

MEDICAL SCIENCES

УДК: 616.71-006; 616.71-018.46-006.441

MODERN METHODS OF DIAGNOSIS OF MALIGNANT LYMPHOMA OF BONES

Aliyeva I.,
*Doctor of philosophy (PhD) in Medicine,
Senior teacher of department Cytology, Embryology and Histology;*

Sultanova T.,
*Doctor of philosophy (PhD) in Medicine,
Assistant professor of department Cytology, Embryology and Histology;*

Aliyarbayova A.,
*Doctor of philosophy (PhD) in Medicine,
Assistant of department Cytology, Embryology and Histology;*

Yildirim L.,
Assistant of department Cytology, Embryology and Histology;

Qurbanova Sh.
*Assistant of department Cytology, Embryology and Histology;
Azerbaijan Medical University, Baku
Department of Cytology, Embryology and Histology*

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ЛИМФОМЫ КОСТИ

Алиева И.О.,
кандидат медицинских наук, старший преподаватель;

Султанова Т.А.,
кандидат медицинских наук, доцент;

Алиярбекова А.А.,
кандидат медицинских наук, ассистент;

Йылдырым Л.Е.,
ассистент;

Курбанова Ш.К.
ассистент.

*Азербайджанский Медицинский Университет, Баку
кафедра Цитологии, Эмбриологии и Гистологии*

DOI: 10.24412/3453-9875-2021-70-1-31-35

Abstract

The problem of combating bone tumors is currently one of the most pressing problems in medicine. At present, bone tumors have been clinically and morphologically investigated in sufficient detail, however, interest in their study continues unabated. Malignant bone lymphoma, in contrast to Ewing's sarcoma, is characterized by a relatively slow course and late development of metastases and affects patients mainly over the age of 20 years. The purpose of this study is to timely detect malignant bone lymphoma (reticulosarcoma) with modern methods and prevent lethal consequences. In this work, the research methods made it possible to clarify the location of the formation in the bone that was detected during a clinical study or was not externally determined. The study included 26 patients with malignant bone lymphoma, who are being treated at the city oncological dispensary named after V.I. A.T. Abbasov (Baku), Research Institute of Traumatology and Orthopedics (Baku) and Federal State Budgetary Institution "N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology" of the Ministry of Health of Russia, AMU Oncology Clinic from 2008 to 2018. The main clinical, laboratory, radiological characteristics of the tumor, survival rates, and prognosis factors were assessed.

Аннотация

Проблема борьбы с опухолями кости в настоящее время, являясь одной из актуальнейших проблем в медицине. В настоящее время опухоли костей клинически и морфологически исследованы достаточно подробно, однако не ослабевает интерес к их изучению. Злокачественная лимфома кости, в отличие от саркомы Юинга, характеризуется относительно медленным течением и поздним развитием метастазов и поражает больных преимущественно в возрасте старше 20-ти лет. Цель данного исследования вовремя выявление современными методами злокачественной лимфомы кости (ретикулосаркомы) и предотвращать летальные последствия. В данной работе методы исследования позволили уточнить расположение в кости образования, выявленного при клиническом исследовании или внешне не определяемого. В исследование включено 26 пациента со злокачественной лимфомой кости, находящихся на лечении в городском онкологическом диспансере им. А.Т. Аббасова (г. Баку), НИИ Травматологии и Ортопедии (г. Баку) и ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, онкологической клиники АМУ с 2008 по 2018

г. Оценивались основные клинические, лабораторные, рентгенологические характеристики опухоли, показатели выживаемости, факторы прогноза.

Keywords: tumor, reticulosarcoma, Ewing's sarcoma, histochemistry, immunohistochemistry.

Ключевые слова: опухоль, ретикулосаркома, саркома Юинга, гистохимия, иммуногистохимия.

В соответствии с Международной гистологической классификацией опухолей первичная злокачественная лимфома кости относится к костномозговым опухолям [2, 8, 9].

