

Значение проточной цитометрии в диагностике злокачественной фиброзной гистиоцитомы

К.А.Алиева

Азербайджанский медицинский университет
Баку, Азербайджан

Частота встречаемости, проблемы ранней диагностики, клинического течения, гистологической структуры некоторых вариантов злокачественной фиброзной гистиоцитомы, а также методов ее лечения и прогноза остаются актуальными на сегодняшний день. С этой точки зрения, целесообразность применения проточной цитометрии — нового критерия для морфологической диагностики — представлена в данной статье. Она может быть использована для обнаружения первых признаков малигнизации и для улучшения диагностики этого типа новообразований. Принимая во внимание тот факт, что одним из критериев атипичности опухоли являются изменения в ploидности генетического материала, количества ДНК, в количестве хромосом, которые могут быть обнаружены с помощью проточной цитометрии, отклонения этих параметров могут служить маркером злокачественной трансформации. Используя полученные данные, можно создать более точные дифференциально-диагностические критерии злокачественных опухолей мягких тканей, оптимизировать прогноз, а также результаты лечения.

Ключевые слова: проточная цитометрия, саркомы мягких тканей.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Саркомы мягких тканей (СМТ) являются одним из сложных и малоизученных разделов клинической онкологии. Несмотря на то что мягкие ткани составляют 50% массы тела, занимая значительный объем, удельный вес возникающих из них опухолей весьма невелик. Так, эти опухоли составляют от 0,7% до 2% всех злокачественных опухолей человека.

В общей структуре онкологической заболеваемости населения стран СНГ СМТ находятся на 24 месте. Показатель заболеваемости мягкоткаными саркомами в России, по данным на 2001 г., составил 1,6 на 100 тыс. населения. По данным МЗ Азербайджанской Республики, на 2001 г. заболеваемость злокачественными опухолями мягких тканей равна 2,0 на 100 тыс. населения. В Азербайджане, по данным на 2001 г., в структуре онкологических заболеваний СМТ составляют 1,53%, занимая при этом 20 место [1].

Гистологическая структура сарком мягких тканей чрезвычайно разнообразна. Согласно современной классификации ВОЗ (2002), выделяется более 30 различных типов мягкотканых сарком. Свыше 28% составляют злокачественные фиброзные гистиоцитомы (ЗФГ), более 15% — липосаркомы, 12% — лейомиосаркомы, более 11% — не классифицируемые саркомы, 10% — синовиальные саркомы, 5-6% — рабдомиосаркомы и злокачественные опухоли из оболочки периферических нервов, 3% — фибросаркомы, 2% и менее — ангиосаркомы, саркома Юинга, остеосаркома, эпителиоидная саркома, хондросаркома, светлоклеточная саркома и др.

До недавнего времени эта нозология оставалась недостаточно изученной. В связи с этим достаточно большой процент сарком мягких тканей, ранее диагностируемых как фибросаркома или не классифицируемые опухоли, при повторном исследовании в дальнейшем были расценены как ЗФГ. Так, в литературе в общей структуре сарком мягких тканей доля злокачественных фиброзных гистиоцитов указывается высокими цифрами — 28%, а по данным других источников — даже 40%.

РАЗРЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Семиотика ЗФГ (как и сарком мягких тканей) включает местные и общие симптомы. К первым относятся боль, наличие опухоли и в случае ло-

кализации образования в мягких тканях конечностей ограничение функции сустава. На поздних стадиях болезни могут наблюдаться общие явления интоксикации — анемия, лихорадка, потеря массы тела, нарастающая слабость.

Клиническое течение сарком мягких тканей, как указывалось выше, характеризуется определенной вариабельностью. В одних случаях опухоль после хирургического удаления упорно рецидивирует в течение многих лет, не давая отдаленных метастазов, в других, наоборот, вскоре после удаления опухоли выявляются множественные отдаленные метастазы, для третьих же характерно длительное безрецидивное течение заболевания после хирургического или комбинированного лечения. В определенной мере описанная многоликость клиники заболевания связана с различиями в гистогенезе, однако, даже при аналогичных по строению опухолях у разных пациентов может наблюдаться неодинаковая биологическая активность новообразований [2].

