

Л.М. Склярєнко  
 Д.Ф. Глузман  
 В.А. Надгорная  
 Т.С. Ивановская  
 С.В. Коваль  
 Л.Ю. Полудненко  
 Г.И. Климяк  
 О.В. Балицкая

Институт экспериментальной  
 патологии, онкологии  
 и радиобиологии  
 им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины

Институт онкологии  
 АМН Украины, Киев, Украина

## ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА САРКОМ ИЗ МАЛЫХ ОКРУГЛЫХ КЛЕТОК

**Резюме.** Подчеркиваются преимущества иммуноцитохимии при определении природы мелкокруглоклеточных опухолей у детей, которые не могут быть идентифицированы на основе только цитоморфологических признаков.

### Ключевые слова:

мелкокруглоклеточные  
 опухоли, иммуноцитохимия,  
 диагностика.

К категории крайне сложных для диагностики злокачественных мелкокруглосинеклеточных опухолей у детей относятся новообразования семейства сарком Юинга, группа примитивных нейроэктодермальных опухолей мягких тканей и костей (PNET), эмбриональная мезенхимальная хондросаркома, рабдомиосаркома, десмопластическая опухоль из малых округлых клеток.

**Саркома Юинга и PNET.** Опухоли, относящиеся к семейству саркомы Юинга, имеют нейроэктодермальное происхождение и гистогенетически связаны с клетками нервного гребешка. Они включают недифференцированную типичную саркому Юинга и ее внескелетный аналог, злокачественную мелкокруглосинеклеточную нейроэктодермальную опухоль торакоабдоминальной области (опухоль Аскина), а также PNET.

Указанные опухоли возникают в скелете и мягких тканях у детей и подростков, но рассматриваются как самостоятельные нозологические формы, имеющие особенности гистологического строения и различия клинического течения. Убедительным доказательством этого служат результаты проведенных в последние годы исследований с использованием иммуногистохимических, молекулярно-генетических методов и культивирования клеток опухолей *in vivo* [1, 2].

Саркома Юинга является второй по частоте злокачественной опухолью костей после остеогенной саркомы у детей и подростков. Ежегодная заболеваемость составляет 0,6–2,1 на 1 млн детского населения. Саркома Юинга чаще диагностируется у больных в возрасте 10–20 лет. Пик заболеваемости (57,5%) приходится на второе десятилетие жизни, то есть на период формирования и созревания скелета [2]. Отмечается некоторое преобладание среди лиц мужского пола (1,5 : 1). Поражаются прак-

тически все отделы костного скелета. Наиболее часто саркома Юинга локализуется в плоских костях таза, ребрах, лопатках, лицевых костях черепа [2], диафизе длинных трубчатых костей — бедренной, большеберцовой и малоберцовой. Примерно у 20–25% больных уже в момент установления диагноза определяются отдаленные метастазы — в легких, костях и костном мозге.

Для установления верифицированного диагноза обязательным является проведение открытой (эксцизионной) биопсии, позволяющей получить достаточное количество репрезентативного материала для последующего гистологического изучения, которое при необходимости может быть дополнено результатами иммуногистохимического и молекулярно-генетического анализа.

Важным вспомогательным методом диагностики саркомы Юинга является цитологическое исследование мазков из материала, полученного при пункционной биопсии. При паноптической окраске оно позволяет более детально изучить цитоморфологические и цитохимические особенности опухолевых клеток. В цитологических препаратах больных саркомой Юинга обычно определяется большое скопление опухолевых клеток, располагающихся разрозненно либо образующих небольшие скопления или комплексы в виде «псевдорозеток». Опухолевые элементы достаточно мономорфные, средних или мелких размеров. Ядерно-цитоплазматическое отношение очень высокое. Ядра округлой формы располагаются в клетках центрально, реже — эксцентрично. На фоне мелкодисперсной структуры ядерного хроматина изредка могут быть обнаружены нуклеолы. В умеренно или интенсивно базофильной цитоплазме иногда отмечаются признаки вакуолизации [3]. Выраженных цитоморфологических различий

## ЗЛОЯКІСНІ НОВОУТВОРЕННЯ У ДІТЕЙ

між клітками саркоми Юінга і клітками PNET не виявляють [2, 3].