Дифференциальная диагностика опухолей костей с помощью иммуногистохимии основывается на фундаментальных особенностях опухолевого роста, к которым относится сохранение экспрессии функционирующих генов в условиях злокачественной трансформации клетки, [1, 2, 4, 7]. Это проявляется в сходстве фенотипа опухолевых клеток и их нормальных аналогов. Соответствующие наборы иммуногистохимических признаков имеют костеобразующие и костномозговые опухоли [1, 2, 3, 5, 6, 10].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Цель данного исследования явилась оценка методом иммуногистохимических исследований клинической значимости выявления компонентов костного матрикса для улучшения и оптимизации диагностики, злокачественных лимфом кости (ретикулосаркомы)

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. В настоящую работу в соответствии с поставленными задачами включены данные по комплексному изучению 26-ти больных со злокачественной лимфомой кости, находящихся на лечении в городском онкологическом диспансере им. А.Т. Аббасова (г. Баку), НИИ Травматологии и Ортопедии (г. Баку) и ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Онкологической клиники АМУ с 2008 по 2018 год

Для решения поставленных задач в работе применялись следующие методы исследований: цитологические, гистологические, гистохимические, иммуногистохимические

Клинические методы исследования. На всех 26-ти больных были заведены протоколы, в которые вносили № истории болезни, возраст, пол больных, локализацию патологического процесса, краткий анамнез, клинические и лабораторные данные, № цитологических и гистологических исследований и биопсий, характер проведенной терапии.

В нашей работе рентгенологические методы исследования позволили уточнить расположение в кости образования, выявленного при клиническом исследовании или внешне не определяемого, установить распространённость очага в пределах одной кости (эпифизарное или диафизарное расположение) и отношение его к зоне роста, а также центральную (внутри костномозгового канала) или периферическую (интракорткальная, субкорткальная или субпериостальная) локализацию очага, направление роста новообразования, чёткость границ как с окружающей костью, так и с мягкими тканями.

Цитологические методы исследования - рутинный цитологический анализ пунктатов, мазков-

отпечатков, окрашенных гематоксилин-эозином и тионином, с последующей гистологической верификацией диагноза и сопоставлением цитологических и гистологических заключений.

В гистологические методы исследования включались случаи, при которых сохранился архивный материал (гистологические препараты, парафиновые блоки или фиксированный в формалине материал), а также текущие наблюдения. Тонкие кусочки кости фиксировали в 10%-ном формалине. После фиксации с целью удаления извести кусочки подвергались специальной обработке - декальцинации 7,5%-ной азотной кислотой. По окончании декальцинации кусочки для предупреждения их дальнейшего набухания и для частичной нейтрализации переносили на 12-24 часа в 5%-ный раствор алюмокалиевых квасцов. Далее обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, уплотняли, заливали в парафин и срезы толщиной 7-10 мкм после депарафинизации окрашивали гематоксилин-эозином, пикрофуксином по ван-Гизону и тионином.

Материал для **гистохимического анализа** фиксировался в 80%-ном спирте. Для выявления гликогена использовалась окраска йодной кислотой и реактивом Шиффа (ШИК или PAS-реакция), для выявления хондроиды и миксоматозной дегенерации стромы использовалась окраска по Крейбергу. Аргирофильный (ретикулярный) каркас выявлялся с помощью импрегнации серебром, ставилась реакция Перлса на железо и реакция с щелочной фосфатазой на обнаружение остеонидной ткани.

Для **иммуногистохимического исследования** использовался материал, замороженный в жидком азоте, из которого изготавливали криостатные срезы, с последующей фиксации в ацетоне, а также материал парафиновых блоков, фиксированных в 10% формалине. Исследование проводилось методом с использованием ферментных иммунных комплексов. Этот тип иммунных комплексов состоит из фермента (антиген) и антител против этого фермента.

Нами в данных исследованиях применён иммуноферментативный авидин-биотиновый метод. Нами в данных исследованиях использовались реактивы фирмы ДАКО (Франция).

Все цифровые данные, полученные в ходе экспериментов, подверглись статистической обработке с учётом современных требований. Полученные данные подвергнуты статистической обработке непараметрическими методами по Вилкоксоу-Манн-Уитни.