Как было отмечено, большинство сарком мягких тканей характеризуются частым и упорным рецидивированием. Некоторые авторы склонны считать развитие рецидивов после эксцизии опухоли скорее правилом, чем исключением. Число больных, обращающихся по поводу рецидива blastом мягких тканей, обычно больше числа первичных больных. Саркомы мягких тканей характеризуются склонностью к гематогенному и в меньшей степени лимфогенному метастазированию. Это объясняется тем, что мягкотканые опухоли растут вдоль сосудистых влагалищ и рано инвазируют сосудистое русло, обеспечивая себе путь дальнейшего распространения [3]. Необходимо учитывать данный фактор при планировании лечения, которое в большинстве случаев носит комплексный характер. С современных позиций лечение сарком мягких тканей должно быть многокомпонентным. Применение комбинации химиотерапии, лучевой терапии с хирургическим методом позволяет получать схожие результаты лечения в разных клиниках [4].

Существуют два основных вида операций по поводу сарком мягких тканей: сохраняющие (сберегательные) и калечащие — разнообразные виды ампутаций и экзартикуляций конечностей. При планировании и проведении оперативного вмешательства необходимо учитывать анатомические особенности распространения опухолевого процесса, придерживаясь принципа удаления опухоли с сохранением так называемой «капсулы», т.е. радикального удаления образования с гистологически негативными краями резекции.

Точный объем удаляемых нормальных тканей вокруг опухоли для предупреждения рецидива не известен. При проведении операций по поводу сарком мягких тканей обязательно соблюдение принципов *футлярности и зональности*. Опухоль растет в пределах мышечно-фасциального футляра и должна быть удалена в едином мышечно-фасциальном футляре, в котором она расположена; только при этом операция считается радикальной. Большинство клиницистов считают, что при планировании лишь операции достаточно отступить 5 см от края опухоли, при сочетании же с лучевой терапией — 3 см. При лечении сарком мягких тканей в качестве дополнительных методов используется химиотерапия и лучевая терапия в комбинации с операцией в зависимости от степени чувствительности опухоли к данным видам лечения. Лучевая терапия проводится в пред- или послеоперационном режиме. Предоперационная лучевая терапия назначается для снижения злокачественного потенциала опухоли за счет гибели хорошо оксигенированных, наиболее радиочувствительных клеток, уменьшения объема и перифокального воспаления опухоли, за счет чего в ряде случаев удается перевести опухоль из неоперабельного состояния в операбельное, а также выполнить сохраняющие операции. Послеоперационная лучевая терапия проводится с целью уничтожения гипотетически оставленных в ране опухолевых клеток для предупреждения развития рецидивов и метастазов, а также после нерадикальных операций с целью уничтожения оставленных опухолевых масс. Однако необходимо отметить, что радиотерапия, назначаемая до операции, сопровождается значительно большим числом осложнений, чем при применении ее в адьювантном варианте.

Химиотерапия является основным методом лечения диссеминированного процесса при саркоме мягких тканей. Комбинация доксорубицина, ифосфамида, дакарбазина в сочетании с уроротектором месной (MAID) считается наиболее эффективной. Менее активны дактиномицин, циклофосфамид, цисплатин, метотрексат, этопозид, блеомицин, винкристин, винорельбин.

При операбельных опухолях почти во всех программах лечения химиотерапия сочетается с операцией. Химиотерапия используется как в предоперационном (предоперационная, индукционная или неоадьювантная химиотерапия), так и в послеоперационном режиме (профилактическая или адьювантная). Широкое применение нашла комбинация химио- и лучевого методов лечения в пред- и послеоперационном периодах при лечении сарком мягких тканей [1, 5].

