
ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

УДК: 616–006.32.04–078.73

ЗЛОКАЧЕСТВЕННАЯ МЕЗОТЕЛИОМА ПЛЕВРЫ: ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДИК

О.Г. Григорук, Л.М. Базулина, В.С. Дорошенко, А.Ф. Лазарев

*Алтайский филиал ГУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН»,
ГУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», г. Барнаул*

Повышенное внимание к проблемам диагностики и лечения злокачественной мезотелиомы плевры объясняется ростом заболеваемости этой опухолью. Изучены цитологические характеристики мезотелиомы плевры у 65 больных с использованием иммуноцитохимических методик. Использована стандартная иммуноцитохимическая методика для верификации новообразования из плевральных полостей с набором маркеров, состоящих из 11 антител. Приведены данные о наиболее значимых опухолеспецифичных иммуноцитохимических маркерах в дифференциальной диагностике мезотелиомы и аденогенного рака.

Ключевые слова: мезотелиома плевры, иммуноцитохимия.

MALIGNANT MESOTHELIOMA OF THE PLEURA: POTENTIALITIES OF IMMUNOCYTOCHEMICAL TECHNIQUES

O.G. Grigoruk, L.M. Basulina, V.S. Doroshenko, A.F. Lazarev
*Altai Affiliation of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; RAMS, Barnaul,
Altai Regional Cancer Center, Barnaul*

Incidence of malignant mesothelioma demonstrates a considerable rise over the last years. Cytological characteristics of pleural mesothelioma for 65 patients were studied using immunocytochemical techniques. A standard immunocytochemical technique with a set of markers comprising 11 antibodies was used for verification of neoplasia from pleural cavities. Data on the most important tumor-specific immunocytochemical markers for differentiated diagnosis of mesothelioma and adenogenic cancer were presented.

Key words: mesothelioma of the pleura, immunocytochemistry.

В последнее десятилетие зафиксировано увеличение заболеваемости первичными опухолями серозных оболочек в Западной Европе, США, Австралии [1]. Подобная тенденция отмечается и в нашей стране, где уровень заболеваемости мезотелиомой плевры (МП) составляет 0,1–0,2 на 100 тыс. населения [6]. В настоящий момент наиболее изученным этиологическим фактором являются некоторых виды асбестовых волокон, считается, что они имеют тропность к серозным оболочкам. Из желудочно-кишечного тракта и бронхов частички асбеста мигрируют в плевру и брюшину, где могут накапливаться в значительных количествах и служить пусковым механизмом для развития опухоли. Латентный период злокачественной мезотелиомы колеблется от 15 до 60 лет. Однако даже при полном

исключении воздействия асбеста рост заболеваемости мезотелиомой в ближайшие годы будет продолжаться. Известно, что около половины больных мезотелиомой не имели в анамнезе контакта с асбестом, предполагается, что рост заболеваемости МП в ближайшие годы будет продолжаться [11]. Другие возможные причины возникновения рассматриваемой опухоли – загрязнение атмосферы взвешенными веществами, радиация, хроническое воспаление, вирусные инфекции.

Лечение является достаточно трудной проблемой, так как хирургические и лучевые методы лечения применяются при локализованной форме МП лишь у 7–10 % больных [2]. Хирургическое вмешательство при мезотелиоме часто носит диагностический и лишь

в отдельных случаях – радикальный характер. После плеврэктомии операционная смертность достигает 14–15 % [2]. Показатели продолжительности жизни практически не зависят от метода лечения, после операции медиана выживаемости составляет 12,4 мес, после химиотерапии – 7,5 мес, после операции и химиотерапии – 12 мес [9]. Морфологическая диагностика мезотелиомы часто затруднительна, нередко приходится использовать дополнительные методы диагностики [5,7]. Одним из таких направлений является использование цитологических методов с применением иммуноцитохимии или электронной микроскопии.

Целью данной работы было изучение возможностей цитологической диагностики с использованием иммуноцитохимических методик при исследовании экссудатов из плевральных полостей.

Материал и методы

Работа основана на изучении результатов обследования 90 больных мезотелиомой в клинко-диагностической (цитологической) лаборатории ГУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» за 5 лет. Доставленную в лабораторию плевральную жидкость центрифугировали по стандартным методикам, окрашивали по методу Паппенгейма, изучали на световом микроскопе.

При проведении иммуноцитохимических реакций препараты готовили с использованием цитоцентрифуги Cytospin-4. Иммуноцитохимические исследования проводили по стандартной методике. Для визуализации реакции антиген/антитело использовали стрептавидин-биотиную тест-систему LSAB2 и EnVision+. В качестве хромогена применяли DAB (3,3-диаминобензидин). Для верификации новообразования из серозных полостей использован набор маркеров, состоящий из 11 антител: цитокератины-пан (C MNF 116, C AE1/AE3), виментин (Vimentin), моно- и поликлональный раково-эмбриональные антигены (CEA), эпителиальный антиген (Ber-EP4), мезотелин (Mesothelial Cell HBME-1), эпителиальный мембранный антиген (EMA), калретинин (Calretinin), тромбомодулин (Thrombomodulin) и лейкоцитарный антиген CD-15 [3, 4, 8, 10]. Полученные данные сопостав-

лены с последующим клиническим течением заболевания с учетом данных канцер-регистра и гистологическим изучением операционного материала первичной опухоли.