При цитохімічному дослідженні установлені деякі відмінності саркоми Юінга і інших форм опухолей у дітей із малих округлих синіх кліток. Так, в цитоплазмі кліток опухолі Юінга при PAS-реакції в більшості випадків відзначається інтенсивне фарбування з відкладенням кінцевих продуктів у вигляді великих гранул і блоків. Подібні ж результати зафіксовані при PAS-реакції в клітках ембріональної рабдомиосаркоми. Нагадаємо, що в клітках нейробластоми і лимфоми Беркітта спорадического типу можна спостерігати лише слабку дифузну фарбування цитоплазми. В цитологічних препаратах при В- і Т-кліткових лимфобластних лимфомах кінцеві продукти PAS-реакції виявляють у вигляді малих або середнього розміру гранул. Реакція при визначенні активності щелочної фосфатази в клітках саркоми Юінга, на відміну від остеогенної саркоми, негативна, а активність кислої фосфатази коливається від слабкої до помірного при дифузній-гранулярній фарбуванні цитоплазми кліток. Активність мієлопероксидази, нафтол-AS-D-хлорацетатестерази і кислої неспецифічної естерази в клітках опухолі Юінга і PNET практично не визначається. Ці дані отримані співробітницею нашого відділу Н.І. Гребельною при дослідженні кліток пунктів опухолей і метастазів у кістковому мозку у 28 дітей з саркомою Юінга.

Результати імуногістохімічних досліджень свідчать про важливу роль у діагностиці PNET і саркоми Юінга визначення на поверхневих мембранах кліток глікопротеїна р30/32 (CD99) — продукту гена *MIC2* [4]. Клітки цих опухолей майже в 100% випадків реагували з антитілами 013, HBA71, 12E7 к антигену CD99 [2, 5]. Незважаючи на високу специфічність вказаних антитіл до кліток PNET і саркоми Юінга, позитивна реакція у вигляді фарбування поверхневих мембран кліток іноді спостерігається і при інших опухолях (рабдомиосаркомі, опухолі Вільмса і особливо при Т-клітковій лимфобластній лимфомі).

Практично у всіх хворих з новоутвореннями сімейства саркоми Юінга відзначається дифузний або фокальний фарбування цитоплазми опухолевих кліток при виявленні виментину [5,

6]. Почти так же часто в клітках PNET і декілька рідше при саркомі Юінга виявляється позитивна реакція з антитілами к нейроспецифічній енolазі. Однак подібний же тип фарбування відзначається і в клітках хворих з нейробластомою і рабдомиосаркомі. К додатковим маркерам, виявлення яких може бути використано при діагностиці PNET і саркоми Юінга, відносяться антиген CD57 (Leu-7), білок S-100, білки нейрофіламентів, синаптофізін, виявлювані в 40% випадків. Хромогранін виявляється в опухолевих клітках у 20% хворих, реакція на десмін і общелейкоцитарний антиген (CD45) практично во всіх випадках негативна.

Враховуючи, що один і той же антиген може виявлятися в опухолях різного походження, для діагностики новоутворень сімейства саркоми Юінга і їх метастазів у кістковому мозку, як і гострих лимфобластних лейкозів і неходжкінських злоякісних лимфом, слід застосовувати панель із спеціально підібраних моноклональних і поліклональних антитіл. В її склад повинні входити антитіла к антигену CD99, виментину, цитокератинам, білкам нейрофіламентів, білку S-100, нейроспецифічній енolазі, антигенам CD57, CD45, синаптофізину, хромограніну, десміну, м'язовому актину і др.

Таким чином, при імуноцитохімічному дослідженні вдасться провести диференціальну діагностику саркоми Юінга, PNET і інших близьких по цитоморфологічним ознакам новоутворень у дітей (таблиця).

