

УДК 616-006.36.04: 616-76

## НЕКОТОРЫЕ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ФИБРОЗНОЙ ГИСТИОЦИТОМЫ (ЗФГ)

Тодоров С.С., Ващенко Л.Н., Ибрагимова Е.Л., Аушева Т.В.

*ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения России, Ростов-на-Дону, Россия (344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63) e-mail: [onko-sekretar@mail.ru](mailto:onko-sekretar@mail.ru)*

С целью выявления иммуногистохимических особенностей первичных и рецидивных опухолей (злокачественных фиброзных гистиоцитом) проведен иммуногистохимический анализ 15 первичных и 12 рецидивных опухолей. Выявлено, что первичные и рецидивные опухоли идентичны в отношении диагностических показателей (десмин, виментин, гладкомышечный актив) Однако, в рецидивных ЗФГ отмечалась повышенная мембранная и цитоплазматическая экспрессия белка EGFR в два раза превышающая показатели в первичной опухоли, избыточное развитие новообразованных тонкостенных сосудов с гиперэкспрессией CD34. Ki 67 достигал 20% в первичных опухолях, а в рецидивных составлял не более 4-5%. Можно полагать, что появление экспрессии EGFR, гиперэкспрессия CD34 в ЗФГ может объяснить развитие рецидивов таких мягкотканых опухолей и их более неблагоприятный прогноз.

Ключевые слова: злокачественная фиброзная гистиоцитома, рецидивная опухоль, иммуногистохимия.

## SOME IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF MALIGNANT FIBROUS

Todorov S.S., Vaschenko L.N., Ibragimova E.L., Ausheva T.V.

*Federal State Budget Institution "Rostov Research Oncological Institute" Ministry of Health of Russia (Director – Doctor of Medical Sciences, Professor Kit O.I.)*

To under take this study we have examined 15 primary and 12 recurrent malignant fibrous histiocytoma tumors with the immunohistochemical analysis. It was found out that primary and recurrent tumors were identical in diagnostic indicators such as desmin, vimentin, smooth muscle actin etc. In contrast it was discovered that membrane and cytoplasmic expression of EGFR protein was increased twice in recurrent tumors in comparison with the primary ones. Extra development of newly formed thin-walled vessels was found out, and it correlated with hyperexpression of CD 34 in recurrent tumors. Amount of Ki 67 was bigger in primary MFH (20%) than in recurrent ones (4-5%). The relapses of MFH and their bad prognosis could be caused by expression of EGFR and CD 34.

Keywords: malignant fibrous, recurrent tumors, immunohistochemistry.

### Введение

Злокачественная фиброзная гистиоцитома (по классификации ВОЗ 2002, недифференцированная саркома высокой степени злокачественности), является самой распространенной злокачественной опухолью мягких тканей у взрослых, составляя 15-20% этих новообразований. Наиболее часто ЗФГ возникает в возрасте 50-70 лет. Локализация может быть различной, включая висцеральные формы [1]. Особенностью ЗФГ является частое возникновение рецидивов. Большинство исследователей склонны считать развитие рецидивов после экцизии опухоли скорее правилом, чем исключением [2,3,6]. Время, частота возникновения рецидивов ЗФГ непосредственно зависит от биологических свойств опухоли, в частности, предикторов ее роста.

Морфологическая диагностика ЗФГ представляет для врача-патологоанатома значительные трудности даже при использовании современных возможностей иммуногистохимии. К настоящему времени подтверждена важность

иммуногистохимического анализа для гистопатологической диагностики большого количества раковых заболеваний, в том числе сарком мягких тканей, в частности ЗФГ [4]. С одной стороны, это связано с ее гистологическим многообразием и формальным сходством этой опухоли с другими новообразованиями, формально относящимся к группе полиморфноклеточных сарком. Использование в исследованиях того или иного иммуногистохимического маркера должно рассматриваться в контексте особенностей гистологической картины опухоли.

В зависимости от клеточно-структурных особенностей, в первую очередь, их выраженности выделяют 5 морфологических вариантов ЗФГ: плеоморфный, воспалительный, миксоидный, гигантоклеточный, ангиоматоидный [4]. В настоящее время ангиоматоидный вариант выделен в отдельную нозологическую форму – ангиоматоидную фиброзную гистиоцитому, которая согласно Международной гистологической классификации опухолей мягких тканей 2002 г. фигурирует в рубрике опухолей с неясным направлением дифференцировки и характеризуется промежуточной степенью злокачественности.

В настоящее время используются приблизительно 30 иммуногистохимических маркеров при проведении дифференциальной диагностики сарком мягких тканей [7]. Для оценки прогноза из всего многообразия маркеров можно выделить наиболее значимые: мутации гена p53, экспрессию Ki-67, Bcl-2, EGFR, CD34.

