Гаффарова Анифе Севриевна[1], Ермола Юлианна Аркадьевна [2]

[1] ФГАОУ ВО "Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского", Медицинская академия им. С.И. Георгиевского (Симферополь)

[2] ФГАОУ ВО "Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского", Медицинская академия им. С.И. Георгиевского (Симферополь), кафедра патологической анатомии с секционным курсом, доцент, к.м.н.

Эл. почта: varryet@gmail.com

Современные патоморфологические методы исследования в дифференциальной диагностике опухолей семейства саркомы Юинга

Аннотация. Опухоли семейства саркомы Юинга (ОССЮ) относятся к неоплазиям нейроэктодермального происхождения. Как известно, в целом морфологически данная опухоль представлена солидными скоплениями мономорфных клеток правильной формы с содержанием нежнодисперсного хроматина. Таким образом, микроскопические особенности ОССЮ не позволяют дифференцировать их от других злокачественных новообразований нейроэктодермального происхождения, что составляет значительную проблему в патоморфологической практике.

К современным высокоспецифичным методам морфологической диагностики ОССЮ относится иммуногистохимический метод с использованием антител к специфическим белковым структурам, представленным на поверхности опухолевых клеток. К маркерам, выявляемым в 100% случаев, относится Ki-67, PCNA, CD99 и виментин. Реже обнаруживаются маркеры тканей нейроэктодермального происхождения: NSE, S-100 и синаптофизин; белки, регулирующие процессы апоптоза – p53, bcl-2 и bax.

Ключевые слова: саркома Юинга, иммуногистохимическое исследование, иммуногистохимические маркеры, флюоресцентная гибридизация in situ, полимеразная цепная реакция.

Опухоли семейства саркомы Юинга включают саркому Юинга костной ткани (СЮ), её экстраоссальную форму – периферическую примитивную нейроэктодермальную опухоль мягких тканей (pPNET) и опухоль Аскина, поражающая мягкие ткани торакопульмональной зоны, относящиеся к представителям большой группы близкородственных злокачественных новообразований, характеризующихся высокоагрессивным течением с повреждением костей и мягких тканей и экспрессией специфических иммуногистохимических маркеров.

Саркома Юинга относится к редким неоплазиям с частотой заболеваемости 0,6-3 на 1 млн человек населения, занимая второе место по частоте среди первичных опухолей костной ткани у детей и подростков, обнаруживаемая в 10-15% всех первичных опухолей костей, уступая 1 место только остеогенной саркоме. ОССЮ получили большее этническое и географическое распространение среди представителей европеоидной расы по сравнению с выходцами из стран африканского и азиатского континентов [1].

Для ОССЮ характерен ранний инвазивный рост в близлежащие мягкие ткани, т.е. подразумевается наличие мягкотканного компонента даже при локализованных формах опухоли, что соответствует IIB или III стадии заболевания. Включение

лимфатических узлов в патологический процесс происходит в 5-15% случаев при непосредственном прорастании из первичной опухоли, т.к., как известно, для сарком не характерно лимфогенное метастазирование, выявляемое при новообразованиях эпителиальных тканей.

Выявление отдаленных метастазов при первичном установлении диагноза у 25–28% пациентов свидетельствует о высокоагрессивной форме протекания патологического процесса. ОССЮ чаще дают гематогенное распространение метастазов и обнаруживаются в легких, реже в костном мозге и костях, приобретая литический характер. Отдаленные метастазы обнаруживаются в медиастинальных и ретроперитонеальных лимфатических узлах, в ЦНС с вовлечением в патологический процесс менингеальных оболочек, нервной ткани головного и спинного мозга.

На генетическом уровне патогенез опухолей семейства СЮ связывают с характерной транслокацией между EWS-геном 22 хромосомы и FLI1-геном 11 хромосомы, определяемый в 95% прецедентов заболевания, что вызывает активацию транскрипции и влечет за собой синтез химерной РНК и нарушение регулирования роста и дифференцировки клеток. Последние исследования туморогенеза установили немаловажную роль в патогенезе опухолевого роста клеток при ОССЮ - повреждение гена, экспрессирующего рецептор белка-супрессора клеточного деления – трансформирующего фактора роста-β II типа (TGF-β) [2].

Опухоли семейства саркомы Юинга имеют нейроэктодермальный гистогенез и имеют различные клинические проявления, что связано с первично диссеминированным характером повреждения тканей. Как известно, имеются значительные трудности в проведении дифференциальной диагностики с опухолями нейроэктодермального происхождения, а именно нейробластомой, рабдомиосаркомой, лимфомой и др., что представляет самостоятельную проблему в патоморфологической дифференциально-диагностической практике[3].