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в области химио- и радиотерапии, молекулярной генетики и иммуногистохимии, прогноз и выживаемость больных с СМТ остаются на довольно низком уровне, что предполагает поиск новых, более точных методов исследования.

В настоящее время остаются актуальными вопросы частоты встречаемости, ранней диагностики, клинического течения, гистоструктуры отдельных гистологических вариантов, методов лечения, прогноза злокачественных фиброзных гистиоцитом. Именно с этой точки зрения целесообразным представляется применение проточной цитометрии, которая является новым критерием морфодиагностики и может быть использована для выявления первых признаков малигнизации и улучшения диагностики этого вида неоплазм.

Проточная цитометрия (flow cytometry) в настоящее время является одним из перспективных морфологических методов исследования, широко используемым в диагностике как опухолевых, так и фоновых (предраковых) процессов. Метод проточной цитометрии основан на избирательном поглощении клеточными структурами света разной длины волны: от инфракрасного до ультрафиолетового диапазона. Проточно-цитометрический метод исследования в ультрафиолетовой области спектра связан с применением специальной оптики и устройств для визуализации изображения. Это привело к созданию методов косвенного определения веществ путем фотометрирования красителей, стереометрически связывающихся с анализируемым веществом в результате цитохимических реакций [6-8].

В отличие от биохимических методов, с помощью которых определяется суммарное количество исследуемого вещества во всем объеме ткани, методом проточной цитометрии возможно определение вещества в изолированной клетке, а также отдельно в ядре и цитоплазме, хромосоме или ее части. Метод проточной цитометрии позволяет решать ключевые задачи функциональной цитологии, в том числе клинической [9]. Данное обстоятельство подтверждается значительными достижениями в теоретической и экспериментальной биологии, а также медицине. Методом проточной цитометрии установлено постоянство количества ДНК в расчете на одну клетку в различных тканях любого организма и, таким образом, доказана важная роль ДНК в наследственности.

Широкое использование данного метода в онкологии началось после того, как Voivin и соавт. установили четкое соответствие между числом

хромосом и количеством ДНК в ядре. Это послужило предпосылкой для выполнения большого количества исследований, посвященных изучению содержания ДНК в клетках различных органов человека в норме и при патологических состояниях. В области онкологии наибольшее количество работ посвящено проточно-цитометрическому изучению содержания ДНК в клетках опухолей эпителиального происхождения [10]. В одной из первых работ, касающихся исследования содержания нуклеиновых кислот в клетках гистологических срезов из различных опухолей человека, было показано увеличение количества ДНК в опухолях по сравнению с контролем [11]. На основании полученных данных высказывается предположение об участии нуклеиновых кислот в малигнизации.

Поскольку желудочно-кишечный тракт является одной из частых локализаций опухолей, для многих исследователей было важно выявить различия в содержании ДНК клеток нормального эпителия желудка и измененного при гастрите, полипах, атипической пролиферации и раке. По данным ряда исследований, эти различия проявляются в смещении модальности модального класса клеток от диплоидного значения в норме до анеуплоидного в аденокарциноме, а также в нарастании массы ДНК. Согласно данным, «индекс накопления» ДНК в норме составляет 2,8 у.е., при гастритах и полипозах — 4,7 у.е., а в аденокарциномах желудка этот условный показатель достигает 11,9 у.е. Авторы отмечают, что в доброкачественных опухолях модальный класс составляют клетки с гиперплоидным содержанием ДНК. Что касается раковых клеток, то в них обнаружено увеличение содержания ДНК и большой разброс плоидности и анеуплоидности [3, 11].

