

КРАВЦОВ ВЛАДИМИР ГРИГОРЬЕВИЧ

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ,  
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
И КРИТЕРИИ ПРОГНОЗА ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ  
СТРОМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ**

14.00.15 — патологическая анатомия

**А в т о р е ф е р а т**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва 2007

Работа выполнена в Государственном Учреждении Научно-исследовательский институт морфологии человека Российской академии медицинских наук

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор  
ЗАЙРАТЬЯНЦ ОЛЕГ ВАДИМОВИЧ

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор  
КАЗАНЦЕВА ИРИНА АЛЕКСАНДРОВНА

ведущий научный сотрудник,  
кандидат медицинских наук  
ЧАЗОВА НИНА ЛЬВОВНА

Ведущая организация: ГУ института хирургии  
им. А.В. вишневского РАМН

Защита состоится «\_\_\_» октября 2007 г., в 14 часов на заседании диссертационного совета (Д 001.004.01) ГУ НИИ морфологии человека РАМН по адресу: 117418, Москва, ул. Цюрупы, д.3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГУ НИИ морфологии человека РАМН

Автореферат разослан «\_\_\_» сентября 2007 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

Л.П.Михайлова

### **Общая характеристика работы**

Актуальность проблемы. Гастроинтестинальные стромальные опухоли (Gastrointestinal Stromal Tumours — (GIST) — это мягкотканые новообразования желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) веретенноклеточного, эпителиоидно-клеточного или смешанного строения, экспрессирующие маркер CD117 (C-kit, KIT), а также, с различной частотой — CD34, антигены гладкомышечной, и/или нейрогенной дифференцировки (Анурова О.А. и соавт., 2006; Казанцева И.А., 2007; Hamilton S., Aaltonen L., 2000; Miettinen M. et al., 2005).

Термин GIST предложен в 1983 г. М. Mazur и Н. Clark. Однако только после открытия в 1998 г. S. Hirota и соавт. в таких опухолях мутаций в гене c-kit с гиперэкспрессией тирозин-киназного рецептора (KIT), этот термин получил современное понимание, и с 2000 г. GIST стали нозологически самостоятельными (Hamilton S., Aaltonen L., 2000). Важная роль экспрессии KIT в их онкогенезе подтверждается успешной химиотерапией ингибитором этого рецептора (Гливек) (Никулин М.П., Стилиди И.С., 2007; van Oosterom A., et al., 2001). Гистогенез GIST связывают с предшественниками клеток Кахала (Sircar K., et al., 1999; Miettinen M., et al., 2005).

GIST составляют большинство стромальных опухолей ЖКТ и 1-3% от числа всех его первичных новообразований. Заболеваемость GIST равна 10-20 случаям на 1 млн. населения в год. Доля злокачественных GIST составляет 20-50%, а 5-летняя выживаемость больных — около 70-80% (до внедрения в клиническую практику препарата Гливек была менее 50%) (Никулин М.П., Стилиди И.С., 2007; Joensuu H., Kindblom L., 2004). Многие GIST остаются нераспознанными при жизни в связи с длительным бессимптомным течением заболевания. Нередко они диагностируются в ходе лечения других заболеваний, а на аутопсиях их обнаруживают с частотой 2 случая на 1000 вскрытий (Никулин М.П., Стилиди И.С., 2007; Miettinen M., et al., 2002, 2005).

Определенные противоречия результатов исследования клинико-морфологических особенностей GIST делают актуальным ретроспективное изучение архивного материала различных лечебных учреждений разных стран. 40-70% GIST развиваются в желудке, 20-40% в тонкой кишке, 5-15% в толстой кишке и 2-5% в пищеводе. Описаны единичные случаи GIST аппендикса, сальника, брыжейки кишки, желчного и мочевого пузырей, поджелудочной и предстательной желез, забрюшинного пространства (Hamilton S., Aaltonen L., 2000; Lasota J., et al., 2000; Weiss S., Goldblum J., 2001; Reith J., et al., 2000; Miettinen M., et al., 2005).

CD 117 (C-kit, KIT) — основной иммуногистохимический маркер GIST, но при дифференциальной диагностике важно учитывать, что его также экспрессируют меланомы, сосудистые и некоторые другие опухоли (Анурова О.А. и соавт., 2006; Miettinen M, et al., 2005). 60-70% GIST экспрессируют антиген CD34 — рецептор кроветворных стволовых клеток и эндотелиоцитов; гладкомышечный актин обнаруживают, в среднем, в 30-40% GIST, виментин — в 80-100%, десмин — в 1-5%, белок S-100 и нейронспецифическую энолазу — в 1-5% (Анурова О.А. и соавт., 2006; Казанцева И.А., 2007; Hamilton S., Aaltonen L., 2000; Miettinen M., et al, 2005).

Остается нерешенной проблема диагностики степени злокачественности GIST и определения их прогноза. Согласно Международной онкологической классификации (ICD-O, 2000), различают доброкачественные (8936/0), с неуточненным прогнозом (8936/1) и злокачественные (8936/3) GIST. Злокачественные GIST метастазируют, преимущественно, гематогенно (главным образом, в печень) и имплантационно по брюшине (Анурова О.А. и соавт., 2006; Казанцева И.А., 2007; Hamilton S, Aaltonen L, 2000; Miettinen M, et al, 2005). Существует мнение как о потенциальной злокачественности всех GIST, так и о доброкачественном характере опухолей небольших размеров (до 2 см) и с минимальной митотической активностью. При этом описаны случаи рецидивов и метастазирования GIST любого размера (De Matteo R, et al, 2000; Miettinen M, et al, 2002, 2005). Полагают, что наиболее неблагоприятными прогностическими факторами являются размеры GIST более 5 см и третья степень злокачественности (Grade 3), установленная по системе, предложенной для сарком Федерацией французских национальных онкологических центров (FNCLCC) (Guillou L, et al, 1997), а также высокая клеточность опухоли, выраженный клеточный полиморфизм, инвазия в слизистую оболочку, очаги некроза (Казанцева И.А., 2007; Hamilton S, Aaltonen L, 2000). Другие авторы рекомендуют использовать систему