Полученные результаты и их обсуждения. Для **цитологической** картины злокачественной лимфомы кости характерно обилие клеток, образующих скопления в виде комплексов или расположенных разрозненно на фоне эритроцитов. Форма

клеток округлая, овальная, полигональная, неправильная. Границы клеток видны не всегда чётко, полиморфизм резко выражен, размеры средние. Цитоплазма скудная или обильная, окрашивается

слабо или резко базофильно, содержит вакуоли. Ядра округлые, иногда овальные, неправильные, располагаются преимущественно в центре клетки (рис.1.).

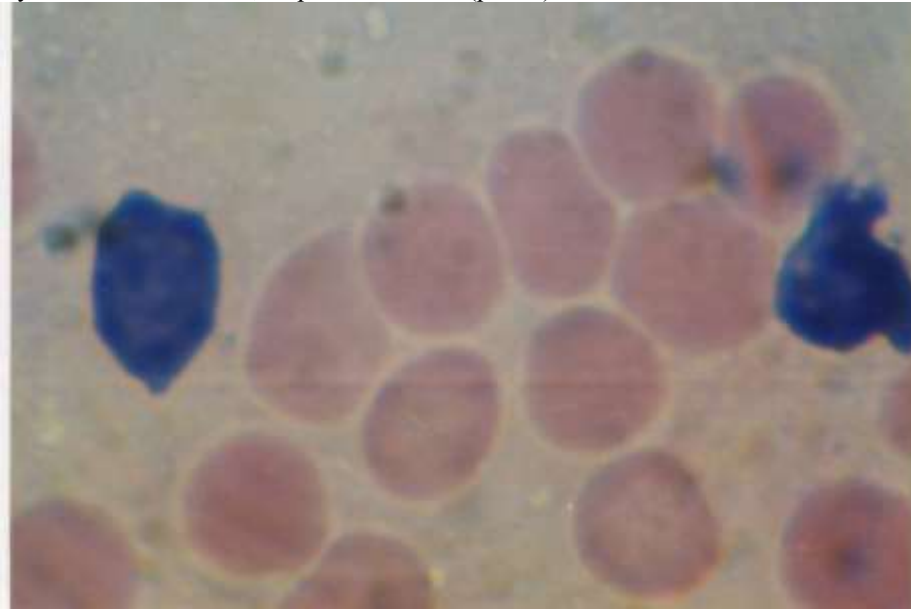


Рис.1. Цитограмма. Форма клеток округлая, овальная, полигональная, неправильная. Окр. Гематоксилин – эозин. Увл.: Об.20, о.10.

Гистологические исследования. Злокачественная лимфома кости макроскопически всегда расположена внутрикостно – в костномозговом пространстве с последующей эрозией или полным разрушением кортикального слоя. В большинстве случаев злокачественная лимфома кости не отличалась чрезвычайно большими размерами или массивными разрастаниями экстраоссального компонента, относительно невысокие темпы роста были характерны для неё. Основной опухолевый узел, разрушая на большем или меньшем протяжении корковый слой, на распиле поражённой кости обычно был расположен в пределах контура кости. Не удалось установить четкой границы опухоли.

Обычно ткань опухолевого очага имела розовый или серовато-розовый цвет. При злокачественной лимфоме кости патологический перелом довольно часто наблюдался в зоне очага поражения

Микроскопические исследования. Опухолевые клетки лимфоидно-ретикулярного и гистиоцитарного типа с большими или меньшими признаками полиморфизма и атипии, с вытянутым или бобовидным ядром и чётко контурированной цитоплазмой являются микроскопически основным структурным элементом. Цитоплазматическо-ядерные соотношения значительно больше, чем при саркоме Юинга, где они обычно равны 1:2.