Схожие исследования проведены и при патологии шейки матки. Изучение цитогенетических изменений в эпителии шейки матки при дисплазиях, внутриэпителиальном раке и инвазивной форме рака проведено А. I. Spriggs (1974). Автор дифференцированно подходит к оценке обнаруживаемых цитогенетических сдвигов при патологии шейки матки. В нормальном эпителии и при воспалении, как правило, отсутствуют количественные изменения хромосом. При слабой дисплазии наиболее часто наблюдаются клетки с диплоидным набором хромосом, хотя встречаются единичные тетраплоидные клетки без каких-либо нарушений в составе хромосомного набора. При сильной дисплазии и раке *in situ* некоторые или все клетки анеуплоидны. Для этих форм поражения эпителия шейки матки наибо-

лее характерна диплоидная модальная линия хромосом с разнообразием их количества в отдельных клетках, изредка формируются анеуплоидные клоны клеток.

Заслуживают внимания данные Atkin и A.A.Sandberg, которым удалось выявить взаимосвязь между плоидностью опухолевых клеток и степенью выживаемости больных, страдающих раком тела матки: более благоприятное течение заболевания наблюдается у больных, в гистограмме опухолей которых преобладали клетки с гипоплоидным содержанием ДНК. Больные с тем же диагнозом имели худший исход, если в популяции преобладали клетки с более высокими значениями плоидности. Atkin устанавливает взаимосвязь между плоидностью клеток опухоли и степенью их дифференцировки. Согласно его данным, пациенты с низкодифференцированными опухолями эндометрия имеют более тяжелое течение заболевания, чем больные с опухолями средней и высокой степени дифференцировки. В свою очередь, у больных с низкодифференцированными опухолями наблюдается относительно благоприятный исход в случае, если модальный класс клеток имеет диплоидное значение [7, 11, 12]. Низкодифференцированные опухоли с высокими значениями плоидности модального класса клеток имеют худший прогноз. Установлена подобная корреляция для карциномы шейки матки.

W.Sandritter (1980) считает уровень содержания ДНК в ядрах характерным маркером предопухолевых и опухолевых процессов. Количественные изменения ДНК определялись разными авторами у больных раком толстого кишечника, предстательной железы, легких, молочной железы. Во всех случаях данные отрывочны, не систематизированы и не могут служить основанием для применения результатов в практической онкологии. Что касается использования этого метода при злокачественных опухолях мягких тканей, согласно литературным данным, полученной информации недостаточно для конкретизации выводов. Учитывая тот факт, что одним из критериев опухолевой атипии является изменение плоидности генетического материала, массы ДНК и числа хромосом, выявляемые с помощью метода проточной цитометрии отклонения этих показателей могут служить маркером злокачественной трансформации [13]. Поэтому мы считаем, что имеет смысл применять проточную цитометрию в качестве дополнительного метода морфологической диагностики злокачественной фиброзной гистиоцитомы, это позволит определить строение и структуру клеточ-