определения «риска агрессивности» GIST, учитывающую только размеры опухоли и число митозов в 50-и полях зрения при увеличении 400 (Fletcher C, et al, 2002; Miettinen M, et al, 2002, 2005). Однако предложенные критерии определения степени злокачественности и прогноза GIST не позволяют в каждом конкретном случае точно предсказать биологическое поведение опухоли (Miettinen M, et al, 2002, 2005). Признано перспективным изучение экспрессии маркеров пролиферативной активности клеток — PCNA, Ki-67 и их аналогов (Lasota J, et al, 2000; Hasegawa T, et al, 2002; Hamilton S, Aaltonen L, 2000; Miettinen M, et al, 2005), а также белков, связанных с опухолевыми супрессорными генами, в частности, ингибитора циклин-зависимой киназы p27. В единичных исследованиях экспрессии p27 в GIST какой-либо определенной зависимости пока обнаружено не было (Liu X, et al, 2001; Nakamura N, et al, 2005; Fillies T, et al, 2007).

### **Цель исследования**

Изучить клинико-морфологические и иммуногистохимические особенности гастроинтестинальных стромальных опухолей (GIST) с позиции их прогностического значения.

### **Задачи исследования**

1. Изучить клинико-морфологические особенности GIST.
2. Исследовать интенсивность и частоту экспрессии основных иммуногистохимических маркеров GIST (CD 117, CD34, виментина, десмина, гладко-мышечного актина и белка S-100).
3. Провести сравнительный анализ клинико-морфологических и иммунофенотипических особенностей GIST разной степени злокачественности.
4. Изучить экспрессию маркеров пролиферативной активности (Ki-67) и ингибитора циклин-зависимой киназы (p27) в GIST разной степени злокачественности.
5. Обосновать оптимальный алгоритм морфологической диагностики и определения прогноза GIST.

### **Научная новизна**

Проведен сравнительный анализ клинико-морфологических и иммуногистохимических особенностей GIST желудка и кишки с инвазивным ростом и/или метастазами и без них. Обосновано, что GIST следует расценивать как потенциально злокачественные опухоли. Макроскопическими относительно неблагоприятными прогностическими признаками являются: размеры опухоли 5 см и

более, изъязвление слизистой оболочки, очаги некроза и смешанный (эндо- и экзоорганный) тип роста, а гистологическими — инвазия опухоли в слизистую оболочку и клеточный полиморфизм. Использование системы FNCLCC при градации GIST по степени злокачественности неэффективно; более целесообразно применение системы расчета «риска агрессивности».

Впервые проведено сравнительное исследование экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы (p27) и маркера пролиферативной активности Ki-67 в GIST с инвазивным ростом и/или метастазами и без них, а также в опухолях разной степени «риска агрессивности». Обнаружено, что экспрессия p27 не коррелирует со степенью злокачественности GIST и не может использоваться как прогностический маркер. Однако она статистически достоверно повышена в GIST с клеточным полиморфизмом и прямо коррелирует с уровнем экспрессии CD 117. Экспрессия Ki-67 достоверно повышается с ростом «риска агрессивности» GIST и может быть использована как маркер степени злокачественности и неблагоприятного прогноза GIST.

#### **Практическая значимость**

На основе сравнительного анализа основных клинико-морфологических и иммуногистохимических особенностей GIST желудка и кишки с инвазивным ростом и/или метастазами и без них, выявлены и обоснованы косвенные макроскопические, гистологические и иммуногистохимические неблагоприятные прогностические признаки.

Доказано, что использование системы FNCLCC при градации GIST по степени злокачественности неэффективно; более целесообразно применение системы расчета «риска агрессивности». Экспрессия p27 не коррелирует со степенью злокачественности GIST и не может использоваться как прогностический маркер. Экспрессия Ki-67 достоверно повышается с ростом «риска агрессивности» GIST и может быть использована как маркер степени злокачественности и неблагоприятного прогноза GIST.

Обоснован алгоритм морфологической (гистологической и иммуногистохимической) диагностики и определения прогноза GIST.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. GIST следует расценивать как потенциально злокачественные опухоли. Макроскопическими относительно неблагоприятными прогностическими признаками являются: размеры опухоли 5 см и более, изъязвление слизистой оболочки, очаги некроза и

смешанный (эндо- и экзоорганный) тип роста, а гистологическими — инвазия опухоли в слизистую оболочку и клеточный полиморфизм.

2. Использование системы градации по степени злокачественности, предложенной для сарком, при GIST неэффективно; целесообразно применение системы расчета «риска агрессивности». Экспрессия p27 не коррелирует со степенью злокачественности GIST и не может использоваться как прогностический маркер. Экспрессия Ki-67 достоверно повышается с ростом «риска агрессивности» GIST и может быть использована как маркер степени злокачественности и неблагоприятного прогноза GIST.

#### **Внедрение результатов работы в практику**

Результаты исследования внедрены в практическую работу Московского городского центра патологоанатомических исследований при Городской клинической больнице № 33 им. проф. А.А. Остроумова.

Основные положения работы используются в курсе лекций на кафедре патологической анатомии ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет» Росздрава.

#### **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на совместной конференции кафедры патологической анатомии ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет» Росздрава и Московского городского центра патологоанатомических исследований при Городской клинической больнице № 33 им. проф. А.А. Остроумова (04.05.2007 г.) и межлабораторной конференции ГУ НИИ морфологии человека РАМН (15.05.2007 г.).

#### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, из них 3 — в отечественных рецензируемых журналах.

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы исследования», «Результаты собственного исследования», «Обсуждение результатов собственного исследования», заключения, выводов, библиографии. Текст диссертации изложен на 141 странице, иллюстрирован 28-ю рисунками и 25-ю таблицами. Библиография содержит 159 работ, из них 6 — отечественных и 153 — зарубежных авторов.

