяопераційний період проходив без ускладнень.

Патогістологічний висновок: гепатоцелюлярна аденома печінки. У зрізах лімфатичних вузлів ознак реактивної гіперплазії злоякісного росту не виявлено. У вересні 2017 р. пацієнтка поступила в районну лікарню зі скаргами на виражену задишку у стані спокою, біль у грудній клітці, переважно справа, вологий кашель. З анамнезу: захворіла раптово 17.09.2017 р., коли з'явилися одноразове блювання, задишка, вологий кашель. 18.09.2017 р. виник набряк обличчя. Пацієнтка прийняла хлорпірамін, після чого набряк зменшився. 19.09.2017 р. — задишка у спокої, лежачому положенні, переважно на правому боці. Об'єктивно: загальний стан тяжкий за рахунок явищ серцевої недостатності. Шкірні покриви звичайні, чисті. Видимі слизові оболонки чисті, блідо-рожеві. Тургор шкіри звичайний. Артеріальний тиск: 110/70 мм рт. ст., частота серцевих скорочень: 115/хв, SaO_2: 98%. Аускультативно: дихання везикулярне, хрипи не вислуховуються. Над нижньою часткою правої легені дихання не визначається. Тони серця ритмічні, послаблені. Живіт м'який, не болісний. Печінка і селезінка не збільшені. Діурез достатній.

Висновок ехокардіографічного дослідження в 2017 р. — виражений перикардит з ехографічними ознаками тампонади. Висновок КТ-обстеження від 22.09.2017 р.: у проекції середостіння справа визначається горбисте утворення, котре щільно прилягає до правих відділів серця, правої гілки легеневої артерії, правого головного бронха, правих легеневих вен та нашаровується на проекцію I, III, V, VII сегментів правої легені, а також деформує купол діафрагми справа, поширюючись на проекцію резектованих відділів печінки. Аналогічні за структурою множинні утворення розміром до 1–2 см визначаються субплеврально у правій легені, а також субплеврально у нижній частці лівої легені. Органи середостіння у межах КТ-норми. У проекції лівої гілки легеневої артерії IX сегмента визначаються тромботичні маси. У правій плевральній порожнині — незначна кількість рідини. Печінка: стан після мезогепатектомії, паренхіма гомогенна. У проекції III сегмента визначається округле негомогенне гіперваскулярне утворення розміром близько 1,3 см у діаметрі, аналогічне утворення діаметром до 0,8 см — у проекції II сегмента та діаметром 0,6 см у VII сегменті.

Наприкінці вересня 2017 р. пацієнтка звернулася до Київського міського клінічного онкологічного центру. При КТ-дослідженні органів грудної порожнини підтверджено наявність у правому геміторакс по поверхні плеври та перикарда множинних солідних вузлів та утворень розмірами 5–40 мм; найбільша пухлинна маса (загальними розмірами — 110×150 мм) розташована парамедіастинально, із залученням паренхіми правої легені, щільним приляганням до перикарда, зовнішньою компресією верхньої порожнистої вени та помірним відтисненням середостіння ліворуч. Пухлинна маса призводить до значної компресії паренхіми правої легені з відтисненням легеневих судин. У паренхімі нижньої частки S_{VIII} лівої легені та по поверхні перикарда (рівень язичкових сегментів) відмічаються аналогічні вузли розмірами 15–25 мм. При болюсному контрастуванні відмічається виражена гіперваскуляризація виявлених вузлів. У правій плевральній порожнині та перикарді відмічається ексудат.

У зв'язку з наявністю пухлини в середостінні виникла підозра на тимому або лімфому, і під місцевою анестезією виконана трепан-біопсія пухлини правого геміторакса з подальшим гістологічним та імуногістохімічним дослідженням.

РЕЗУЛЬТАТИ ПАТОЛОГОАНАТОМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

При мікроскопічному дослідженні гістологічних препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, у матеріалі біопсії утворення середостіння визначається тканина пухлини, яка складається переважно із солідних гнізд крупних полігональних еозинофільних клітин з гранулярною цитоплазмою, що нагадує гепатоцити, оточені фіброзною стромою. Ядерний хроматин везикулярний, ядерця добре візуалізуються. Фіброзна строма представлена у вигляді паралельних еозинофільно забарвлених пучків волокон, котрі оточують гнізда та тяжі пухлинних клітин (рис. 1).

