

сти к антибиотикам, а также большой спектр исследований, связанных с разработкой новых схем лечения хеликобактериоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. // *Диагн. и леч.* – 1996. – т. II, №12. – С.3-10.
2. Kuipers E.J., Thijs J.C., Festen H.P.M. // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 1995. – V.9. – Suppl.2. – P.59-69.
3. Penston J.G. // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 1996. – V.10. – P.469-486.
4. Sobhani I., Chastang C., De Korwin J. et al. // *Gastroenterol. Clin. Biol.* – 1995. – V.19. – P.252-258.
5. Van der Hulst R.W.M., Keller J.J., Rauws E.A.J., Tytgat G.N.J. // *Helicobacter.* – 1996. – V.1. – P.6-19.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЕЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*И.А.Казанцева, Л.Е.Гуревич, Г.А.Полякова, А.П.Калинин,
Н.Н.Квитко, Е.Н.Бородатая, А.В.Егоров
МОНИКИ*

До 70-х годов нашего столетия эндокринные опухоли считались редкими и составляли не более 1% всех опухолей. В последние десятилетия благодаря внедрению в морфологию современных методов и улучшению качества диагностики, число выявляемых эндокринных новообразований пищеварительного тракта неуклонно растет. На основании результатов, полученных с использованием широкого спектра маркеров – моноклональных антител (МКАТ) к тканевым и клеточным детерминантам, – все более широкое распространение получает термин “нейроэндокринные опухоли” (НЭО), который базируется на структурном и функциональном подобии клеток нервной и эндокринной систем [7, 10] и постепенно вытесняет термины “карциноиды”, “апудомы”, “островково-клеточные опухоли”, употреблявшиеся ранее для обозначения новообразований, в том числе и поджелудочной железы, с нейроэндокринной дифференцировкой.

Тем не менее, НЭО поджелудочной железы остаются недостаточно изученными новообразованиями с неопределенным прогнозом, так как для определения степени их злокачественности обычно применяемые в онкоморфологии критерии непригодны [1-5]. Долгое время большинство НЭО поджелудочной железы, в первую очередь инсулиномы, считались доброкачественными, к злокачественным относили не более 5% инсулином [6, 11]. В настоящее время эти цифры значительно возросли и составляют, по разным данным, от 15 до 50% и выше. Сейчас не вызывает сомнения, что НЭО поджелудочной железы – это медленно растущие, потенциально злокачественные новообразования, что, как правило, недооценивается. Одной из самых сложных является проблема своевременной диагностики нефункционирующих (“немых”) НЭО, которые имеют слабовыраженные или неспецифические клинические симптомы. Количество таких новообразований, по материалам специальной скрининговой программы, составляет более 40% всех выявляемых НЭО поджелудочной железы

[8, 12]. Именно среди "немых" опухолей наиболее высок процент злокачественных (40-92%), так как они долгое время растут бессимптомно, достигая "критических" размеров (3 и более см).

Известно, что в пределах каждого из гистологических типов опухолей, верифицированных на основе общепринятых диагностических критериев, имеются различные варианты. Так, иммуноморфологическими методами в желудочно-кишечном тракте выявляется все больше комбинированных, т.е. двух- и даже трехкомпонентных опухолей, которые часто отличаются злокачественным течением. Такие новообразования, в том числе развивающиеся из амфикринных клеток или "клеток-химер", описаны и в поджелудочной железе, но такие сообщения пока немногочисленны.

Работа выполнена на биопсийном и операционном материале 69 больных, оперированных и обследованных по поводу синдрома стойкой гипогликемии (59 больных – в отделении хирургической эндокринологии МОНИКИ, 10 – в клинике факультетской хирургии ММА). Интраоперационно опухоль была выявлена у 57 из 69 больных. В каждом случае предварительный диагноз основывался на клинико-anamnestических данных, исследовании гормонов в периферической крови и результатах патоморфологического исследования. Уточненный диагноз устанавливали после иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования.

Для ретроспективного исследования использовали архив гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином. Исследовали всю удаленную опухоль, по возможности с участками прилежащей паренхимы поджелудочной железы. Серийные срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Гримелиусу, на амилоид по Пухтлеру и комбинированной окраской по Лизону (ШИК-реакция и альциановый синий).