## Материалы и методы исследования

Из числа всех больных с опухолями ЖКТ, оперированных в Медицинском Центре им. Э. Вольфсона (Холон, Израиль) с 1992 по 2003 гг. были отобраны 36 наблюдений с новообразованиями, которые по гистологическим и иммуноморфологическим критериям Международной гистологической классификацией опухолей ЖКТ (Hamilton S., Aaltonen L., 2000) соответствовали диагнозу GIST. У 26 (72,2%) больных опухоли локализовались в желудке (60% — в его теле и кардии, примерно с равной частотой у мужчин и женщин) и у 10 (27,8%) — в кишечнике. Из них у трех (8,3%) — в двенадцатиперстной, у шести (16,7%) — в тощей и у одного (2,8%) — в прямой кишках (Рис. 1).

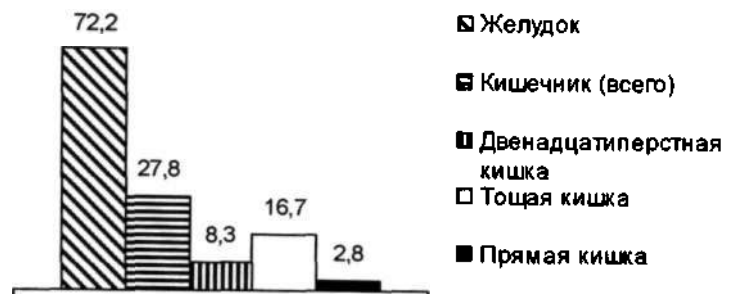


Рис. 1. Локализация GIST (в %) у 36 больных

Возраст больных составил от 23 до 90 лет (в среднем  $68,7 \pm 17,1$  лет). Преобладали женщины (20 наблюдений; 55,6%), их средний возраст был в 1,2 больше, чем у 16 (44,4%) мужчин ( $71,3 \pm 15,3$  против  $59,4 \pm 11,2$  лет) (Рис. 2).

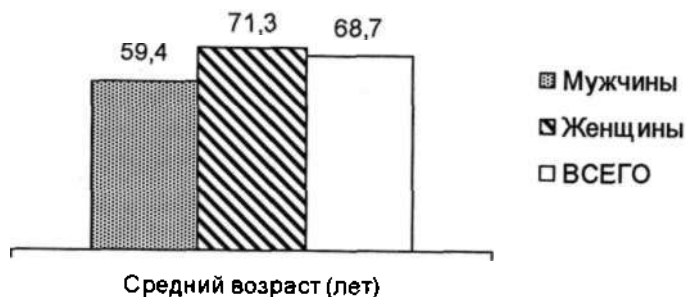


Рис. 2. Средний возраст (лет) 36 больных с GIST желудка и кишечника

По-видимому, из-за небольшого числа наблюдений, это несколько противоречит данным M. Miettinen и соавт. (2005), которые, на основе исследования 1765 случаев GIST желудка, показали, что эти опухоли чаще встречаются у мужчин (55,4%), чем у женщин (44,6%). Однако опухоли желудка действительно в 1,4 раза чаще выявлялись у мужчин, а кишечника, напротив, — в 1,5 раз чаще у женщин (Рис. 3).

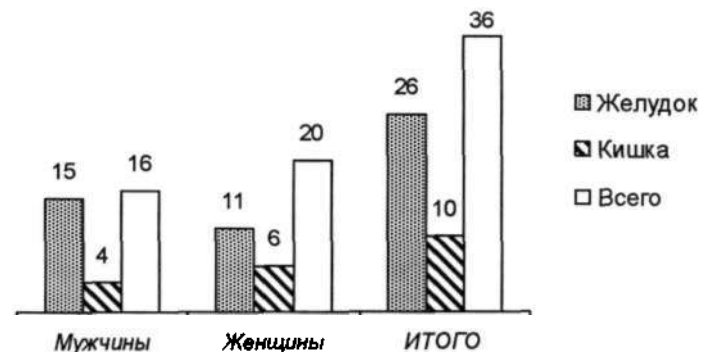


Рис. 3. Частота (абс. цифры) локализации GIST у мужчин и женщин

Длительность наблюдения за больными после оперативных вмешательств составила от 3-х до 14 лет (в среднем — 5,5 лет). Оперативные вмешательства были максимально радикальными во всех 36 наблюдениях (включая 11 случаев с местным инвазивным ростом и метастазами), с последующими курсами химиотерапии, в том числе препаратом Гливек в последнее пятилетие. За весь период наблюдений только один больной умер от причин, связанных с GIST (рецидив опухоли в течение первых 5 лет после операции). Опухоль, удаленная у этого больного, отличалась большими размерами (9 см), относилась к группе высокого риска агрессивности по системе M. Miettinen и соавт. (2005), а экспрессия Ki-67 была одной из самых высоких (16%). Таким образом, 5-летняя выживаемость составила 97,2%. Такие высокие показатели объясняются, по-видимому, прежде всего большим процентом больных с GIST, оперированных до начала инвазии и появления метастазов опухоли (69,4%), и адекватной химиотерапией.

В клинической картине у больных с GIST, независимо от локализации опухоли, преобладали два синдрома — болевой (с диспепсией) и желудочно-кишечного кровотечения (52,8% и 41,7%).

У трех (8,3%) пациентов (все с GIST желудка) наблюдалась выраженная (до 25% от массы тела) потеря веса в течение последнего полугодия (Рис. 4).

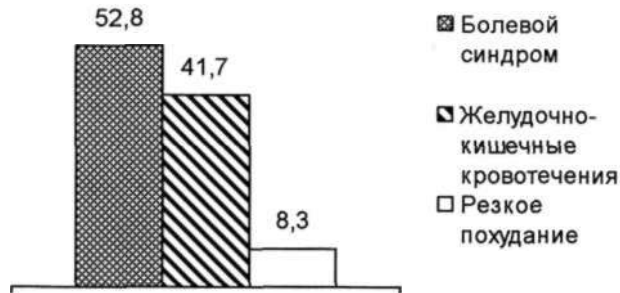


Рис. 4. Частота (в %) основных клинических синдромов

Статистически достоверной зависимости клинической симптоматики от пола и возраста больных, а также от локализации и иных особенностей GIST выявлено не было.