Проведение современных методов иммуногистохимической и молекулярно-биологической диагностики позволяет ответить на многие вопросы гистогенеза опухолей. Значение иммуногистохимических методов в прогнозировании течения заболевания неуклонно растет в связи с усовершенствованием знаний механизмов регуляции пролиферации и апоптоза опухолевых клеток.

Среди современных молекулярно-генетических методов можно выделить флуоресцентную гибридизацию in situ (FISH), позволяющую выявлять амплификации генов и тем самым осуществлять быструю идентификацию характерных для ОССЮ геномных транслокаций. Как известно, к основным патоморфологическим характеристикам относят особенности макро- и микроскопического строения.

ОССЮ при макроскопическом исследовании определяются в виде мягкой многоузловой, серовато-белого цвета на разрезе опухоли мягкой консистенции с очагами некроза и кровоизлияний.

При микроскопическом исследовании ОССЮ обнаруживается общая патоморфологическая картина: наблюдаются бесструктурные агрегаты мономорфных опухолевых клеток с округлыми или овальными ядрами, содержащие нежно дисперсный хроматин характерного «зеркального» вида, с обнаружением фигур патологических митозов. В 80% случаев наблюдается положительная PAS-реакция, за исключением опухоли Аскина, характеризующейся отрицательной реакцией на обнаружение гликогена. Соединительная ткань в виде слабо

выраженных прослоек фиброзной ткани делит солидные массы клеток опухоли на дольки. Иногда ретикулярная ткань определяется вокруг каждой клетки, а аргирофильные волокна окружают кровеносные сосуды.

Таким образом, патоморфологические особенности ОССЮ, выявляемые при макро- и микроскопическом исследовании, являются недостаточно информативными и достоверными для установления окончательного диагноза в связи со сложностями дифференциальной диагностики с другими мелкоклеточными злокачественными неоплазиями (нейробластомой, рабдомиосаркомой, неходжкинской лимфомой и др.).

Из патоморфологической практики известно о значительной гетерогенности и фенотипическом сходстве злокачественных мелкокруглоклеточных опухолей костей и мягких тканей, в связи с чем для проведения точной дифференциальной диагностики этих опухолей с ОССЮ необходимо применение дополнительных современных методов исследования, таких как иммуногистохимический и молекулярно-биологический.

Иммуногистохимический маркер CD99 (клон 12E7), называемый также HBA71 или 013-антиген, экспрессируется геном MIC-2 [5] во всех случаях ОССЮ. При этом наблюдают «окрашивание» соответствующими антителами сродных к ним структур клеточных мембран и цитоплазматических отростков. Кроме того, для клеток саркомы Юинга и PNET свойственно положительное окрашивание виментином, маркером клеток мезенхимального происхождения. Экспрессия маркеров тканей нейроэктодермального гистогенеза, таких как синаптофизин, хромогранин А, белки нейрофиламентов, глиальный фибриллярный кислый протеин, обнаруживается не во всех клетках, а нейроспецифическая энолаза теряет диагностическую роль по мнению отдельных исследователей [3,4,6].

Таким образом, иммуногистохимическим дифференциально-диагностическим критерием ОССЮ является коэкспрессия маркеров CD99 и виментина в 100 % случаев и в более редких случаях маркеров нейроэктодермальной дифференцировки – нейронспецифической энолазы, синаптофизина и протеина S-100 [6].

Среди молекулярно-генетических методов, используемых для обнаружения дефектов генетического материала, можно выделить метод флуоресцентной гибридизации in situ (FISH). В результате данного исследования в 95% определяются патологические транслокации между генами 22 и 11 хромосом, в результате чего синтезируется ненормальный белок EWS/FLI1 [9], используемый в качестве специфического критерия в диагностике ОССЮ, удостоверяющий результаты иммуногистохимического исследования. Часто обнаруживаются транслокации ERG-гена 21-й и EWS-гена 22-й хромосомы, а также ETV-гена 22 локуса 7 хромосомы и EWS-гена 22 хромосомы. Кроме этого, к выявляемым цитогенетическим аномалиям относят трисомию 8-й и 12-й хромосом, делецию короткого плеча 1-й хромосомы и т.д. Хромосомные транслокации активируют транскрипцию с синтезом химерной РНК, что влечет за собой нарушение регулирования роста и дифференцировки клеток.

Для идентификации генетических дефектов помимо FISH применяют метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR), характеризующийся значительной чувствительностью, особенно при необходимости исследования минимальных объемов опухолевой ткани (например, образца крови или костного мозга). Транслокация между генами EWS 22 хромосомы и FLI1 I типа 11 хромосомы

была установлена в 95 % случаев, соответственно у 5% пациентов была выявлена транслокация между EWS-геном и геном FLI1 II типа. Транслокация между генами EWS и ERG в исследуемой группе не определялась.

Таким образом, Real-time PCR – достоверный метод в определении генетических аномалий в виде транслокаций, что является важным диагностическим критерием в установлении или уточнения диагноза ОССЮ в 80% случаев.