Определение функциональной активности НЭО поджелудочной железы производилось с помощью моноклональных антител (МКАТ) к гормонам и к хромагнину А. Электронно-микроскопически исследованы биоптаты 8 опухолей, полученные во время операции.

Проведено патоморфологическое исследование 59 опухолей от 57 больных. 53 опухоли были солитарными, у одного больного выявлены 3 опухоли, у 3 больных произведены диагностические биопсии метастазов злокачественной инсулиномы в печень. У 58 пациентов клинически определялся гипогликемический синдром различной тяжести (уровень глюкозы в крови от 0,7 до 4,6 ммоль/л). Средний возраст больных составил 47,3 года (от 16 до 73 лет). В 34% опухоли локализовались в головке, в 30% – в хвосте, в 18% – в теле и в 18% – на границе тело-хвост. Опухоли, имевшие размеры до 2 см в диаметре, составили 50% наблюдений, размеры 2,1-3,0 см – 39%, а более 3 см – 11%.

При патогистологическом исследовании НЭО поджелудочной железы, в том числе инсулиномы, обычно делят на доброкачественные и злокачественные. Однако ряд исследователей полагают, что из группы гистологически доброкачественных опухолей целесообразно выделить промежуточную группу, или "группу риска", с учетом инди-

видуальных гистологических и цитологических особенностей опухолей [6,8].

Все НЭО поджелудочной железы были разделены нами на три группы: доброкачественные (24 больных), пограничные (23) и злокачественные (7 первичных и 3 метастатических). Критериями для отнесения опухоли к "пограничной группе" были следующие: размеры 3 см и более, ядерный полиморфизм, инфильтрирующий и местнодеструктурирующий рост, инвазия мелких сосудов в опухоли или в капсуле. В отдельную группу выделены опухоли поджелудочной железы, ассоциированные с синдромом множественной эндокринной неоплазии (МЭН-1) – 8 опухолей от 6 больных.

В данном исследовании мы выделяли 5 типов гистологического строения НЭО поджелудочной железы: солидный, альвеолярный, трабекулярный, аденомоподобный (по преобладанию в опухоли этих гистологических структур) и смешанный. Эти типы строения в различной комбинации выделяются большинством исследователей.

Обычно между типом гистологического строения и злокачественностью НЭО связи не обнаруживают. В то же время выделение промежуточной группы позволяет выявить некоторые тенденции. Так, в группе доброкачественных опухолей (I) преобладали солидный и аденомоподобный типы строения (по 25%), в группе промежуточных опухолей (II) – солидный (30%) и альвеолярный (22%), в группе злокачественных опухолей (III) – альвеолярный и трабекулярный (по 43%), в группе МЭН-1-ассоциированных (IV) – трабекулярный (44%). При этом большинство опухолей аденомоподобного строения (25%) были отнесены к доброкачественным, лишь единичные – к промежуточной группе (4%) и совсем не было их среди злокачественных.

Противоположная тенденция отмечена для опухолей с трабекулярным и альвеолярным типами строения.

Исследование цитологических особенностей опухолей показало, что очаговый ядерный полиморфизм встречается в целом в 23% случаев, но умеренный и выраженный – только во II и III группах (в 18 и 83% соответственно). Единичные митозы встречаются в 19% случаев, а более 5 митозов – в 10 репрезентативных полях зрения только в группе злокачественных опухолей – в 33%. Инвазию сосудов клетками опухоли наблюдали только во II и III группах (9% и 50% соответственно). В МЭН-1-ассоциированных опухолях поджелудочной железы все эти показатели имели промежуточные значения между соответствующими показателями I и II групп.

Протоковые структуры встречались в 57% НЭО поджелудочной железы, однако в злокачественных опухолях и опухолях промежуточной группы они встречались в 3 и в 2 раза чаще, чем в доброкачественных. Отложения амилоида и кальцификаты несколько реже встречались в доброкачественных опухолях. В МЭН-1-ассоциированных опухолях чаще преобладала строма.