На основании описания *макроскопической характеристики опухоли* по архивным данным в 34 случаях (ретроспективное исследование) и изучения макропрепаратов 2 опухолей (текущее исследование) определяли размеры и другие макроскопические особенности новообразований: наличие изъязвления, псевдокапсулы, тип роста (эндо-, экзоорганный, смешанный), вид на разрезе, подрастание и прорастание в соседние органы и ткани, наличие метастазов и т.д.

Для *гистологического исследования* использовали традиционный метод парафиновой заливки (не менее 8 образцов опухоли в каждом случае, взятых, в том числе на границе с окружающими тканями, а также из краев резекции). Гистологические срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону. Определяли гистологический тип GIST (веретенчатый, эпителиоидно-клеточный или смешанный), наличие инвазии в слизистую оболочку, очагов некроза, клеточного полиморфизма и другие особенности.

В каждой опухоли, для их оценки по системам определения степени злокачественности и риска агрессивности, подсчитывали количество митозов в 10 и 50 полях зрения ( $\times 400$ ).

*Иммунморфологически* изучали интенсивность и частоту экспрессии CD117, CD34, виментина, гладкомышечного актина, десмина, белка S-100, Ki-67 и p27 (Таблица 1).

Таблица 1

МАРКЕРЫ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

МАРКЕР	КЛОН, РАЗВЕДЕНИЕ	ФИРМЫ ПРОИЗВОДИТЕЛИ
CD117 (C-kit),	поликлональные кроличьи, 1:50	Zymed Laboratories Inc., San Francisco, USA
CD34, виментин	моноклональные мышинные, 1:50	Zymed Laboratories Inc., San Francisco, USA
Гладкомышечный актин, десмин	моноклональные мышинные, 1:50	Dako, Denmark
Белок S-100	поликлональные кроличьи, 1:2000	Dako, Denmark
Ki-67	моноклональные мышинные, 1:100	Dako, Denmark
p27	моноклональные мышинные, клон Kip1/p27, 1:500	Transduction Laboratories Lexington K.Y., USA

Для дифференциальной диагностики с другими опухолями ЖКТ исследовали экспрессию цитокератинов (клон MNF-116), CD31, FVIII, HMB45, Melan A и тирозиназы (Zymed Laboratories Inc., San Francisco, USA и Dako, Denmark).

Применяли модифицированную стрептавидиновую технику и хромоген AEC (Ventana, USA). До инкубации срезов с первичными антителами производили их обработку в СВЧ-печи (15 мин) EDTA Buffer pH 8 (Zymed Laboratories inc. San Francisco, USA). При постановке реакции с антителами к CD117 проводили амплификацию (Ventana, USA), к цитокератинам — обработку препаратов протеазой. Докрашивали препараты гематоксилином Майера. Как позитивный контроль использовали гистологические препараты щитовидной железы, меланомы, рака молочной железы, как негативный — препараты, не инкубированные с первичными антителами.

Результаты реакции с антителами к CD117 и p27 определяли в 10 полях зрения ( $\times 400$ , минимум в 1000 клеток препарата): 1) интенсивность окраски клеток опухоли (для p27 — их ядер) в баллах от 0 до 3; 2) процент позитивных клеток. Подсчитывали индексы экспрессии CD117 и p27 путём сложения показателей ин-

тенсивности окраски в баллах, умноженных на процент позитивных клеток и деленных на 100. Для оценки результата реакции с антителами к Ki-67 определяли процентное количество положительно окрашенных ядер (в 10 полях зрения,  $>>400$ ).

Статистическую обработку полученных результатов производили с помощью программы статистического анализа SPSS 9.0 (SPSS Inc., Chicago, IL., USA, 1999). Разницу между показателями принимали за статистически достоверную при  $p < 0,05$  (по t-критерию Стьюдента).

### Результаты исследования и их обсуждение

У 25 (69%) из 36 изученных больных GIST не имели признаков инвазивного роста и/или метастазов. У 11 больных (31%) были выявлены клиничко-морфологические признаки злокачественных GIST: инвазия в окружающие органы и ткани (5 опухолей), метастазы по брюшине (8) и в печень (2). Из них 9 локализовались в желудке (35% от числа его опухолей) и 2 — в кишке (20% от числа опухолей кишки) (Рис. 5).

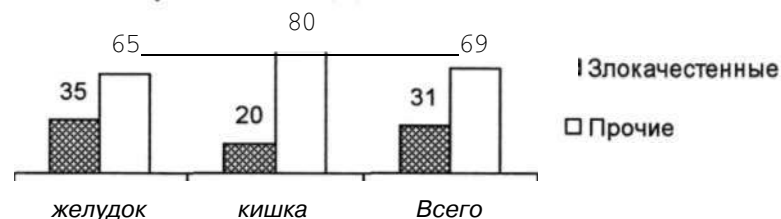


Рис. 5. Частота и локализация (в %) GIST с клиничко-морфологическими признаками злокачественности и опухолей без инвазивного роста и/или метастазов

Диаметр GIST составил от 2 до 24 см, в среднем  $7,7 \pm 4,3$  см. Преобладали (49%) опухоли диаметром менее 5 см (Рис. 6).

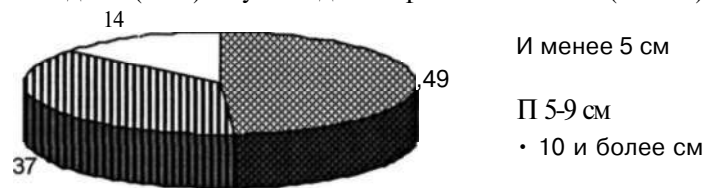
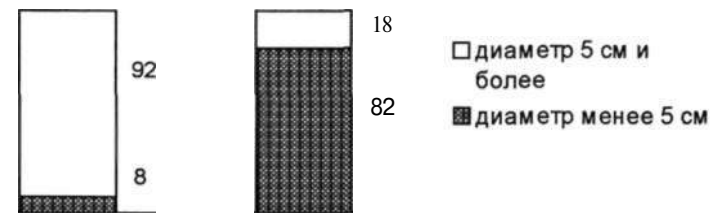


Рис. 6. Частота (в %) GIST разного диаметра

Средний диаметр клиничко-морфологически злокачественных GIST составил  $9,7 \pm 4,8$  (желудок) и 13 см (кишечник) против

$3,9 \pm 1,9$  и  $6,3 \pm 3,7$  см для опухолей без инвазии и/или метастазов ( $p < 0,05$ , пороговое значение — 5 см) (Рис. 7).