Результаты и обсуждение

Злокачественная мезотелиома диагностирована у 48 (53,3 %) женщин и 42 (46,7 %) мужчин. Преобладали пациенты старше 50 лет (86,7 %). В лабораторию поступала на исследование геморрагическая жидкость – 46 случаев (51,2 %), серозная – 40 (44,4 %) и студенистая – 4 наблюдения (4,4 %) в количестве от 8 до 1000 мл.

В 82 наблюдениях (91,1 %) определена эпителиальная мезотелиома, в 35 случаях – высокодифференцированная, в 39 – умереннодифференцированная и в 8 – низкодифференцированная. Саркомоподобная мезотелиома диагностирована в 2 (2,2 %) случаях, смешанная – в 6 (6,7 %). Саркомоподобная и двухфазная мезотелиомы наблюдались в нашем исследовании реже, вероятно, в результате менее выраженного слущивания клеток в плевральную полость [7]. По литературным данным, эти показатели составляют от 15 до 30 % всех наблюдений мезотелиом [11]. Саркомоподобная мезотелиома диагностирована у молодых людей (11 и 27 лет). Саркомоподобная мезотелиома характеризуется веретенообразными клетками с удлинёнными ядрами и малозаметными ядрышками. Оба наблюдения веретенноклеточной мезотелиомы напоминали фибросаркому. Из иммуногистохимических исследований наиболее важными оказались исследования на кератины широкого спектра (C MNF 116, C AE1/AE3) для проведения дифференциального диагноза с веретенноклеточной опухолью мезенхимального происхождения.

Двухфазная мезотелиома состоит из сочетания эпителиальных и саркоматоидных клеток. Каждый компонент представлен минимум в 10 % клеток опухоли, что оправдывает бифазность [11]. Дифференциальный диагноз такой мезотелиомы необходимо проводить с первичной саркомой плевры, в которой опухоль характеризуется локализованной формой без диффузного вовлечения плевры.

Для цитологической диагностики эпителиальной мезотелиомы использовали набор онкомаркеров, которые позволили идентифицировать в экссудатах опухолевые клетки мезотелиомы и аденокарциномы. Иммуноцитохимические исследования применяли в диагностике 65 мезотелиом (72,2 %). Во всех 65 наблюдениях клетки мезотелиомы (100 %) экспрессировали кератины (С MNF 116, С AE1/AE3), также во всех наблюдениях отмечена положительная цитоплазматическая реакция на виментин. При проведении реакции на моно- и поликлональный раково-эмбриональные антигены (CEA) опухолевые клетки были иммунонегативны. В двух случаях (3,1 %) отмечена реактивность опухолевых клеток на поликлональный раково-эмбриональный антиген. Негативная реакция клеток мезотелиомы на эпителиальный антиген (Ber-EP4) отмечена в 100 % наблюдений (таблица).

Мезотелин (Mesothelial Cell HBME-1) отмечали во всех 65 наблюдениях мезотелиомы (100 %). Калретинин и тромбомодулин изучен в 12

наблюдениях (18,5 %). Реактивность к калретину и тромбомодулину для мезотелиомы имеет важное значение в дифференциальном диагнозе. Калретинин выявляли в клетках мезотелиомы, где наблюдали ядерно-цитоплазматическое окрашивание. Он отсутствовал в клетках опухоли, характерных для рака (4 случая), за исключением серозных папиллярных аденокарцином яичника (2 случая). Реакция на тромбомодулин также была положительной в 12 исследованных МП и отсутствовала при метастазах железистого рака в 4 наблюдениях. Реакция клеток мезотелиомы на лейкоцитарный антиген CD-15 во всех наблюдениях была негативной (таблица). Иммуноцитохимическое изучение эпителиального мембранного антигена (EMA) при мезотелиоме проведено в 8 случаях (12,3 %). Иммунореактивность во всех наблюдениях отмечена на клеточных мембранах. Для аденокарциномы характерно цитоплазматическое окрашивание эпителиального мембранного антигена.