Эозинофильная и, особенно, лимфоидная инфильтрация стромы и паренхимы опухоли, формирование лимфоидных фолликулов в зоне роста опухоли характерны, в первую очередь, для злокачественных опухолей. Так, эозинофильная инфильтрация в I и III группах была отмечена соответственно в 27 и 43% опухолей, лимфоидная – в 18

и 57%. Лимфоидные фолликулы встречались только во II-III группах – 4 и 14%, соответственно. Для доброкачественных опухолей более характерен продуктивный склероз с формированием широкой псевдокапсулы.

На основании гистологического исследования препаратов, окрашенных рутинными методами, верифицировать НЭО поджелудочной железы невозможно, и диагноз базируется на клиническом синдроме и данных биохимического анализа уровня гормонов крови. В то же время клинические симптомы очень изменчивы и далеко не всегда коррелируют с функциональной активностью таких опухолей, в части случаев они неспецифичны или вообще отсутствуют. Определение гормонов в плазме в большинстве случаев ограничивается инсулином и С-пептидом. Особенно трудно, а иногда и невозможно, без применения специальных методов установить диагноз нефункционирующих (“немых”), а также низкодифференцированных НЭО поджелудочной железы.

К тому же на основании иммуногистохимических исследований последних лет спектр опухолей с нейроэндокринной дифференцировкой значительно расширился. Ниже представлен перечень опухолей с нейроэндокринной дифференцировкой.

Феохромоцитома

Медуллярная карцинома щитовидной железы

Новообразования паращитовидной железы:

- аденома
- гиперплазия
- карцинома

Опухоли передней доли гипофиза

Панкреатодуоденальные опухоли:

- островково-клеточная карцинома
- инсулинома
- гастринома
- глюкагонома
- соматостатинома
- вилома

Невральные опухоли:

- нейробластома
- параганглиома
- ганглионейробластома
- ганглионейрома
- медуллобластома

Гормоннеактивные опухоли:

- аденома гипофиза
- островково-клеточные карциномы
- медуллярные карциномы щитовидной железы

Рак легкого:

- мелкоклеточный
- немелкоклеточный

Мелкоклеточные опухоли различных органов:

- легких

- простаты
- уретры
- мочевого пузыря

Карциноидные опухоли:

- желудка
- тонкого и толстого кишечника
- легких
- среднего уха
- яичников
- простаты
- тимуса
- печени

Опухоли каротидного тела

Опухоли кожи из клеток Меркеля.

В связи с этим, окончательная верификация опухолей проводилась на основе результатов иммуногистохимических и электронно-микроскопических исследований.

Иммуногистохимическое исследование проведено на материале 22 НЭО поджелудочной железы от 20 больных. Трем пациентам, в том числе с множественными опухолями, был поставлен диагноз МЭН-1. У этих больных новообразования поджелудочной железы сочетались с гиперплазией паращитовидных желез (2 наблюдения) и узловой гиперплазией надпочечников (одно).

20 опухолей были функционирующими и клинически проявлялись гипогликемическим синдромом. Обе нефункционирующие НЭО были обнаружены у больных с МЭН-1. Именно при синдроме МЭН-1 особенно часто встречаются “немые” НЭО поджелудочной железы. В трех случаях гистологически был установлен диагноз «злокачественная инсулинома»: одна опухоль прорастала в селезеночную вену, другая отличалась выраженным ядерным и клеточным полиморфизмом и инфильтрировала окружающие ткани, третья – с множественными метастазами в печень.

Нейроэндокринная дифференцировка опухолей подтверждалась с помощью моноклональных антител (МКАТ) к маркеру нейроэндокринных гранул – хромогранину А. Иммунореактивными к хромогранину А оказались все опухоли, а 59% опухолей состояли из равномерно распределенных нейроэндокринных клеток. Реакция с хромогранинном А варьировала по интенсивности: в 55% случаев была сильной, а в 36% – слабой. Окрашивание цитоплазмы было диффузным или полярным (вблизи мембраны). На ультраструктурном уровне диффузное окрашивание цитоплазмы с помощью реакции с МКАТ и хромогранину А на ультраструктурном уровне обычно коррелировало с равномерным распределением в ней большого числа нейроэндокринных гранул, а полярное – с небольшим количеством гранул, расположенных вблизи мембраны. Полученные результаты свидетельствуют о гетерогенности НЭО поджелудочной железы с синдромом гиперинсулинизма как по иммунореактивности к хромогранину А, так и по числу и локализации гранул в цитоплазме клеток, что не противоречит данным литературы.