З метою верифікації морфологічного діагнозу проведено імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл до антигенів: Hepatocyte (OCH1E5) — позитивна реакція (рис. 2), Cytokeratin pan (AE1 andAE3) — негативна реакція,

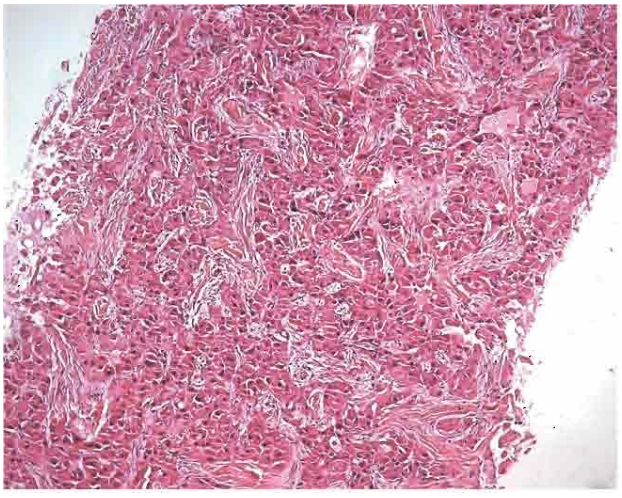

Рис. 1. Тканина пухлини середостіння складається з оточених фіброзною стромою солідних гнізд крупних полігональних еозинофільних клітин з гранулярною цитоплазмою. Фіброзна строма представлена у вигляді паралельних еозинофільно забарвлених пучків волокон (Г/Е, × 100)

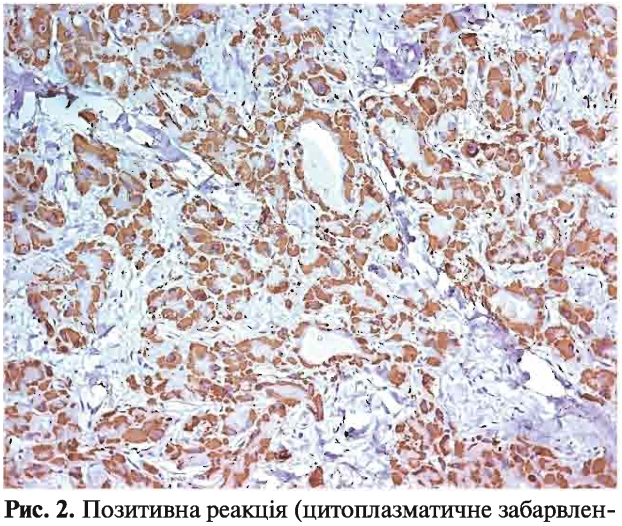

Рис. 2. Позитивна реакція (цитоплазматичне забарвлення) у клітинах пухлини при визначенні маркера Hepatocyte (OCH1E5), × 200

Thyrioid Transcription Factor (TTF-1) (8G7G3/1) — негативна реакція (цитоплазматичне забарвлення), Cytokeratin 7 (OV-TL 12/30) — позитивна реакція (рис. 3), Cytokeratin 5/6 (D5/16/B4) — негативна реакція. Маркер проліферативної активності Ki-67 (Protein MIB-1) — 30% (рис. 4). Патогістологічний висновок від 04.10.2017 р.: у досліджуваному матеріалі біопсії пухлини середостіння — метастази ГЦК.

Враховуючи дані анамнезу (встановлений у 2014 р. діагноз: гепатоцелюлярна аденома IV, V, VIII сегментів печінки), проведено консультативне дослідження гістологічних препаратів пухлини печінки та імуногістохімічне дослідження з визначенням експресії Ki-67 (Protein MIB-1). Позитивна реакція в останньому випадку виявлена в 20% клітин (рис. 5). В операційному матеріалі морфологічна картина пухлини печінки була аналогічною новоутворенню середостіння. Патогістологічний висновок від 06.11.2017 р. — ФЛ-ГЦК.