Клинически злокачественные Прочие

Рис. 7. Частота (в %) клиничко-морфологически злокачественных и прочих GIST диаметром менее 5 см и 5 см и более

Макроскопически изъязвление слизистой оболочки в 3 раза, очаги некроза — в 1,9 раз и смешанный (эндо-экзоорганный) тип роста — в 2 раза чаще были диагностированы в наблюдениях клиничко-морфологически злокачественных GIST (Рис. 8).

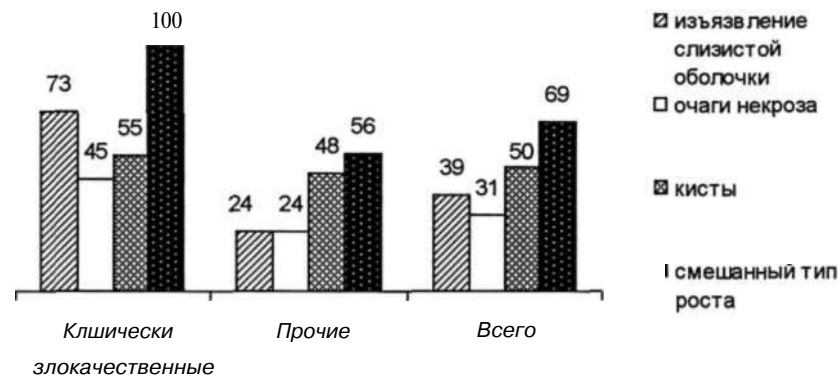


Рис. 8. Частота (в %) макроскопических особенностей клиничко-морфологически злокачественных и прочих GIST

Гистологически веретенноклеточный тип GIST был диагностирован в 22 наблюдениях (61%), эпителиоидно-клеточный — в 5 (14%), и смешанный — в 9 (25%) (рис. 21). Это соответствует данным других исследований, согласно которым большинство GIST отличаются мономорфным строением и соответствуют веретенноклеточному типу. Инвазия в слизистую оболочку в 3,8 раза, очаги

некроза — в 3,1 раза, выраженный клеточный полиморфизм — в 1,9 раз чаще были выявлены в клинко-морфологически злокачественных GIST (рис. 9).

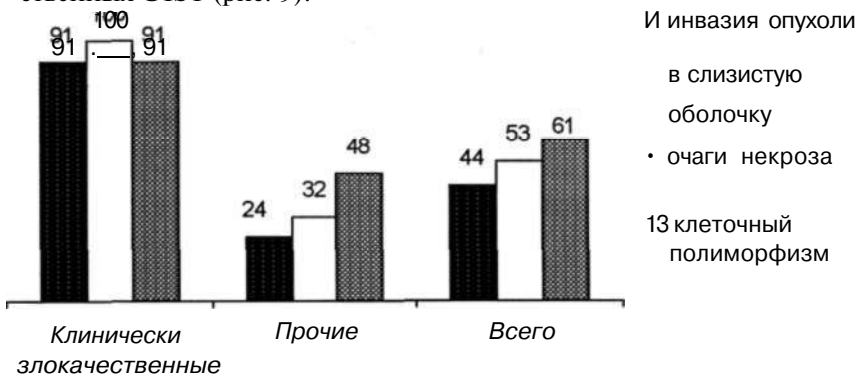


Рис. 9. Частота (в %) гистологических особенностей клинко-морфологически злокачественных и прочих GIST

Распределение 11-и клинко-морфологически злокачественных GIST и 25-и опухолей без инвазии и метастазов по степени злокачественности (Grade) с использованием системы, предложенной для сарком Федерацией французских национальных онкологических центров — FNCLCC (Guillou L., et al., 1997) не выявило каких-либо закономерностей. 7 из 11 (64%) злокачественных GIST оказались в группе Grade 1, 4 (36%) — в Grade 2 и ни одной — в Grade 3. При этом 6 из 19 (24%) GIST без инвазивного роста и/или метастазов, некоторые менее 5 см диаметром, без инвазии в слизистую оболочку, были отнесены к группе Grade 2 (рис.10).

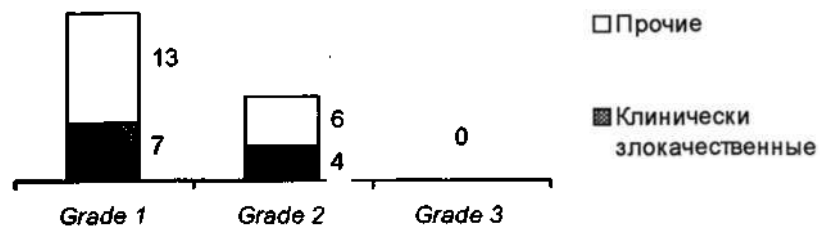


Рис. 10. Распределение (абс. цифры) клинко-морфологически злокачественных GIST и опухолей без инвазии и/или метастазов по системе FNCLCC (1997)

Таким образом, видно, что применение системы FNCLCC при градации GIST по степени злокачественности приводит к большому разбросу результатов, не соответствует, часто, биологическим особенностям роста опухоли и, поэтому, не может быть признано целесообразным для диагностики их прогноза.

GIST также были разделены по системе критериев «риска агрессивности», рекомендованной С. Fletcher и соавт. (2002) и М. Miettinen и соавт. (2002, 2005) для определения их прогноза, на опухоли очень низкого (1 опухоль; 4%) низкого (5 опухолей; 20%), среднего (14 опухолей; 52%) и высокого (16 опухолей; 24%) риска. Критерии диагностики степени риска агрессивности GIST указаны в таблице 2.

