

ЛИТЕРАТУРА

1. Альфонсов В. В., Бочкарникова Н. В., Альфонсова Е. В. Ацидоз, гемостаз и морфология органов пищеварительной системы. – Чита, 2005. – 100 с.
2. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 290 с.
3. Витковский Ю. А., Кузник Б. И., Говорин А. В. и др. Система гемостаза, лейкоцитарно-тромбоцитарные взаимоотношения, белки острой фазы воспаления и цитокинов у больных с различными формами ИБС // Тромбоз, гемостаз, реология. – 2009. – № 1. – С. 49–63.
4. Гальченко О. Е., Бабаева А. Р. Диагностическое и прогностическое значение комплексной оценки нарушений тромбоцитарного гемостаза, микроциркуляции и липидпероксидации при ишемической болезни сердца // Вестн. Волгогр. мед. ун-та. – 2007. – № 4. – С. 53–56.
5. Горницкая О. В. Особенности агрегации тромбоцитов при инфаркте миокарда // Экспериментальная клиническая физиология, биохимия. – 2007. – № 4. – С. 54–60.
6. Константинова Е. Э. Основные закономерности изменения реологических свойств крови и состояния микроциркуляции у больных ишемической болезнью сердца в условиях дислипидемии // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2004. – № 2. – С. 62–68.
7. Кузник Б. И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. – Чита: Экспресс-издательство, 2010. – 828 с.
8. Широкова Т. Е., Бурячковская Л. И., Сумароков А. Б. и др. Значение активации тромбоцитов и изменений эритроцитов в возникновении тромботических и реологических нарушений при ишемической болезни сердца // Кардиоваскуляр. терапия и профилактика. – 2007. – Т. 6. № 5. – С. 18–24.
9. Brambilla M., Camera M., Colnago D. et al. Tissue factor in patients with acute coronary syndrome. Expression in platelets, leukocytes and aggregates platelet-leukocytes // Arteriosclerosis, thrombosis and vasc. biol. – 2008. – V. 28. № 5. – P. 947–953.
10. Fuchs I., Frossard M., Spiel A. et al. Platelet function in patients with acute coronary syndrome (ACS) predicts recurrent ACS // Thromb. and haemost. – 2006. – V. 4. № 12. – P. 2547–2552.
11. Linden M. D., Furman M. I., Frelinger A. L. et al. Indices of platelet activation and the stability of coronary artery disease // Thromb. and haemost. – 2007. – V. 5. № 3. – P. 507–511.
12. Modica A., Karlsson F., Moos T. J. Platelets aggregation and their insensitivity to aspirin increased in patients with acute coronary syndrome, complicated by infection // Thromb. and haemost. – 2007. – V. 5. № 3. – P. 507–511.

Поступила 07.06.2012

Т. В. САЙНОГА, А. А. СЛАВИНСКИЙ

ЭКСПРЕССИЯ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ЛЁГКИХ

*Кафедра патологической анатомии Кубанского государственного медицинского университета,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4. E-mail: slavinsky@hotmail.ru*

Охарактеризованы экспрессия иммуногистохимических маркеров нейроэндокринной дифференцировки опухолевых клеток (нейрон-специфическая энолаза, CD56, CD57, хромогранин А, синаптофизин), их специфичность и чувствительность при разных уровнях злокачественности опухолей. Определена роль этих маркеров в иммуноморфологической диагностике нейроэндокринных карцином лёгких.

Ключевые слова: злокачественные опухоли лёгких, нейроэндокринная дифференцировка, иммуногистохимические маркеры.

Т. В. SAYNOGA, A. A. SLAVINSKY

IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF NEUROENDOCRINE DIFFERENTIATION EXPRESSION IN THE MALIGNANT LUNG TUMORS

*Department of pathologic anatomy of the Kuban state medical university,
Russia, 350063, Krasnodar, Sedin str., 4. E-mail: slavinsky@hotmail.ru*

The characteristic of neuroendocrine immunohistochemical marker's expression (neuron-specific enolase, CD56, CD57, chromogranin A, synaptophysin) was presented. Their specificity and sensitivity at different grade of malignancy, the role of these markers in immunomorphologic diagnostic of lungs neuroendocrine tumors have been defined.

Key words: malignant lung tumors, neuroendocrine differentiation, immunohistochemical markers.