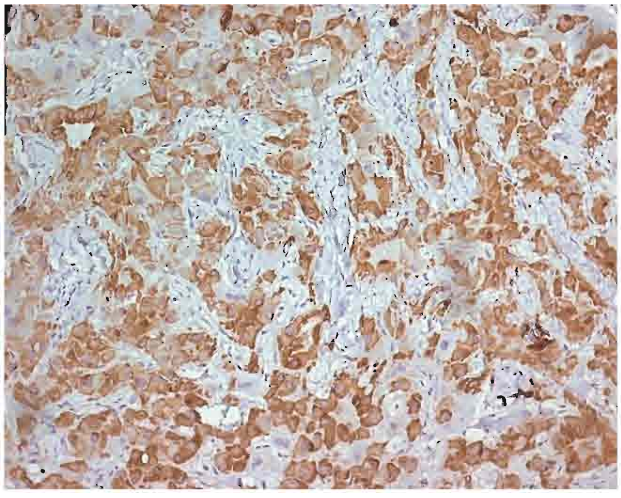

Рис. 3. Позитивна реакція (цитоплазматичне забарвлення) у клітинах пухлини при визначенні маркера Cytokeratin 7 (OV-TL 12/30), × 200

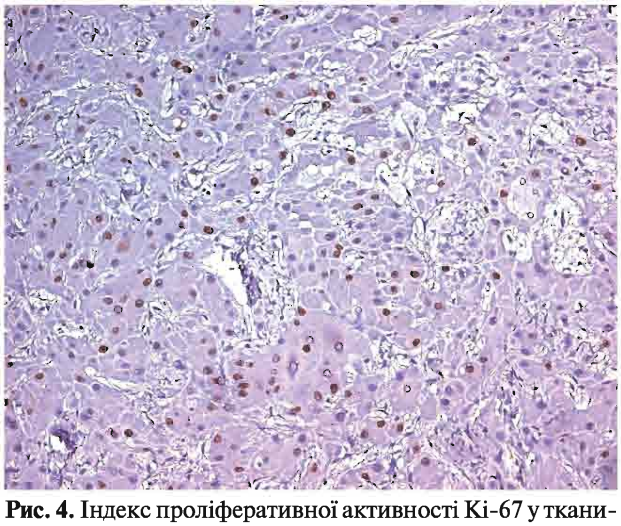

Рис. 4. Індекс проліферативної активності Ki-67 у тканині пухлини середостіння — 30%, × 200

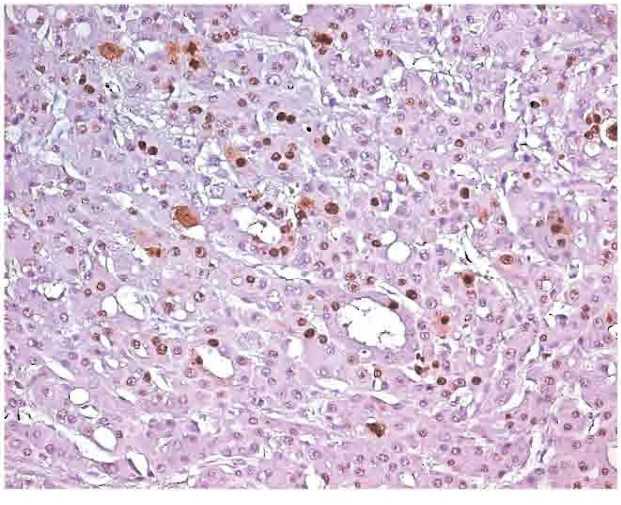

Рис. 5. Індекс проліферативної активності Ki-67 у тканині пухлини печінки — 20%, × 200

Для більш точної верифікації та порівняння патологоанатомічної характеристики обох пухлин проведено додатково імуногістохімічне дослідження за рекомендаціями гістологічної класифікації ВООЗ: глутамінсинтетаза (CellMarque, клон GS-6) — по-

зитивна реакція у клітинах пухлини; білок теплового шоку 70 (HSP70) (DiagnosticBiosystems, клон W27) — позитивна реакція у клітинах пухлини; аргіназа-1 (CellMarque, клон SP156) — позитивна реакція у клітинах пухлини; цитокератин-7 (DAKO, клон OV-TL 12/30) — позитивна реакція у клітинах пухлини; антиген CD68 (DAKO, клон KP1) — позитивна реакція в клітинах пухлини; раково-ембріональний антиген поліклональний (pCEA) (DAKO поліклональні) — позитивна реакція в клітинах в центрах пухлинних комплексів; антигенCD34 (DAKO, клон QBEnd 10) — позитивна реакція в стінках судин.

Враховуючи вік, стать, первинне походження неоплазії печінки та гіперваскуляризацію сателітних вогнищ, вузлів грудної та черевної порожнин, виявлені зміни, найбільш характерні для метастатичної фіброламелярної карциноми.