Таблица 2

КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ КАТЕГОРИЙ «РИСКА АГРЕССИВНОСТИ» (С. FLETCHER И СОАВТ., 2002; М. MIETTINEN И СОАВТ., 2002, 2005)

СТЕПЕНЬ РИСКА АГРЕССИВНОСТИ (ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ)	РАЗМЕРЫ ОПУХОЛИ	МИТОТИЧЕСКИЙ ИНДЕКС (число митозов в 50 полях зрения при увеличении 400)
Очень низкий риск	< 2 см	< 5
Низкий риск	2-5 см	< 5
Средний риск	< 5	6-10
	5-10 см	< 5
Высокий риск	> 5 см	> 5
	> 10 см	любой
	любой	> 10

Все 11 GIST с инвазивным ростом и/или метастазами оказались в группе высокого риска (Рис. 11), что указывает на перспективность применения этой системы прогнозирования.

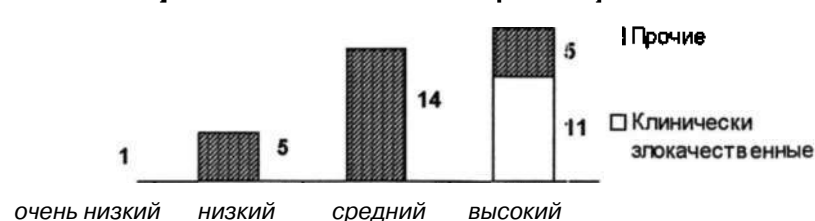


Рис. 11. Распределение (в абс. цифрах) клинко-морфологически злокачественных GIST и прочих (без инвазии и/или метастазов) по степени риска агрессивности

Таким образом, результаты проведенного исследования согласуются с мнением тех авторов, которые не рекомендуют применение системы FNCLCC для GIST (Fletcher C et al., 2002; Miettinen M. et al., 2005). Из имеющихся систем определения степени злокачественности и прогноза GIST, вычисление «риска агрессивности» по С. Fletcher и соавт. (2002) и М. Miettinen и соавт. (2002, 2005), представляет собой в настоящее время наиболее точный метод. В свою очередь это подтверждает целесообразность отношения к GIST как к потенциально злокачественным опухолям.

К сожалению, даже наиболее удачная система оценки «риска агрессивности» в ряде случаев не позволяет предсказать биологическое поведение GIST и до настоящего времени не подкреплена долгосрочными наблюдениями за репрезентативными группами больных (Hamilton S., Aaltonen L., 2000; Fletcher C, et al., 2002; Miettinen M., et al., 2005). Хотя феномен агрессивного поведения гистологически «доброкачественных» GIST относительно редок, но он для них характерен, и поэтому был введен термин опухоли «неясного злокачественного потенциала» («uncertain malignant potential») (Hamilton S., Aaltonen L., 2000; Fletcher C, et al., 2002; Miettinen M., et al., 2005).

На этом основании многие исследователи полагают, что для определения степени злокачественности GIST важно разрабатывать методы иммуногистохимического и молекулярно-генетического исследований (Emory T., et al., 1999; Hamilton S., Aaltonen L., 2000; Miettinen M., et al., 2005).

Экспрессия CD34 отмечалась в 32 GIST (88,9%), виментина — в 33 (91,7%), гладкомышечного актина — в 5 (13,9%), десмина — в 3 (8,3%), белка S-100 — в 2 (5,6%). Так как белок S-100 выявлялся одновременно с гладкомышечным актином, то 86% GIST следует отнести к так называемому «нулевому» фенотипу. 8% опухолей были с гладкомышечной, а 6% — со смешанной, гладкомышечной и нейрогенной дифференцировкой (Рис. 12. 13).

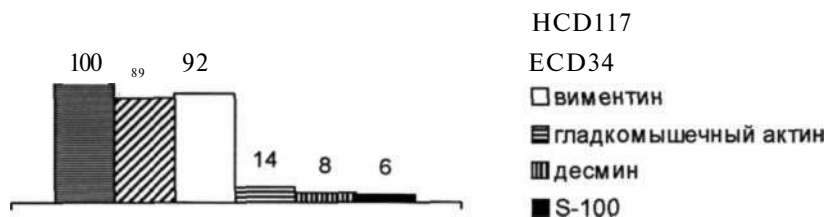


Рис. 12. Частота (в %) экспрессии изученных иммуногистохимических маркеров в 36 исследованных GIST

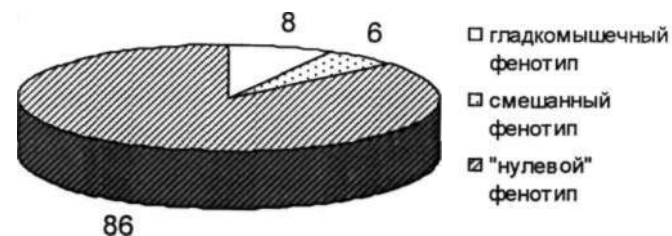


Рис. 13. Частота (в %) GIST с разным фенотипом (гладкомышечным, смешанным и «нулевым»)

Проведенное исследование не выявило статистически достоверной зависимости между особенностями экспрессии CD 117, CD34, виментина, гладкомышечного актина, десмина, белка S-100 и гистологическим типом GIST, а также другими макроскопическими и гистологическими особенностями и биологическим поведением опухолей.

Для различных опухолей продемонстрирована достоверная корреляция между экспрессией p27 и степенью их дифференцировки, стадией заболевания и прогнозом больных, что рекомендовано использовать в диагностических целях и при химиотерапии (Lloyd R. et al., 1999; Fillies T. et al., 2007; Karlidag T. et al., 2007). Т. Gelen и соавт. (2003) поддерживают мнение о роли экспрессии p27, как надежного прогностического маркера в определении риска рецидива GIST. Однако N. Nakatuga и соавт. (2005) и некоторые другие авторы показали отсутствие корреляции между экспрессией p27 и прогнозом GIST.

Проведенное исследование экспрессии p27 показало, что она не коррелирует со степенью злокачественности GIST, подтвержденной наличием инвазивного роста и/или метастазов, а также с рассчитанной по системе оценки риска агрессивности (Рис. 14).