**Рабдомиосаркома** — злоякісна опухоль, виникає із примітивних мезенхімальних кліток, комітованих к розвитку в поперечно-полосату м'язову тканину. Щорічна захворюваність рабдомиосаркомі становить 4,3 на 1 млн дитячого населення [9]. Почти в 70% випадків опухоль діагностується у дітей у віці до 10 років. Відзначається два піки захворюваності: перший у дітей 2–5 років і другий — у підлітковому віці [9, 10].

Рабдомиосаркома — надзвичайно агресивна опухоль з високою ступенем злоякісності, здатна к дисемінації як лимфогенним, так і гематогенним шляхом. Приблизно 20% хворих поступають в клініку уже при наявності метастазів. Найбо-

Таблиця

Імуноцитохімічна характеристика опухолей із малих округлих кліток [5, 7, 8]

Опухоль	Виментин	Цитокератини	Білки нейрофіламентів	Десмін	MIC2 (CD99)	Білок S-100	Нейроспецифічна енolаза	Leu-7 (CD57)	LCA (CD45)	Синаптофізін	Хромогранін А
Саркома Юінга	+	-/+	-/+	-	+	+/-	+/-	+/-	-	-	-
PNET	+	-	+/-	-	+	+/-	+	+/-	-	+/-	-
Рабдомиосаркома	+	-	+	+	+/-	-	+	+	-	-	-
Нейробластома	-/+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+
Остеогенна саркома	+	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
Хондросаркома	+	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
Медуллобластома	+/-	-	-/+	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-
Ретинобластома	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
Лимфобластний лейкоз	+/-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Злоякісна лимфома	+/-	-	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-

лее часто метастазы обнаруживают в легких, лимфатических узлах, костях и костном мозге [9, 10].

Для установления диагноза необходима открытая биопсия с получением достаточного количества материала для проведения рутинного гистологического исследования, иммуногистохимического и молекулярно-генетического анализа. Данные тонкоигльной пункционной биопсии имеют вспомогательное значение, позволяют точнее охарактеризовать цитоморфологические, цитохимические и иммунофенотипические признаки клеток новообразования. Выполняют также биопсию пораженных лимфатических узлов, стернальную пункцию и билатеральную трепанобиопсию костного мозга гребешков подвздошной кости.

Дифференциальная диагностика эмбриональной рабдомиосаркомы и других опухолей из малых округлых клеток с базофильной цитоплазмой крайне сложна. Важную роль играет применение иммуногистохимических методов с использованием антител к известным гистогенетическим маркерам (виментину, мышечному актину, десмину и т.д.) [7, 11–13]. Положительная реакция с антителами к виментину проходит во всех клетках при различных формах рабдомиосарком. Столь же надежным маркером служит определение различных эпителиев десмина [11]. В значительном числе случаев в ядрах опухолевых клеток выявляют продукт гена мышечной дифференцировки *MyoD1*, один из регуляторных белков, контролирующих дифференцировку и определяющих иммунофенотип клеток мышечной ткани [5, 12]. С различной частотой в клетках рабдомиосаркомы определяется экспрессия антигена CD99 (продукта гена *MIC2*), антигена CD57, редко — нейронспецифической энолазы, синаптофизина, хромогранина А [12–14]. Экспрессию антигена CD44 чаще отмечали в клетках эмбриональной рабдомиосаркомы при отсутствии метастазов [5].

**Мезенхимальная хондросаркома** характеризуется положительной реакцией с антителами к виментину и антигену Leu-7 (CD57), в ряде случаев — к нейронспецифической энолазе. Экспрессия белка S-100 ограничивается островками из хондробластов. Цитокератины, десмин, синаптофизин, LCA (CD45) в клетках мезенхимальной хондросаркомы не определяются [12].