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Диференційну діагностику ФЛ-ГЦК проводили, зокрема, з аденомою печінки — діагнозом, встановленим пацієнтці у 2014 р. Гепатоцелюлярна аденома найчастіше (у 90%) трапляється в неураженій печінці жінок дітородного віку, має схожі з ФЛ-ГЦК клініко-лабораторні прояви та не супроводжується підвищенням рівня альфа-фетопротеїну. Однак, на відміну від ФЛ-ГЦК, гепатоцелюлярна аденома у 85% випадків пов'язана з тривалим прийомом оральних контрацептивів. Враховуючи вищесказане, провідну роль у верифікації діагнозу відіграє патогістологічне дослідження пухлини. Морфологічна картина аденоми печінки характеризується відсутністю клітинної атипії, збереженням нормальної будови трабекул (1–2 шари гепатоцитів), на відміну від притаманних ФЛ-ГЦК збільшених у розмірах атипових гепатоцитів з гранулярною еозинофільною цитоплазмою, вираженими ядерцями та ламелярним фіброзом строми серед гнізд і тяжів пухлинних клітин.

До спектра патологій, з якими слід проводити диференційну діагностику, входить також склерозуючий варіант ГЦК і фокальна нодулярна гіперплазія [9]. Мікроскопічна будова склерозуючого варіанта ГЦК представлена дифузними фіброзними септами вздовж синусоїдів та атрофією трабекул. На відміну від ФЛ-ГЦК, клітини мають менший об'єм цитоплазми та гранулярність [1]. Присутністю фіброзних септ характеризується і фокальна нодулярна гіперплазія, однак останні містять добре видимі фібробласти, хронічну запальну інфільтрацію та атипові протокові структури. До того ж для фокальної нодулярної гіперплазії не характерна цитологічна атипія [9].

Варто підкреслити роль імуногістохімічної верифікації ФЛ-ГЦК. Один із підходів до диференційної діагностики первинної ГЦК та метастазів у печінці базується на застосуванні імуногістохімічних маркерів першої лінії: найбільш чутливого та специфічного маркера гепатоцелюлярної диференціації — Arginase-1 та маркера більшості аденокарцином інших локалізацій — CK19. Таким чином, позитивна реакція на Arginase-1 та негативна реакція на CK19 характерна для ГЦК. У разі слабкопозитивної реакції та/або невластивої ГЦК морфологічної картини рекомендується застосування додаткових маркерів гепатоцелюлярної диференціації: HepPar-1 та Glypican-3. У разі, якщо реакція на Arginase-1 негативна, а CK19 — позитивна, діагноз ГЦК вважається малоймовірним. Позитивна реакція на обидва маркери трапляється рідко та вказує на аберантну експресію Arginase-1 в аденокарциномі або ж CK19 у ГЦК. Такий імуногістохімічний профіль може бути пояснено і змішаним холангіо-гепатоцелюлярним гістогенезом пухлини. У випадку негативної реакції на обидва маркери, на другому етапі діагностичного пошуку можна застосувати маркер Cytokeratin Pan. Останній може бути позитивним у Arginase-1-негативних ГЦК, CK19-негативних аденокарциномах або пухлинах мезенхімального походження [10].

Різноманіття імуногістохімічних маркерів дозволяє застосовувати інші підходи до встановлення морфологічного діагнозу. В описаному клінічному випадку ***пацієнтки І.*** на матеріалі тканини пухлини середостіння проведено імуногістохімічні реакції на маркери Cytokeratin Pan та Thyroid Transcription Factor з метою виключення пухлини мезенхімального походження, метастазу пухлини щитоподібної залози та легені. Гепатоцелюлярний гістогенез пухлини було підтверджено маркерами Arginase-1 та HepPar-1 (чутливість та специфічність для ГЦК — більше 80%). Поєднання маркерів білка теплового шоку 70 та глутамінсинтетази дозволило підтвердити злоякісний потенціал новоутворення. Білок теплового шоку 70 є блокатором апоптозу. Вважається, що він відіграє роль у канцерогенезі. HSP70 експресується у 68% ГЦК та у поєднанні з глутамінсинтетазою є корисним у диференційній діагностиці аденом та карцином печінки [11]. Позитивна реакція на маркери CK7 та CD68 дозволила підтвердити діагноз ФЛ-ГЦК.

ВИСНОВКИ

1. ФЛ-ГЦК — рідкісна пухлина печінки. Частота захворювання становить 1% усіх випадків первинного раку печінки. У класифікації ВООЗ 2010 р. розглядається як окрема нозологічна одиниця.