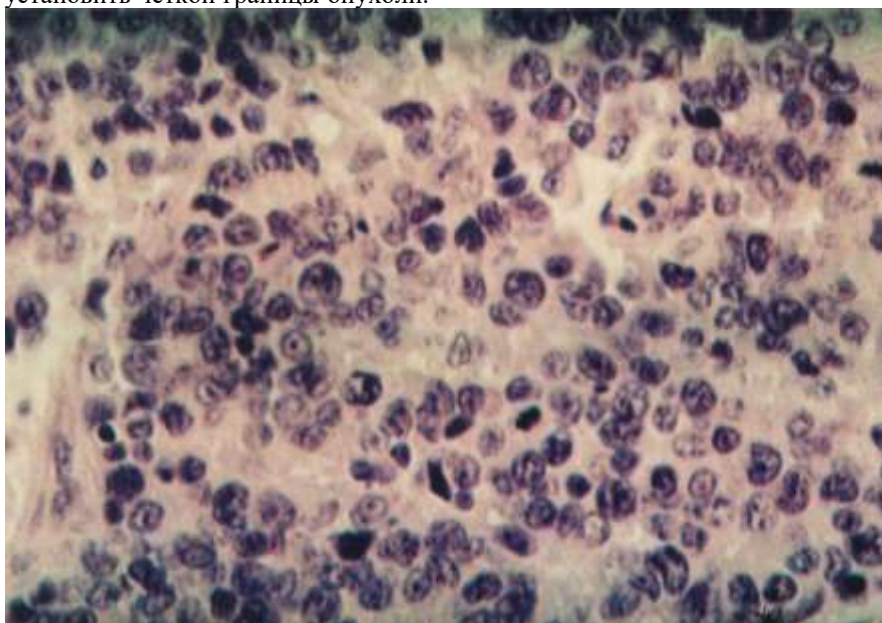


Рис.2. Ядро крупное, имеет почкообразную форму, в более молодых клетках оно явно дольчатое. Окр. Гематоксилин – эозин. Увл.: Об.20, о. 10.

Наиболее четким диагностическим признаком злокачественной лимфомы кости является характер ядер её клеток. В наиболее зрелых формах ядро крупное, имеет почкообразную форму, в более молодых клетках оно явно дольчатое (рис.2.).

Дольчатость была настолько резко выражена в некоторых клетках, что создавало картину кучки мелких округлых ядер. Иногда, правда, наблюдались двух- или трёхядерные клетки. В большинстве случаев хроматин ядер в виде грубых глыбок неправильной формы, округлые и большие ядрышки, по 1-2 в каждом ядре, но иногда, как и в клетках саркомы Юинга, хроматин распределён по ядру тонко и равномерно. Значительно чаще при злокачественной лимфоме кости, чем при саркоме

Юинга, наблюдаются фигуры митоза. При злокачественной лимфоме кости, по сравнению с саркомой Юинга, клеточный полиморфизм, таким образом, выступает гораздо заметнее.

Гистохимические исследования. При импрегнации серебром в злокачественной лимфоме кости, почти постоянно выявлялась богатая сеть ретикулиновых волокон, оплетающих почти каждую клетку. Клетки злокачественной лимфомы кости при гистохимическом исследовании отличались от клеток саркомы Юинга, кроме того, тем, что в цитоплазме гликогена не содержали. Пиронинофильные гранулы выявлялись при окраске по Браше.