Есть сведения об эффективности применения метода ПЦР в реальном времени в выявлении микрометастазов при ОССЮ, что имеет огромное значение в прогностическом контексте. У 10-12% пациентов определяются микрометастазы в костном мозге, что ассоциировано с неблагоприятным прогнозом. При этом обнаружение и сохранение опухолеспецифичной РНК в костном мозге у пациентов с ОССЮ является неблагоприятным прогностическим критерием.

Можно сделать вывод об эффективности иммуногистохимических методов с определением специфических биомаркеров и молекулярно-генетического исследования с выявлением характерных для ОССЮ транслокаций в дифференциальной диагностике ОССЮ с другими злокачественными мелкокруглоклеточными опухолями костей и мягких тканей. При этом экспрессия отдельных маркеров, вовлеченные в процессы пролиферации и апоптоза могут иметь непосредственно важное прогностическое значение.

Заключение.

Для опухолей семейства саркомы Юинга свойственны следующие патоморфологические особенности: рост опухоли в виде солидных агрегатов клеток из мелких, округлых и мономорфных клеток с «матовыми» ядрами (связано с наличием нежнодисперсного хроматина) и внутрицитоплазматическим гликогеном, обнаруживаемый при проведении PAS-реакции. Исключение составляет опухоль Аскина, при которой выявляется отрицательная PAS-реакция на наличие в клетках гликогена.

Иммуногистохимические исследования показали определенные биомаркеры, экспрессия которых, является дифференциально-диагностическим критерием с другими злокачественными мелкокруглоклеточными опухолями костей и мягких тканей, такие как CD99 и виментин.

Прогностически важными иммуногистохимическими маркерами являются bax, p53 и bcl-2. При этом выявление биомаркера bax свидетельствует о благоприятном течении заболевания, а увеличенное количество иммунопозитивных клеток к белку bcl-2 и p-53 является критерием неблагоприятного прогноза. С помощью молекулярно-генетических методов, таких как FISH и RT-PCR, можно выявить специфические для ОССЮ дефекты генетического материала. Наиболее значимым среди них является транслокация между EWS-геном 22 хромосомы и FLI1-геном на11 хромосоме, что приводит к синтезу химерной РНК и нарушению регулирования роста и дифференцировки клеток.

Ссылки на источники

1. Bernstein, M. Ewing’s sarcoma family of tumors: current management / M. Bernstein, H. Kovar, M. Paulussen // The Oncologist – 2006. – № 21. – P. 503.
2. Смирнов, А. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / А. В. Смирнов, С. В. Петрова, Н. Т. Райхлина – Казань, 2004. – С. 23-26.
3. Буланов, Д. В. Злокачественные мелкокруглоклеточные опухоли костей и мягких тканей группы PNET / саркомы Юинга, основные критерии

морфологической и дифференциальной диагностики. / Буланов Д. В. // Медицинские науки. – Москва, 2009. – С. 27-29.
4. Schleiermacher, G. Increased risk of systemic relapses associated with bone marrow micrometastases and circulating tumor cells in localized Ewing tumor / G. Schleiermacher, M. Peter, O. Oberlin // Clinical Oncology. – 2003. – № 21. – P. 85.
5. Kovar, H. Overexpression of the pseudoautosomal gene MIC2 in Ewing's sarcoma and primitive neutoectodermal tumor/ H. Kovar, M. Dworzak, S. Strehl // Oncogene. – 1990. – № 5. – P.1067.
6. Буланов Д.В. Прогностическая и дифференциально-диагностическая значимость иммуногистохимических и молекулярно-биологических свойств опухолей семейства саркомы Юинга. / Буланов Д. В., Смирнов А. В. // Врач-аспирант. – 2011. – №1.3 (44). – С.349-355.
7. Буланов Д. В. Иммуногистохимические и молекулярно-биологические характеристики опухолей семейства саркомы Юинга. / Буланов Д. В., Смирнов А. В., Загребин В. Л. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – Выпуск 1 (37) – 2011. – С.76-80.
8. Cotteril, S. J. Prognostic factors in Ewing's tumor of bone: Analysis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group / S. J. Cotterill, S. Ahrens, M. Paulussen // Clinical Oncology. – 2000. – №18 – P.3108.
9. De Alva, E. EWS-FLI1 fusion transcript structure is an independent determinant of prognosis in Ewing's sarcoma / E. De Alva, A. Kawai, J. H. Healey // Clinical Oncology. – 1998. – № 16. – P.1248.
10. Буланов Д. В. Иммуногистохимическая характеристика и критерии прогноза саркомы Юинга / PNET. / Буланов Д. В., Махсон А. Н. // Российский онкологический журнал. – №1 – 2010. – С.17-19.