2. ФЛ-ГЦК виникає переважно у молодих пацієнтів (середній вік — 25 років), які не хворіють на цироз печінки. Клінічно ФЛ-ГЦК проявляється незначним болем у животі, нудотою, слабкістю та зменшенням маси тіла. Як правило, біохімічні маркери функції печінки у нормі або дещо підвищені. На відміну від ГЦР, підвищення рівня альфафетопротеїну не спостерігається.

3. Гістологічна будова ФЛ-ГЦК характеризується наявністю збільшених у розмірах атипових гепатоцитів з гранулярною еозинофільною цитоплазмою, вираженими ядерцями в ядрі та ламелярним фіброзом строми, серед якої визначаються гнізда і тяжі пухлинних клітин.

4. Диференційна діагностика ФЛ-ГЦК проводиться зі звичайною ГЦК, склерозуючим варіантом ГЦК, аденомою печінки та фокальною нодулярною гіперплазією. Для точної верифікації ФЛ-ГЦК необхідно проводити імуногістохімічне дослідження з визначенням експресії Arginase-1, HepPar-1, глутамінсинтетази, а також на найбільш специфічні для ФЛ-ГЦК маркери — СК7 та CD68. Для диференційної діагностики з метастатичною аденокарциномою корисним може бути визначення експресії СК19.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Hamilton S, Aaltonen L.** Pathology and genetics of tumours of the digestive system. Geneva: World Health Organization, 2000.
2. **Chagas A, Kikuchi L, Herman P, *et al.*** Clinical and pathological evaluation of fibrolamellar hepatocellular carcinoma: a single center study of 21 cases. Clinics 2015; **70** (3): 207–13.
3. **Castro-Villabón D, Barrera-Herrera L, Rodríguez-Urrego P, *et al.*** Hepatocellular carcinoma with both fibrolamellar and classical components: an unusual morphological pattern. Case Rep Pathol 2015; **2015**: 1–5.
4. **Bosman F.** WHO classification of tumours of the digestive system. Lyon: IARC, 2010.
5. **Pawlik T, Lafaro K.** Fibrolamellar hepatocellular carcinoma: current clinical perspectives. J Hepatocellular Carcinoma 2015; **2**: 151–7.
6. **Kassahun W.** Contemporary management of fibrolamellar hepatocellular carcinoma: diagnosis, treatment, outcome, prognostic factors, and recent developments. World J Surg Oncol 2016; **14** (1): 151.
7. **Choi W, Ramachandran R, Kakar S.** Immunohistochemical approach for the diagnosis of a liver mass on small biopsy specimens. Human Pathol 2017; **63**: 1–13.
8. **Sergi C.** Hepatocellular carcinoma, fibrolamellar variant: diagnostic pathologic criteria and molecular pathology update. A primer. Diagnostics 2015; **6** (1): 3.
9. **Kanel G, Korula J.** Atlas of liver pathology. Philadelphia, Pa.: Elsevier/Saunders, 2011.
10. **Choi W, Kakar S.** Immunohistochemistry in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. Gastroenterol Clin North Am 2017; **46** (2): 311–25.
11. **Nguyen T, Roncalli M, Di Tommaso L, Kakar S.** Combined use of heat-shock protein 70 and glutamine synthetase is useful in the distinction of typical hepatocellular adenoma from atypical hepatocellular neoplasms and well-differentiated hepatocellular carcinoma. Modern Pathol 2016; **29** (3): 283–92.

DIAGNOSIS OF FIBROLAMELLAR HEPATOCELLULAR CARCINOMA

L.M. Zakhartseva, E.B. Cherkasov, L.G. Nekrasova

Summary. *Diagnosis of the fibrolamellar variant of hepatocellular carcinoma (FL-HCC), causes difficulties in practical medicine. Based on this, the article gives an overview of modern methods of diagnostics of PL-HCC, morphological characteristics of this variant of cancer, description of its typical immunophenotype, as well as criteria of differential diagnosis, describes own experience of diagnostics of FL-HCC in a patient of 1999 year of birth.*

Key Words: diagnostics, hepatocellular carcinoma, fibrolamellar variant, hepatic adenoma, immunohistochemistry.

Адреса для листування:
Захарцева Л.М.
01601, Київ, бульв. Т. Шевченка, 13
Національний медичний університет
ім. О.О. Богомольця
E-mail: lmz@list.ru

Одержано: 11.12.2017