**Цель:** изучить иммуногистохимические особенности первичных и рецидивных опухолей (злокачественных фиброзных гистиоцитом)

**Материалы и методы:** гистологические препараты 15 первичных и 12 рецидивных опухолей больных проходивших лечение в отделение мягких тканей и костей РНИОИ с 2005 по 2013 г. Всем больным была проведена операция – удаление опухоли мягких тканей. В исследовании преобладали больные с опухолями низкой степени дифференцировки (G3, G4), левосторонней локализацией опухоли (21 пациент из 27), чаще на нижних конечностях. Препараты первичных и рецидивных ЗФГ были подвергнуты иммуногистохимическому исследованию с целью определения уровня экспрессии следующих белков: виментин, десмин, гладкомышечный актин, CD34, CD68, Ki67, bcl-2, bcl-6, p53. Иммуногистохимическое исследование по оценке экспрессии маркеров мы проводили по стандартной методике.

Для открытия антигенных детерминант проводили обработку срезов в цитратном буфере [pH 6,0] в течение 30 минут при 95°C на водяной бане. Инкубацию с первичными антителами проводили в течение ночи при 4°C. В качестве первичных антител использовали мышинные моноклональные антитела к данным маркерам. Для визуализации реакции антиген-антитело использовали стрептавидин-биотиновую тест-систему [DAKO Corp] с помощью аппарата Ventana BenchMark Ultra согласно инструкции. В качестве хромогена использовали

ДАБ+[DAKO Corp]. Затем срезы докрашивали гематоксилином и заключали в бальзам. Реакцию оценивали с применением светового микроскопа (увеличение x 40) по следующим критериям. Количество положительных клеток оценивали в зонах, содержащих их максимальное количество. В качестве негативного контроля использовали иммуногистохимическую реакцию без добавления первичных антител.

### Результаты исследования

Исследование проводилось по двум панелям: диагностическая (виментин, десмин, гладкомышечный актин) и прогностическая (CD34, Ki 67, bcl-2, bcl-6, p53, EGFR). В диагностической панели отмечена абсолютная идентичность первичных и рецидивных опухолей, что подтверждает общность их гистогенеза и правомочность сравнения. В прогностической панели нами отмечены следующие различия: как в первичных, так и в рецидивных ЗФГ отмечена стойкая экспрессия белков мезенхимального происхождения (виментин), новообразованных гладкостенных сосудов (CD34). Также в обоих типах опухолей были отрицательны bcl6. В то же время между первичными и рецидивными ЗФГ отмечены различия, заключающиеся в следующем: в рецидивных опухолях имела место гиперэкспрессия EGFR, занимающая более 75% в площади опухоли, в то время, как в первичных опухолях экспрессия EGFR была отрицательна. Напротив, в первичных опухолях экспрессируют bcl2 до 50% площади опухоли. В двух случаях Ki67 достигал 20% в первичных опухолях, а в рецидивных составлял не более 4-5%. (Таб.1) Отмечены также некоторые различия между плеоморфными, гигантоклеточными и ангиоматоидными, воспалительными вариантами первичной ЗФГ.

Таблица 1

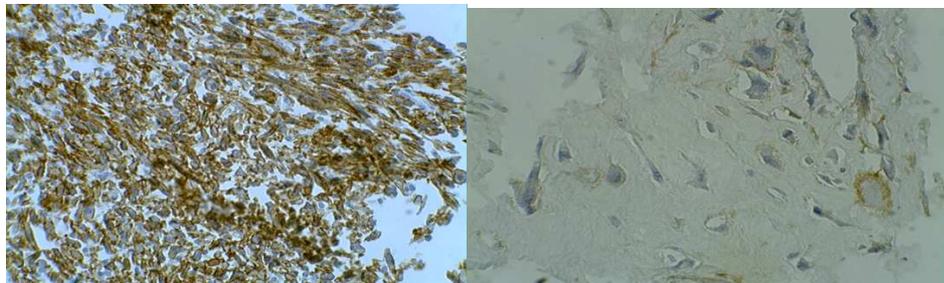
Показатели ИГХ анализа в первичных и рецидивных ЗФГ

Показатель	Первичная ЗФГ n=15	Рецидивная ЗФГ N=12
<b>EGFR</b>	12- единичные опухолевые клетки 3-негативная реакция	диффузная гиперэкспрессия 9 - 80-85% 3 - 75-80%
<b>CD 34</b>	диффузная гиперэкспрессия 10 - 60-70% 5 $\geq$ 70%	диффузная гиперэкспрессия 8-60%-70% 4 $\geq$ 70%
<b>Bcl 6</b>	негативная реакция	негативная реакция
<b>Bcl 2</b>	8 $\geq$ 45% 7 $\geq$ 10%	10 -30-35% 2 $\geq$ 35%
<b>Ki 67</b>	11 индекс пролиферации -15-18% 4 индекс пролиферации - 18-20%	8 ядерный индекс -2-4% 4 ядерный индекс - 4-5%

<b>виментин</b>	положителен 100%	положителен 100%
<b>десмин ГМА</b>	отрицателен 100%	отрицателен 100%