Таблица

Результаты иммуноцитохимического исследования мезотелиомы и метастатической аденокарциномы плевры

Иммунологический маркер	Иммуноцитохимическая реакция	
	При мезотелиоме	При аденокарциноме
Карциноэмбриональный антиген (CEA) моноклональный	Негативная	Позитивная
Карциноэмбриональный антиген (CEA) поликлональный	Негативная (позитивная в 3,1 %)	Позитивная
Виментин (Vimentin)	Позитивная	Только в некоторых опухолях
Эпителиальный мембранный антиген (EMA)	Позитивная мембранная	Позитивная цитоплазматическая
Цитокератины (С MNF 116, С AE1/AE3)	Обе позитивные	Более выражена в С MNF 116
Эпителиальный антиген (Ber-EP4)	Стойко негативная	Стойко позитивная
Калретинин (Calretinin)	Стойко позитивная	Негативная, (позитивная в 16,7 %)
Мезотелин (Mesothelial Cell HBME-1)	Стойко позитивная	Негативная
Тромбомодулин (Thrombomodulin)	Стойко позитивная	Негативная
Лейкоцитарный антиген (CD-15)	Стойко негативная	Позитивная в некоторых опухолях

Дифференциальная диагностика мезотелиомы и аденогенного рака была проведена у 30 больных, в результате проведенного морфологического анализа в 18 случаях установлен диагноз – мезотелиома, в 8 – диагностирован аденогенный рак легкого, в 2 – рак яичника, в 2 – рак молочной железы. Провести цито-гистологические параллели в диагностике мезотелиом удалось у 36 больных (40,0 %), иммуноцито- и иммуногистохимические – у 19 (21,1 %). Все исследуемые мезотелиомы в гистологическом материале были цитокератин-виментин положительные в 60–100 % опухолевых клеток. Кроме иммуногистохимических маркеров, в иммуногистохимических исследованиях также изучен маркер пролиферации Ki-67, который обнаружен во всех наблюдениях, с частотой от 8,75 до 83,7 %. Исследование супрессорного гена p-53 отмечено в 0,58–33,8 % клеток. Реакция с антителами Her-2/neu во всех мезотелиомах была отрицательная.

Таким образом, цитологическая диагностика мезотелиомы плевры возможна, хотя она и сопряжена с большими трудностями. Клетки, полученные для цитологического исследования в экссудативных жидкостях, по существу имеют те же самые характеристики, что и биопсийный материал. Для правильной интерпретации полученных результатов цитологу (врачу-лаборанту) необходимо располагать данными анамнеза, рентгенологической информации и достаточным количеством клеточного материала. При использовании иммуногистохимических методик при саркоматоидной мезотелиоме исследования могут быть ограничены пан-цитокера-

тинами широкого спектра. При эпителиальной мезотелиоме наиболее значимы реакции на калретинин, мезотелин и тромбомодулин при положительной реакции на виментин и кератины. Иммунонегативная реакция характерна на CEA, Ber-EP4 и CD-15.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бычков М.Б. Опухолевые плевриты (дифференциальная диагностика и лечение) // Русский медицинский журнал. 1999. Т. 10, № 7. С. 3–8.
2. Бычков М.Б., Большакова С.А., Бычков Ю.М. Мезотелиома плевры: современная тактика лечения // Современная онкология. 2005. Т. 7, № 3. С. 142–144.
3. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Надгорная В.А., Крячок И.А. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей. Киев: Морин, 2003. С. 78–91.
4. Григорук О.Г., Лазарев А.Ф., Богатырев В.Н., Базулина Л.М. Дифференциальная диагностика заболеваний плевры на клеточном уровне // IV съезд онкологов и радиологов: Избранные лекции и доклады. Баку, 2006. С. 127–129.
5. Григорук О.Г., Лазарев А.Ф., Богатырев В.Н. Комплексный подход в диагностике мезотелиомы плевры на цитологическом материале // Материалы X Российского онкологического конгресса. М., 2006. С. 203.
6. Профилактика, ранняя диагностика и лечение злокачественных новообразований: Лекционный курс в рамках подпрограммы «О мерах по развитию онкологической помощи населению Российской Федерации» / Под ред. академика РАН и РАМН М.И. Давыдова. М., 2005. С. 23–37.
7. Шойхет Я.Н., Григорук О.Г., Лазарев А.Ф. и др. Цитологическая диагностика характера патологии плевры // Респираторная медицина. 2007. № 1. С. 75–79.
8. Dejmek A., Brockstedt U., Hjerpe A. Optimization of a battery using nine immunocytochemical variables for distinguishing between epithelial mesothelioma and adenocarcinoma // APMIS. 1997. № 105. P. 889–894.
9. Melloni G., Puglisi A., Ferrarini G.M. et al. Treatment of malignant mesothelioma of pleura // Minerva. Chir. 2001. Vol. 56, № 3. P. 243–250.
10. Ordóñez N. Value of cytokeratin 5/6 immunostaining in distinguishing epithelial mesothelioma of the pleura from lung adenocarcinoma // Am. J. Surg. Pathol. 1998. Vol. 22. P. 1215–1221.
11. Travis D., Brambilla E., Konrad H. et al. Tumors of the Pleura. Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. 2004. P. 126–136.

Поступила 19.04.07