Для определения функциональной активности опухолей были использованы 9 МКАТ к гормонам: инсулину, проинсулину, глюкагону, соматостатину, панкреатическому полипептиду, вазоактивному интестинальному пептиду (ВИП), гастрину, серотонину, кальцитонину.

Из 22 опухолей клетки трех (13,6%) не проявляли реактивности ни к инсулину, ни к проинсулину, из них 2 нефункционирующие ("немые") и одна злокачественная. Из 19 инсулинпродуцирующих опухолей 12 (63,1%) имели в своем составе более половины инсулинреактивных клеток, но только в 5 (26%) они составляли подавляющее число клеток опухоли. Проинсулин выявлялся в 71% случаев, но число клеток, позитивных к нему, колебалось в разных опухолях в очень широких пределах – от 5 до 100%. В трех случаях, когда опухоли состояли из большого числа проинсулинреактивных клеток, на ультраструктурном уровне определялась большая пропорция клеток с незрелыми (без кристаллоидного ядра) или атипичными β -гранулами. В одном случае, наряду с клетками, содержащими зрелые и незрелые β -гранулы, были также обнаружены амфикринные клетки, или "клетки - химеры", в которых одновременно находились α - и β -гранулы, α -, β - и зимогенные гранулы. Такие клетки описаны в НЭО.

Глюкагенпозитивные клетки содержали 47% опухолей, но только в трех случаях число их было существенным и превышало 15% всех опухолевых клеток.

Соматостатинпродуцирующие клетки обнаружены в 43% случаев, но только в одном они составляли большинство клеток опухоли (менее 90 %). Инсулинпозитивных клеток в этой опухоли было только 14%, а 30% клеток проявляли иммунореактивность к кальцитонину. На ультраструктурном уровне большинство клеток этой опухоли были агранулярными или содержали небольшое количество мелких, электронно-плотных, полиморфных, недифференцируемых гранул нейроэндокринного типа. Очевидно, что эта опухоль имеет своеобразный гистогенез, хотя гипогликемический синдром с увеличением уровня инсулина в плазме больного до 544 пмоль/л (при норме до 128 пмоль/л) давали основание поставить клинический диагноз "инсулинома". С другой стороны, учитывая небольшое количество инсулинпродуцирующих клеток с немногочисленными β -гранулами, продукцию клетками опухоли соматостатина и кальцитонина можно думать о ее происхождении из полипотентных стволовых клеток. Отсутствие характерного синдрома, а, главное, данных об уровне соматостатина в плазме до операции не дает необходимых оснований считать ее "соматостатиномой". Данный случай позволяет еще раз акцентировать внимание на том, что клинический синдром НЭО поджелудочной железы может возникнуть в результате сложных взаимодействий гормональных продуктов опухоли, в том числе эктопических, как в данном случае кальцитонин. Обычно из-за ограниченности набора используемых МКАТ не все продукты НЭО выявляются, поэтому клинико-морфологический диагноз часто является условным.

Панкреатический полипептид продуцировали клетки 33% опухолей, в одном случае такие клетки располагались только в месте прорастания капсулы опухолью. Физиологическое действие панкреатического полипептида в поджелудочной железе изучено недостаточно,

II. ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ

но хорошо известно, что уровень этого полипептида, как и хромогранина А, постоянно увеличен в плазме у пациентов с НЭО, что все шире используется при проведении скрининга этих новообразований.

Небольшое количество ВИП-позитивных клеток входило в состав 27% опухолей, но в большинстве случаев было характерно, прежде всего, диффузное ВИП-позитивное окрашивание стромы, периваскулярных пространств и капсулы опухолей.

Гастринпродуцирующие клетки определялись в 27% случаев – в единичных клетках. Исключением была одна из злокачественных опухолей, 30% клеток которой проявляли реактивность к гастрину, что отражает особенности гистогенеза данной опухоли.

Серотонин определялся в единичных клетках двух опухолей, а кальцитонин – в одной.

Таким образом, 13 опухолей (59%), которые сопровождались гипогликемическим синдромом, оказались мультигормональными и продуцировали, кроме инсулина и проинсулина, другие гормоны (см. таблицу). Очевидно, что эти цифры значительно занижены, т.к. ограничены набором используемых МКАТ. Этим объясняется и значительный разброс данных при оценке мультигормональности НЭО поджелудочной железы – 52-89%.