Для иммуногистохимического определения нейроэндокринной дифференцировки опухолей применяются специфические протеины нейроэндокринных клеток [3]. Нейрон-специфическая энолаза (NSE), присутствует в нейронах, нейроэндокринных и паранейрональных клетках.

Иммуногистохимические маркеры CD56 (NCAM, Leu19) и CD57 (Leu7, бета-1,3-глюкозилтрансфераза, HNK-1) – мембранные гликопротеины с функцией клеточной адгезии [6]. Эти антитела экспрессируются на лимфоцитах периферической крови и NK-клетках, а также используются для выявления нейроэндокринных

клеток и опухолей из них. CD56 регулирует гомофильные межнейрональные и мышечно-нейрональные связи. CD57 – белок из группы миелин-ассоциированных протеинов – также выполняет интегративные функции в аксональных и аксонально-глиальных взаимодействиях [4].

Хромогранин А при электронно-микроскопическом исследовании выявляется в секреторных везикулах нейронов и эндокринных клеток. Маркер показывает высокую корреляцию с ультраструктурными признаками нейроэндокринной дифференцировки, причём в карциноидах отмечается большее количество хромогранин А-позитивных гранул, чем в мелкоклеточном раке [2].

Синаптофизин – это трансмембранный гликопротеид с молекулярной массой 38 kD, выделенный из нейронов головного и спинного мозга, из нейромышечных соединений и сетчатки глаза. Синаптофизин присутствует в панкреатических островках, в клетках медуллярного вещества надпочечников и в других нейроэндокринных клетках. Его роль заключается в формировании синаптических везикул и их экзоцитозе. Возможно участие синаптофизина в образовании каналов в мембранах синаптических везикул, а также в высвобождении нейротрансмиттеров. Иммуноэкспрессия синаптофизина выявляется в некоторых нейроэндокринных клетках и во множестве опухолей нейрогенного и эпителиально-го происхождения [5].

Диагностическое значение экспрессии иммуногистохимических маркеров нейроэндокринной дифференцировки остаётся под вопросом [7], поскольку имеются различные данные о соотношении их чувствительности и специфичности. Цель исследования – выявить особенности экспрессии этих маркеров в опухолевых клетках, определить их роль в иммуногистохимической диагностике нейроэндокринных опухолей лёгких, а также их специфичность и чувствительность при разных уровнях злокачественности опухолей.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на операционном и биопсийном материале, полученном от 184 пациентов Центра грудной хирургии Краснодарской краевой клинической больницы. Объект исследования – нейроэндокринные опухоли лёгких разной степени злокачественности и разных клинических стадий (56 случаев мелкоклеточного рака, 24 – атипичного и 59 – типичного карциноида). В качестве контроля для определения уровня специфичности маркеров в исследование включены 45 других карцином лёгкого без гистологических и иммуногистохимических признаков нейроэндокринной дифференцировки (плоскоклеточный рак, аденокарцинома).

Всего исследовано 139 нейроэндокринных опухолей лёгкого, которые в соответствии с критериями ВОЗ были разделены на высоко-, умеренно- и низкодифференцированные. Кроме того, типичные и атипичные карциноиды были выделены в 3 клинические группы (T1N0M0, T2N0M0 и T1-2N1M0) в соответствии с Международной классификацией по системе TNM. Большинство типичных карциноидов (59% случаев – 35 из 59) выявлены в стадии T1N0M0; в стадии T2N0M0 – 32% (19 из 59), в стадии T1-2N1M0 – 8% (5 из 59). Среди атипичных карциноидов распределение по стадиям носило более равномерный характер: T1N0M0 – 25%

(6 из 24), T2N0M0 – 42% (10 из 24) и T1-2N1M0 – 33% (8 из 24).

Иммуногистохимическое исследование осуществляли на парафиновых срезах толщиной 3–4 мкм авидин-биотин-пероксидазным методом по стандартной методике [1] с использованием первичных антител к нейрон-специфической энolahе (клон BBS/NC/VI-H14), к CD56 (клон 123C3) и CD57 (клон TB01), к хромогранину А (клон DAK-A3), к синаптофизину (клон SY38).