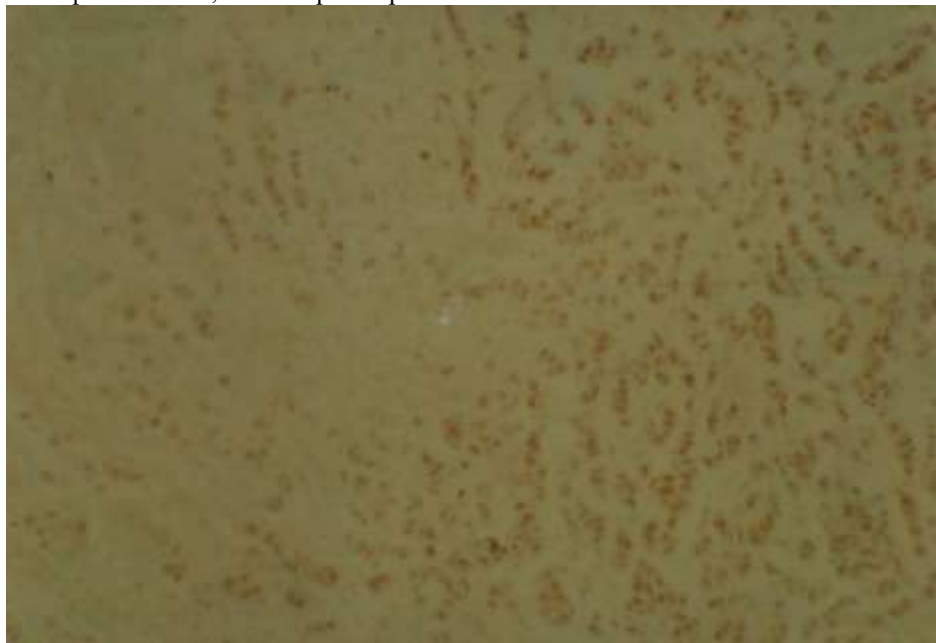


Рис 3. Иммуногистохимическая реакция.

Высокая положительная реакция общим лейкоцитарным антигеном.

Иммуногистохимические исследования. При иммунофенотипировании из 12-ти наблюдений

злокачественной лимфомы кости обнаружена высокая положительная реакция только с общим лейкоцитарным антигеном (++) (рис.3, табл.1).

Таблица 1.

Иммуногистохимические параметры злокачественной лимфомы кости.

К-во	S-100	NSE	НВА-71	LCA	NF
12	-	-	-	++	-

Примечание: ++ высокая степень позитивности,
+ редкие позитивные клетки,
- не позитивные клетки.

Заключение. Таким образом, диффузный характер роста без формирования каких-либо структур, однотипность морфологического строения клеток, слабовыраженные признаки ядерного полиморфизма, пиронинофилия цитоплазмы, ретикулярные волокна вокруг каждой клетки, а также высокая степень позитивности к такому иммуномаркеру как общий лейкоцитарный антиген могут считаться ориентирующими клинико-морфологическими критериями злокачественной лимфомы в отличие от других костномозговых опухолей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. 1.Ə.T.Əmiraslanov., H.K.Muradov. *Dayaq hərəkət orqanları şişlərində neoplastik angiogenez. Monoqrafiya*, Bakı, 2017, 532 səh
2. Мурадов Х.К. *Костномозговые опухоли. Монография*, Баку, 2002, 174 стр.
3. 3.Мурадов Х.К., Мурадова С.Р. *О проблеме гистогенетического источника развития новообразования скелета. Əziz Əliyevin 120 illik yubileyinə həsr olunmuş elmi konfransın materialları*, Bakı 2017, səh. 526-528.
4. Brown R.W. *Immunocytochemistry. Clinical cytopathology and aspiration biopsy*. New York, 2001,

part 5, p. 535-547.

5. De Rueck J., Sieben G., De Coster W., Roels H. Reticulosarcoma. *Histopathology*, 2015, vol.4, N2, p. 225-232.

6. Leone A., Costantini A., Guglielmi G. et al. Primary bone tumors and pseudotumors of the lumbosacral spine // *Rays*. 2011. - Vol. 25. - № 1. -P. 89-103.

7. Ramzi I. Clinical cytopathology and aspiration biopsy. *Clinical cytopathology and aspiration biopsy*.

New York, 2014, part 4, p. 499-511.

8. Pablo P., Fernando MD; López B. Worrisome Juxtacortical Bone Mass. *Arch Pathol Lab Med*. 2014; May Vol 127: 257-258.

9. Peyruchaud O. [Mechanisms of bone metastasis formation. *Soc Biol*. 2017; 201(3):229-36.

10. Yamada K., Kudeken W., Muramatsu Y., Sumitomo Sh., Takai Y. Epidemiology of bone cancer. *Acta histochem. cytochem.*, 2015, vol.30, N5-6, p. 477-482.