ной популяции на основе изучения гистогенеза. В свою очередь, используя полученные данные, можно создать более точные дифференциально-диагностические критерии злокачественных фиброзных опухолей мягких тканей, оптимизировать прогноз и результаты лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амирасланов А.Т., Касумов Н.В., Казиев А.Ю., Амирасланов А.А. Комплексное лечение мягкотканых сарком / Опыт онкологической клиники АМУ: Мат. II съезда онкологов СНГ. — 2000. — С. 780.
2. Краевский Н.А., Казанцева И.А., Ольховская И.Г., Пробатова Н.А. Исследование патологии митоза в клинической онкоморфологии // Арх. патологии. — 1984. — №11. — С. 16-22.
3. Горбунова В.А. Злокачественные опухоли мягких тканей / Под ред. Н.И. Переводчиковой. — М.: Практическая медицина, 2005. — С. 336-344.
4. Гафтон Г.И., Пхакадзе Н.Р., Сенчик К.Ю., Гельфольд В.М. Перспективные методы терапии больных саркомами мягких тканей конечностей // Практическая онкология. — Т.5, №4. — 2004.
5. Амирасланов А.А. Роль неоадьювантной химиотерапии в комплексном лечении сарком мягких тканей // International Journal of Immunorehabilitation. — 2002. — Т.4, №1. — С. 125.
6. Богатырев В.Н. Значение количественных методов исследования (морфометрии, проточной цитофлуориметрии, сканирующей микрофотометрии) в клинической онкоцитологии: Дисс. ... на соискание уч. степени д.мед.н. — М., 1991. — 426 с.
7. Berlinger N.T., Malone B.N., Koy N.E. A comparison of flow cytometric DNA analysis of fresh and fixed squamous cell carcinomas // Arch. Otolaryngol. — 1987. — Vol. 113. — P. 1301-1306.
8. Hedley D. Flow cytometry using paraffin-embedded tissue: five years on // Cytometry. — 1989. — №10. — P. 221-241.
9. Bodensteiner D., Reidinger D., Rosenfeld C. Flow cytometry of needle aspirates from bone and soft tissue tumors // South. Ved. J. — 1991. — Vol. 84. — №12. — P. 1451-1454.
10. Fujimoto J., Ichikawa N., Takeuchi M., Yamamota H. Adverse effect of prolonged formalin fixation on NDA histograms in paraffin — embedded tissue // Acta Histochem. Cytochem. — 1998. — Vol. 31. — №3 — P. 171-175.
11. Setala L.P., Nordling S., Kosma V.-M. et al. Comparison of DNA ploidy and S-phase fraction with prognostic factors in gastric cancer // Anal. And Quant. Cytol. and Histol. — 1997. — Vol. 19. — №6. — P. 524-532.
12. Mauro F., De Vita R., Spano M., Teodori L. Flow cytometry as a tool for the prognostic assessment of human neoplasia // Int. J. Radiat. Oncol. Physiol. — 1986. — Vol. 12. — P. 625-636.
13. Петрова П., Тодорова Е., Антонов А. Количественное определение поверхностных антигенов в клетке методом проточной цитофотометрии // Инфектология. — 1996. — Вып.33. — №3. — С. 64-66.

К.А.Алієва. Значення проточної цитометрії в діагностиці злоякісної фіброзної гістіоцитоми. Баку, Азербайджан.

Ключові слова: проточна цитометрія, саркоми м'яких тканин.

Частота виявлення, проблеми ранньої діагностики, клінічного перебігу, гістологічної структури деяких варіантів злоякісної фіброзної гістіоцитоми, а також методів її лікування та прогнозу залишаються актуальними на сьогоднішній день. Із цієї точки зору, доцільність застосування проточної цитометрії — нового критерію для морфологічної діагностики — представлена в даній статті. Вона може бути використана для виявлення перших ознак малігнізації і для поліпшення діагностики цього типу новоутворень. Беручи до уваги той факт, що одним із критеріїв атипичності пухлини є зміни в плоідності генетичного матеріалу, кількості ДНК, у кількості хромосом, які можуть бути виявлені за допомогою проточної цитометрії, відхилення цих параметрів можуть служити маркером злоякісної трансформації. Використовуючи отримані дані, можна створити більш точні диференційно-діагностичні критерії злоякісних пухлин м'яких тканин, оптимізувати прогноз, а також результати лікування.

K.A.Aliyeva. The value of flow cytometry in the diagnosis of malignant fibrous histiocytoma. Baku, Azerbaijan.

Key words: flow cytometry, soft tissue sarcoma.

Today, the issues of occurrence frequency, early diagnosis, clinical course, histostructure of some histological variants of malignant fibrous histiocytoma, and also the methods for its treatment and prognosis are actual today. From this point of view, an expedient application of flow cytometry — a new criterion for morphodiagnosics — is presented in the article. It can be used for detecting the first symptoms of malignization and for the improvement of diagnosis of this type neoplasm. Taking into consideration the fact that one of the criteria for tumor atypicalness are changes in the ploidity of genetic material, DNA weight, and in the quantity of chromosomes detected by means of flow cytometry, deviations from these parameters can serve as a marker of malignant transformation. It is possible to create more exact differential-diagnostic criteria for malignant fibrous tumors of soft tissue to optimize prognosis, and treatment results using the obtained data.

Надійшла до редакції 17.12.2010 р.