При визуальной оценке экспрессии NSE, CD56 и CD57 положительной считали интенсивную цитоплазматическую реакцию не менее чем в 10% клеток опухоли. Экспрессия хромогранина А и синаптофизина в нейроэндокринных опухолях различной степени злокачественности оказалась неоднородной и демонстрировала различия как по интенсивности, так и по количеству позитивных клеток. В связи с этим нами разработана система оценки экспрессии этих маркеров: интенсивность окраски оценивали от 0 до 2 баллов (отрицательная, слабopоложительная, интенсивно положительная), количество позитивных клеток – от 0 до 3 баллов (0%, 1–10%, 10–50% и 50–100% положительных клеток соответственно). Полученные баллы суммировали для каждого случая. При определении чувствительности и специфичности маркера учитывали опухоли с суммой от 3 баллов и выше. Все показатели обрабатывали методами вариационной статистики с оценкой достоверности различий с помощью критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Нейрон-специфическая энolahа. В клетках нейроэндокринных опухолей экспрессия NSE выявлялась в большинстве опухолевых клеток (70–100%). Количество позитивных случаев было примерно одинаковым среди опухолей различной степени злокачественности: 70% (39 из 56) исследованных мелкоклеточных раков, 85% (20 из 24) атипичных карциноидов и 90% (53 из 59) типичных демонстрировали диффузную положительную реакцию с NSE. Какой-либо зависимости экспрессии NSE от клинической стадии карциноидных опухолей не отмечалось: в стадии T1N0M0 в 93% (38 из 41) случаев выявлялась положительная реакция, в стадии T2N0M0 – в 86% (25 из 29) случаев, в стадии T1-2N1M0 – в 85% (11 из 13) случаев. Следует отметить, что положительная реакция в стадии T1-2N1M0 отмечалась как в основной опухоли, так и в метастазах.

Можно сделать заключение о том, что NSE является чувствительным маркером нейроэндокринной дифференцировки: его чувствительность составляет 90% для типичных карциноидов, 85% – для атипичных, 70% – для мелкоклеточного рака. В целом чувствительность этого маркера при диагностике нейроэндокринных опухолей лёгких составляет 80,5%. Однако среди других типов рака лёгкого, не имеющих нейроэндокринной дифференцировки, 35% (16 из 45) опухолей демонстрировали позитивную реакцию с NSE. При этом экспрессия маркера носила гетерогенный характер по количеству позитивных клеток (от 10% до 100%). Таким образом, специфичность экспрессии NSE оказалась низкой и составила всего 65%. Каких-либо существенных различий в характере экспрессии NSE в нейроэндокринных опухолях различной степени злокачественности и разных клинических стадий выявлено не было.

Маркер CD 56 обнаруживал экспрессию в 96% случаев мелкоклеточного рака (54 из 56), причём только в

11% опухолей экспрессия носила очаговый характер. Во всех карциноидных опухолях лёгких экспрессия присутствовала на поверхности большинства клеток в 75% случаев (18 из 24) атипичного карциноида и 81% (48 из 59) случаев типичного карциноида. При других лёгочных карциномах отмечена фокальная экспрессия в 2 случаях (4%).

Эти данные свидетельствуют о том, что CD56 обладает высокой специфичностью и чувствительностью при диагностике нейроэндокринных опухолей лёгких: специфичность составляет 96%, чувствительность – 96% для низкодифференцированных, 76% – для умеренно-дифференцированных и 81% – для высокодифференцированных опухолей.

Маркер CD57 экспрессировался большинством опухолевых клеток в 23% (13 из 56) случаях мелкоклеточного рака, 50% (12 из 24) – атипичного и 61% (36 из 59) – типичного карциноида. Фокальная экспрессия этого маркера отмечена в 12,5% (7 из 26) случаев мелкоклеточного рака, 16% (4 из 24) – атипичного и 20% (12 из 59) – типичного карциноида. В других карциномах лёгкого экспрессия выявлена только в 1 случае (2%).

Специфичность CD57 при диагностике нейроэндокринных опухолей лёгких составляет 98%. Однако чувствительность этого маркера низка, особенно при диагностике высокозлокачественных нейроэндокринных опухолей: высокодифференцированные опухоли – 81%, умеренно-дифференцированные – 66%, низкодифференцированные – 35,5% ($p < 0,001$). Какой-либо зависимости экспрессии CD56 и CD57 от клинической стадии в карциноидах лёгких выявлено не было.