**Десмопластическая опухоль из малых округлых клеток** содержит виментин, десмин, нейронспецифическую энолазу, антиген Leu-7 (CD57), белок S-100, цитокератины, мышечноспецифический актин. При иммуногистохимическом выявлении p30/32 и LCA (CD45) клетки не окрашиваются.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Busca A, Affif B, Besenon L, *et al.* Злокачественные опухоли у детей. Нейробластома, опухоли печени, опухоли почек, опухоли костей, периферические нейроэктодермальные опухоли (ПНЭО) и герминативные опухоли. В: Краткое руководство по диагностике и стадированию рака в развитых и развивающихся

## ЗЛОЯКІСНІ НОВОУТВОРЕННЯ У ДІТЕЙ

странах. Под ред НН Блинова, ММ Константиновой. Санкт-Петербург: Сотис 2001: 176–184.

2. Соловьев ЮН. Саркома Юинга. *Вопр онкологии* 2002; **48** (1): 7–16.

3. Матвеева ИИ. Цитологическая диагностика опухолей костей у детей. *Клин лаб диагностика* 2003; (8): 25–33.

4. Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, *et al.* MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumours. Evidence for a common histogenesis of neuroectodermal tumors from MIC2 expression and specific chromosome aberration. *Cancer* 1990; **67** (8): 1886–92.

5. Леенман ЕЕ, Кочурова НВ, Белогурова МБ, Пожарский КМ. Иммуногистохимическое исследование мелкоклеточных сарком и факторов (NM23, CD44), прогнозирующих их метастазирование у детей. *Вопр онкол* 2003; **49** (2): 21–5.

6. Brodeur GM, Pritchard J, Berthold F, *et al.* Revision of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging and response to treatment. *J Clin Oncol* 1993; **11**: 1466–77.

7. Gown AM. Пособие по диагностической иммуногистохимии. Сизтл: PhenoPath 1999. 89 p.

8. Глузман ДФ, Скляренко ЛМ, Надгорная ВА, Крячок ИА. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей. К: Морюн 2003. 156 с.

9. Pinkerton CR. Rhabdomyosarcoma. In: Clinical challenges in paediatric oncology. Ed by CR Pinkerton et al. Oxford: Isis Medical Media Ltd 1999. 143.

10. Carli M, Guglielmi M, Softi G, *et al.* Soft tissue sarcomas. In: Paediatric Oncology, 2nd ed. Ed by CR Pinkerton, PN Plowman. London: Chapman a Hall 1997: 380.

11. Carter RL, McCarthy KP. Features of specific tumours. In: Paediatric Oncology, 2nd ed. Ed by CR Pinkerton, PN Plowman. London: Chapman a Hall 1997. 111.

12. Rangdaeng S, Truong LD. Comparative immunohistochemical staining for desmin and muscle-specific actin. A study of 576 cases. *Am J Clin Pathol* 1991; **96**: 32–45.

13. ChM Coffin, LP Dehner, PA O'Shea. Pediatric soft tissue tumors. A clinical, pathological and therapeutic approaches. Baltimore: Williams a Williams 1997. 412 p.

14. Swanson PE, Wick MR. Soft tissue tumors. In: Diagnostic immunopathology, 2nd ed. Ed by RB Colvin, AK Bhan, RT McCluskey. New York: Raven Press 1995: 599–616.

## IMMUNOCYTOCHEMICAL DIAGNOSTICS OF SMALL ROUND CELL SARCOMAS

L.M. Sklyarenko, D.F. Gluzman, V.A. Nadgornaya, T.S. Ivanovskaya, S.V. Koval, L.Y. Poludnenko, G.I. Klimnyuk, O.V. Balitskaya

**Summary.** *The paper provides evidence of the advantages of immunocytochemistry as an approach to define the nature of small round cell tumors in children that cannot be identified based on cytomorphologic features alone.*

**Key Words:** small round cell tumors, immunocytochemistry, diagnostics.

### Адрес для переписки:

Скляренко Л.М.  
03022, Киев, ул. Васильковская, 45  
Институт экспериментальной патологии,  
онкологии и радиобиологии  
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины,  
отдел иммуноцитохимии