Таблица

Результаты исследования НЭО поджелудочной железы с использованием клеточно-специфических маркеров

Маркер	Количество исследованных опухолей	Количество позитивных опухолей	
		абс	%
Хромогранин А	22	20	91
Инсулин	22	19	86
Проинсулин	17	12	71
Глюкагон	15	7	47
Соматотропин	21	9	43
Панкреатический полипептид	15	5	33
ВИП	15	4	27
Гастрин	15	4	27
Серотонин	17	2	12
Кальцитонин	13	1	8

Для 22 опухолей, исследованных с помощью иммуногистохимических маркеров, были использованы дополнительные гистохимические окраски. По методу Гримелиуса позитивно окрашивались 70% опухолей, что ниже, чем при реакции с хромогранинном А (91%). При исследовании слизиобразования с помощью комбинированной окраски (ШИК-реакция + альциановый синий) в двух опухолях обнаружено

внутриклеточное слизееобразование, а электронно-микроскопически в клетках встречались гранулы муцина и внутриклеточные протоки.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы отличаются выраженным полиморфизмом не только по своему гистологическому строению, но и по гистогенезу, функциональной активности и ультраструктурным особенностям опухолевых клеток. Сложность клеточного состава и широкий спектр гормональных продуктов НЭО поджелудочной железы позволяют понять и объяснить описанные случаи перехода синдромов из одного в другой, проявления вторичных и неспецифических симптомов. Это еще больше затрудняет диагноз и прогноз НЭО.

Учитывая все сказанное, очевидно, что окончательная верификация таких новообразований возможна только при использовании целого комплекса современных и высокоспецифичных методов диагностики, в первую очередь таких, как иммуногистохимический и электронно-микроскопический. Нельзя переоценить важность своевременной и точной диагностики таких опухолей, так как при этих условиях они в подавляющем большинстве случаев курабельны и имеют благоприятный прогноз.

Механизмы, которые лежат в основе развития НЭО поджелудочной железы, а также определяющие их злокачественный или доброкачественный характер, изучены недостаточно. В связи с этим представляется весьма перспективным изучение пролиферативной активности опухолевых клеток, а также изменений в пограничной, неопухолевой паренхиме, которые являются фоновой патологией, предшествующей или сопутствующей неопластической трансформации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дерижанова И.С. Опухоли диффузной эндокринной системы – карциноиды. – Ростов на Дону, 1991.
2. Инкреторные гранулоцитомы (апудомы). Вопросы гистологии, гистогенеза, морфологической диагностики. Под ред. Д.И.Головина и О.К.Хмельницкого – Л. – 1983.
3. Калашников С.А., Клочков Н.Д. //Арх. пат. – 1977. – №5. – С.42-68.
4. Никонов А.А. //Арх. патол. – 1978. – №1. – С.79-81.
5. Райхлин Н.Т., Кветной Н.М., Осадчук М.А. APUD-система (общепатологические и онкологические аспекты). – Обнинск. –1993.
6. Bordi C., Pilato F.P., D'Adda T. //Virch. Arch. Abt. A. –1988. – V.413. – P.387-398.
7. Bloodworth J.M.B. Endocrine Pathology (General and Surgical). (Ed.)/ Baltimore – London, – 1982. p.586-613.
8. Eriksson B., Arnberg H., Lindgren P.G. et al. //J. Int. Med. – 1990. – V.228. – P. 103-113.
9. Heitz Ph.U., Roth J., Zuber Chr. et al. // Markers for Neural and Endocrine Cells, Verlag Chemie. Ed. – M. Gratzl, L. Langby. Weinheim. –1991. – P.203-216.
10. Kloppel G. Heitz Ph.U. //Ann. N.Y. Acad. Sci. –1994. – V.733, № 15. – P.18-23.
11. Liu T.-H., Zhu J., Cui Q.-C. et al. // Path.Res.Pract. – 1992. – V.188. -p.191-198.
12. Venkatesh S., Ordonez N.G., Ajani J. et al. //Cancer. –1990. – V.65. –P.354-357.