Хромогранин А. В клетках типичных карциноидов интенсивная экспрессия выявлена во всех случаях (5 баллов – 100%). В атипичных карциноидах количество опухолей с суммой 5 баллов было несколько меньше (64%), по 12,5% опухолей получили 3 и 2 балла, 8% были негативны (0 баллов). Какой-либо зависимости экспрессии этого маркера от клинической стадии в карциноидах лёгких не выявлено. В мелкоклеточных карциномах наблюдался следующий характер экспрессии: 50% – 0 баллов, 16% – 2 балла, 11% – 3 балла, 16% – 4 балла, 7% – 5 баллов. Среди других типов рака лёгкого экспрессия хромогранина А выше 3 баллов не выявлена ни в одном случае; в 9% опухолей отмечены единичные слабо позитивные клетки (2 балла).

Специфичность хромогранина А при диагностике нейроэндокринных опухолей лёгких составляет 100%. Чувствительность варьирует в зависимости от степени злокачественности: высокодифференцированные опухоли – 100%, умеренно-дифференцированные – 76,5%, низкодифференцированные – 34% ($p < 0,001$).

Синаптофизин. В клетках типичных карциноидов лёгких интенсивная экспрессия на 5 баллов выявлена в 80%, на 4 балла – в 15% опухолей. Отрицательными в реакции с синаптофизинном были 5% типичных карциноидов. В атипичных карциноидах количество опухолей с суммой 5 баллов составило 83,5%, 4 балла – 12,5%, 4% опухолей были негативны (0 баллов). Опу-

холей со слабой экспрессией синаптофизина (2–3 балла) среди карциноидов не было. Какой-либо зависимости экспрессии от клинической стадии в карциноидах не выявлено. Мелкоклеточный рак имел следующий характер экспрессии: 16% – 0 баллов, 2% – 2 балла, 18% – 3 балла, 16% – 4 балла, 48% – 5 баллов. Среди других типов рака лёгкого экспрессия синаптофизина на 3 балла наблюдалась в 4%, а в 11% случаев отмечены единичные слабо позитивные клетки (2 балла).

Специфичность синаптофизина при диагностике нейроэндокринных опухолей лёгких составила 96%. Чувствительность этого маркера в среднем 91% (высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли – 95%, умеренно-дифференцированные – 96%, низкодифференцированные – 82%).

Таким образом, проведённое исследование показало, что NSE при достаточно высокой чувствительности демонстрирует низкую специфичность. Поэтому данный маркер мы не рекомендуем применять для иммуногистохимической дифференциальной диагностики нейроэндокринных и ненейроэндокринных эпителиальных опухолей лёгких. CD57 и хромогранин А обладают высокой специфичностью, однако их чувствительность снижается по мере увеличения злокачественности опухоли. Такая особенность экспрессии позволяет использовать CD57 и хромогранин А в комплексе с другими маркерами для определения степени злокачественности нейроэндокринных опухолей лёгких. Маркер CD56 и синаптофизин сочетают высокую специфичность и чувствительность, что позволяет рекомендовать их к использованию в качестве основных иммуногистохимических маркеров нейроэндокринной дифференцировки в опухолях лёгких.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dabbs D. J. Diagnostic Immunohistochemistry. – Elsevier Science, 2010.
2. Dardick I., Christensen H., Stratis M. Immunoelectron microscopy for chromogranin A in small cell neuroendocrine carcinoma of lung // *Ultrastruct. pathol.* – 1996. – № 20. – P. 361–368.
3. Erickson L. A. and R. V. Lloyd. Practical markers used in the diagnosis of endocrine tumors // *Adv. anat. pathol.* – 2004. – Vol. 11. № 4. – P. 175–189.
4. Kontogianni K., Nicholson A. G., Butcher D., et al. CD56: a useful tool for the diagnosis of small cell lung carcinomas on biopsies with extensive crush artifact // *J. clin. pathol.* – 2005. – № 58. – P. 978–980.
5. Kwon S. E., Chapman E. R. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons // *Neuron.* – 2011. – Vol. 70. № 5. – P. 847–854.
6. Leong A. S.-Y., Cooper K., Leong F. J. W.-M. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. – London: Oxford University Press, 1999. – P. 101–106.
7. Satoh H., Ishikawa H., Kurishima K. et al. Cut-off level of NSE to differentiate SCLC from NSCLC // *Oncol. rep.* – 2002. – Vol. 9. № 3. – P. 581–583.

Поступила 12.04.2012