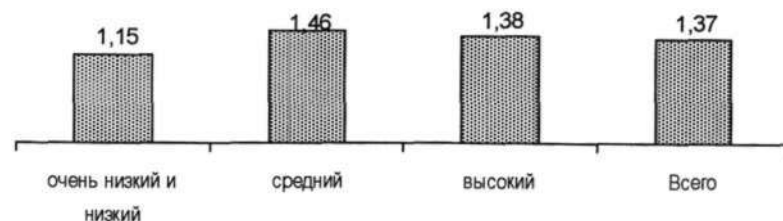


Рис. 14. Экспрессия p27 в GIST разной степени риска агрессивности

Однако полученные данные о статистически достоверно повышенной экспрессии p27 в GIST с выраженным клеточным полиморфизмом и прямая корреляция экспрессии p27 и CD 117 ( $r=0,37$ ,  $p=0,03$ ) представляют определенный интерес.

Таким образом, результаты исследования экспрессии p27 демонстрируют, что p27 не может использоваться как маркер при диагностике степени злокачественности GIST и определения прогноза опухоли, и, следовательно, необходим поиск других маркеров.

Ряд исследований показал, что маркеры пролиферативной активности — Ki-67 и его аналоги (MIB-1 и Ki-S5) достоверно коррелируют с клиническим курсом и прогнозом GIST. Так, предложено расценивать как опухоли с высоким риском злокачественности новообразования с пролиферативным индексом более 10%, определяемым с помощью маркеров пролиферации PCNA или Ki-67 (и его аналогов MIB-1 и Ki-S5) (Hamilton S., Aaltonen L., 2000; Nasegawa T., et al., 2002; Toquet C., et al., 2002).

Результаты проведенного исследования показали, что экспрессия Ki-67 прямо связана со степенью дифференцировки опухоли, а именно, риском ее «агрессивности», и этот маркер может быть рекомендован для уточнения степени злокачественности GIST и определения прогноза заболевания.

Выявлена статистически достоверная разница пролиферативной активности (процента экспрессии Ki-67 ядрами опухолевых клеток) между группами опухолей с низким и высоким «риском агрессивности» и тенденция к такой разнице между группами со средним и высоким риском. Показатель экспрессии Ki-67 клетками GIST высокой степени риска равен или превышает 10% при подсчете клеток в 10 полях зрения,  $\times 400$  (Рис. 15).

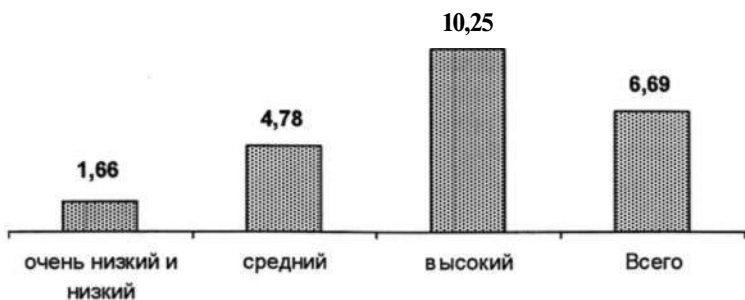
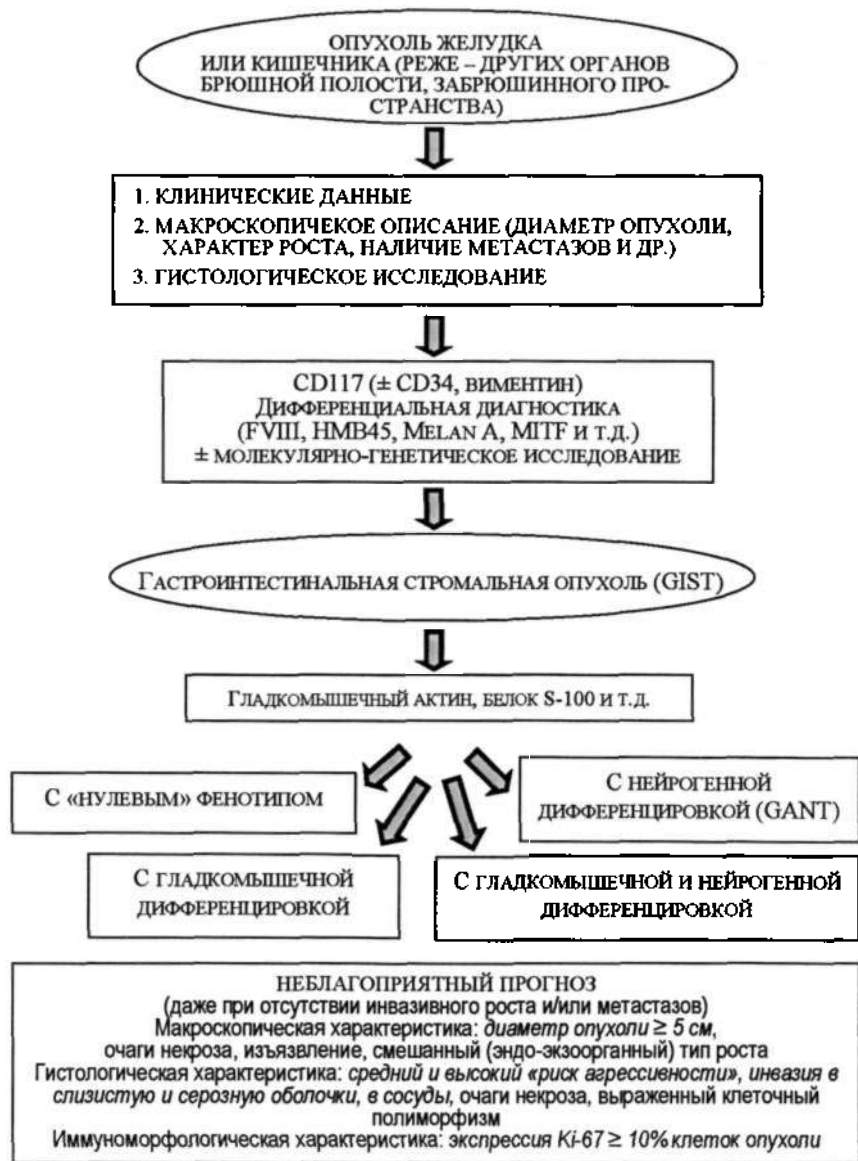


Рис. 15. Процент ядер клеток GIST, экспрессирующих Ki-67 в опухолях разной степени риска агрессивности. Различия статистически достоверны ( $p=0,02$ ) между 1-й и 3-й группами.