Рисунок 1

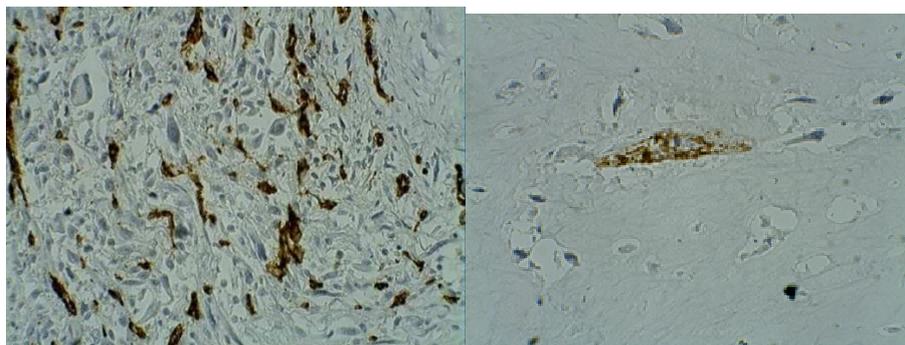
Уровень EGFR в первичных и рецидивных опухолях.



А) диффузная гиперэкспрессия EGFR в рецидивной ЗФГ Б) негативная реакция EGFR в первичной ЗФГ

Рисунок 2

Уровень CD34 в первичных и рецидивных опухолях.

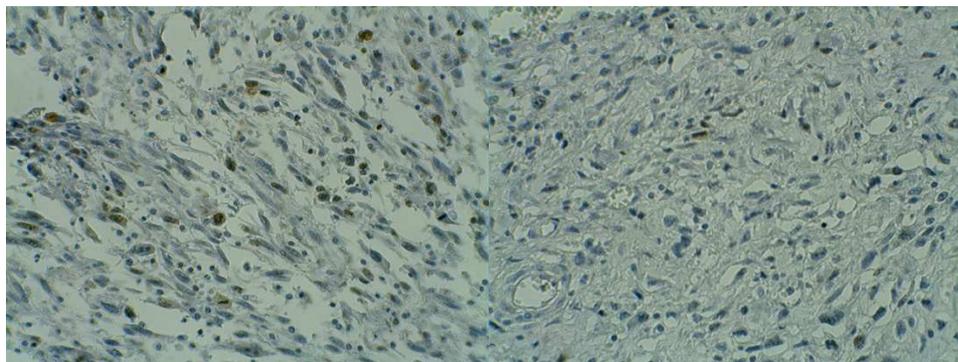


А) диффузное распределение CD34

Б) CD 34 в первичной ЗФГ

Рисунок 3

Уровень Ki 67 в первичных и рецидивных опухолях.



а) уровень Ki 67 в первичной ЗФГ

б) уровень Ki 67 в рецидивной ЗФГ

### **Вывод**

Таким образом, сравнительный морфо-иммуногистохимический анализ ЗФГ выявил определенные закономерности их развития. Было показано, что в рецидивных ЗФГ

отмечалась повышенная мембранная и цитоплазматическая экспрессия белка EGFR, избыточное развитие новообразованных тонкостенных сосудов с гиперэкспрессией CD34, наряду с невысокой митотической активностью. Можно полагать, что появление экспрессии EGFR, гиперэкспрессия CD34 в ЗФГ может объяснить развитие рецидивов таких мягкотканых опухолей и их более неблагоприятный прогноз, что необходимо учесть при разработке новых подходов к их прогнозу и лечению. Мы считаем перспективными дальнейшее исследования в этом направлении.

### Список литературы

1. Алиев М.Д. Введение в онкоортопедию// Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи.- 2009-Т1.-С.14-17.
2. Алиев М.Д. Опухоли мягких тканей. Энциклопедия клинической онкологии: руководство для практикующих врачей //М.Д. Алиев, Б.Ю. Бохин, М.И. Давыдов, Г.Л. Вышковский и др.; Под общ. ред. М.И. Давыдова, Г.Л. Вышковского. М.: РЛС – 2005.
3. Брюс Э.Чебнер. Руководство по онкологии., пер. с англ.; под. общ. ред. акад. РАЕН, проф. В.А. Хайленко.- М.: МЕДпресс-информ, 2011.- С. 656.
4. Милов А.Е. Лечение больных злокачественной фиброзной гистиоцитомой (ЗФГ) мягких тканей и факторы прогноза: Автореферат дис. кан.мед.наук.- Москва, 2005.-5с.
5. Тепляков В.В. Ошибки в диагностике и лечении сарком мягких тканей // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи -2012- №1-С.29-35.
6. Тришкин В.А. Медицинская реабилитация больных саркомами мягких тканей конечности //Практическая онкология.-2005 -№4.- С.291-297.
7. Abeloff M.D. Sarcomasofthesofttissues / M.D. Abeloff, J.O. Armitage, J.E. Niderhuberetal. N.Y.: ClinicalOncology, 2003. - 3-ed

### Рецензенты:

Каймакчи О.Ю., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, г.Ростов-на-Дону.

Николаева Н.В., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, г.Ростов-на-Дону.