Следовательно, иммуногистохимическое исследование подтвердило целесообразность практического применения системы определения групп «риска агрессивности», предложенной С. Fletcher и соавт. (2002) и М. Miettinen и соавт. (2002, 2005), и продемонстрировало, что показатель экспрессии Ki-67 свыше 10% может быть одним из маркеров степени злокачественности и неблагоприятного прогноза GIST.

Результаты проведенного комплексного клиничко-морфологического исследования позволяют сделать заключение о том, что неблагоприятный прогноз (даже при отсутствии инвазивного роста и/или метастазов GIST) может быть основан на следующих критериях: *макроскопические*: диаметр опухоли > 5 см, очаги некроза, изъязвление, смешанный (эндо-экзоорганный) тип роста; *гистологические*: средний и высокий «риск агрессивности», инвазия в слизистую и серозную оболочку, в сосуды, очаги некроза, выраженный клеточный полиморфизм; *иммуноморфологический*: экспрессия Ki-67 > 10% клеток опухоли. Рекомендуемый алгоритм морфологической диагностики и определения прогноза GIST представлен на схеме.

## Алгоритм морфологической диагностики и определения прогноза GIST



## Выводы

1. На материале 36 наблюдений GIST были диагностированы у больных в возрасте от 23 до 90 лет (в среднем —  $68,7 \pm 17,1$  лет). Опухоли желудка в 1,4 раза чаще встретились у мужчин, а кишечника — в 1,5 раз чаще у женщин. В клинической картине GIST преобладали болевой синдром (52,8% пациентов) и желудочно-кишечные кровотечения (41,7%). Клинические симптомы не зависели от пола и возраста больных, локализации и других особенностей GIST.

2. GIST следует расценивать как потенциально злокачественные опухоли. Макроскопическими относительными прогностическими признаками злокачественности GIST являются: размеры опухоли 5 см и более; изъязвление слизистой оболочки; очаги некроза и смешанный (эндо- и экзоорганный) тип роста.

3. Гистологическими относительными прогностическими признаками злокачественности GIST являются: опухолевая инфильтрация слизистой оболочки (ее следует рассматривать как проявление инвазивного роста опухоли); очаги некроза и выраженный клеточный полиморфизм.

4. Зависимость между особенностями экспрессии CD 117, CD34, виментина, гладкомышечного актина, десмина, белка S-100 и гистологическим типом GIST, а также другими макроскопическими и гистологическими особенностями опухолей отсутствует.

5. Использование системы, предложенной Федерацией французских национальных онкологических центров для градации GIST по степени злокачественности, неэффективно. Применение системы расчета «риска агрессивности» GIST, основанной на размерах опухоли и числе митозов в 50 полях зрения при увеличении 400, является более целесообразным.

6. Экспрессия p27 не коррелирует со степенью злокачественности GIST и не может использоваться как прогностический маркер. Однако она прямо связана с уровнем экспрессии CD 117, а также повышена в GIST с выраженным клеточным полиморфизмом.

7. Экспрессия Ki-67 достоверно возрастает с повышением «риска агрессивности» GIST. Индекс экспрессии Ki-67 в опухолях высокого риска равен или превышает 10% (при подсчете клеток в 10 полях зрения при увеличении 400) и может быть рекомендован в качестве иммуногистохимического маркера степени злокачественности и неблагоприятного прогноза GIST.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Shirin H., Kravtsov V., Shahmurov M., Petchenko P., Boaz M., Moss S., Avni Y., Avinoach I. p27kipl expression is inversely related to the grade of gastric MALT lymphoma. // Int. J. Gastrointest. Cancer. - 2005. - V.35. - 1. P.25-32.
2. Menczer J., Kravtsov V., Levy T., Berger E., Glezerman M., Avinoach I. Expression of c-kit in uterine carcinosarcoma. // Gynecol. Oncol. - 2005. - V.96.-1.-P.210-215.
3. Кравцов ВТ, Шахмуров М.Г., Сукманов О.В., Зайратьянц О.В., Ширин Х.И. Экспрессия p27 в аденокарциноме желудка. // Труды II Съезда Российского общества патологоанатомов. - Москва, 2006. - Том 2, - С. 326-327
4. Кравцов ВТ, Шахмуров М.Г., Сукманов О.В., Зайратьянц О.В., Ширин Х.И. Экспрессия циклин-зависимой киназы p27 в низкодифференцированной аденокарциноме желудка. // Архив патологии. - 2006. - Вып. 5. - С. 14-16.
5. Shirin H., Kravtsov V., Shahmurov M., Sehayek Shabat V., Krinshpon I., Alin A., Avinoach I., Avni Y. The Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor, p27, Has No Correlation with the Malignant Potential of GIST. // Digestion. - 2007. - V.75. - 1. - P.4-9.
6. Кравцов ВТ, Зайратьянц О.В., Ширин Х., Шахмуров М., Шабат В., Кришпон И., Алин А., Авиноач И., Авни И. Иммуноморфологическая характеристика и критерии прогноза гастроинтестинальных стромальных опухолей (GIST). // Архив патологии. - 2007. - Вып. 5. - С. 25-28.
7. Кравцов ВТ, Зайратьянц О.В. Клинико-морфологическая характеристика гастроинтестинальных стромальных опухолей (GIST). // Архив патологии. - 2007. - Вып. 5. - С. 54-61.

Владимир Григорьевич Кравцов

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ, ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И  
КРИТЕРИИ ПРОГНОЗА ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 15.09.2007

Формат 90x60 Vi<sub>6</sub>. Гарнитура «Тайме». Объем 1 усл. печ. лист.  
Тираж 100 экз. Бумага офсетная №1. Печать трафаретная  
Отпечатано в РМАПО, Москва, Баррикадная ул, 2/1.