

На правах рукописи

Сидоров Илья Владимирович

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
САРКОМЫ ЮИНГА, САРКОМЫ С АЛЬТЕРАЦИЯМИ ГЕНА *BCOR* И
CIS-ПЕРЕСТРОЕННОЙ САРКОМЫ**

3.1.6 – Онкология, лучевая терапия

3.3.2 – Патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва, 2024 г.

Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

Карачунский Александр Исаакович, доктор медицинских наук, профессор;
Коновалов Дмитрий Михайлович, кандидат медицинских наук

Официальные оппоненты:

Казанцев Анатолий Петрович, доктор медицинских наук, заведующий хирургическим отделением с проведением химиотерапии (детей раннего возраста) ФГБУ «НИИ ДДиГ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;

Тертычный Александр Семенович, доктор медицинских наук, профессор, профессор института клинической морфологии и цифровой патологии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « ____ » _____ 2024 года в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.1.025.01 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117198, г. Москва, ул. Саморы Машела, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России www.fnkc.ru.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
Доктор медицинских наук, профессор

Николай Владимирович Жуков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Еще в 1921 г. Д. Юинг [Ewing J., 1921] описал опухоль костей, не похожую на остеогенные новообразования или лимфопролиферативные заболевания, которая морфологически характеризовалась округлыми клетками с гиперхромным ядром и светлой цитоплазмой. Опухоль, впоследствии получившую имя ученого, изначально назвали «диффузной эндотелиомой».

В течение последующих десятилетий велись споры о гистогенезе саркомы Юинга (СЮ) и критериях диагностики, включая потенциальное применение специфических окрасок [Kilpatrick Y., 2018]. Высказывались предположения о принадлежности СЮ к эндотелиомам, ретикулосаркомам, опухолям перицитарного происхождения. В 1969 г. была впервые описана внескелетная локализация СЮ [Tefft M., 1969]. К концу XX века в литературе сформировался термин «опухоль семейства саркомы Юинга», объединявший «классическую» СЮ со скелетной локализацией, примитивную нейроэктодермальную опухоль (СЮ в мягких тканях, которая определялась наличием нейроэктодермальной дифференцировки, определяемой на любом из уровней: микроскопическом, ИГХ или электронномикроскопическом) и опухоль Аскина (злокачественную опухоль торако-пульмональной зоны) [Юрченко А., 2019].

В дальнейшем, когда по данным молекулярно-генетических исследований были описаны характерные для данной опухоли транслокации (образование химерных генов представителями семейств FET и ETS, чаще всего EWSR1::FLI1 [Le Loarer E., 2022]), было подтверждено, что СЮ является отдельной нозологической формой и в классификации опухолей костей и мягких тканей Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) было решено отказаться от использования дополнительных терминов. В настоящее время наиболее обоснованными считают гипотезы о происхождении СЮ из клеток нервного гребня, мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, либо эпителиальных клеток [Grünewald T., 2018].

В ходе дальнейшего изучения возникли сомнения в том, что все случаи, ранее отнесенные к СЮ на основании морфологических и иммуногистохимических признаков, в действительности являются представителями одной нозологической формы. С развитием методов молекулярной генетики были выделены отдельные типы опухолей, условно объединяемых в группу «юингоподобных» сарком, которые официально представлены в разделе недифференцированных круглоклеточных сарком в классификации ВОЗ 2020 г. и характеризующихся особыми вариантами генетических перестроек: круглоклеточная саркома с EWSR1-non ETS-перестройками, CIC-перестроенная саркома, саркома с альтерациями гена BCOR [WHO Classification of Tumours Editorial Board, 2020]. Хотя по морфологическим и иммуногистохимическим характеристикам «юингоподобные саркомы» сходны друг с другом, что делает неочевидной дифференциальную диагностику, правильное определение типа опухоли является чрезвычайно значимым, так как эти опухоли отличаются друг от друга по клиническому течению и прогнозу [Antonescu C., 2017; Kao Y., 2018; Le Loarer E., 2019].

Стратегия лечения «юингоподобных сарком» на сегодняшний день является идентичной (протокол EURO-EWING 2012), однако ведутся разработки отдельных алгоритмов лечения для различных недифференцированных круглоклеточных сарком [Connolly E., 2022; Tap W., 2012; Tramontana D., 2020]. Несмотря на то, что некоторые опухоли из группы недифференцированных круглоклеточных сарком были описаны сравнительно недавно (саркома с перестройками гена CIC, по разным данным, была описана в 1996 или 2006 г. [Kawamura-Saito M., 2006; Richkind K., 1996], круглоклеточные саркомы с EWSR1-non ETS-перестройками в 2009 г. [Szuhai K., 2009], саркомы с альтерациями гена BCOR – в 2012 г. [Pierron G., 2012]), накопленных данных достаточно для того, чтобы достоверно дифференцировать их друг от друга уже на догенетическом этапе, опираясь на морфологическую картину и специфические иммуногистохимические признаки [Hung Y., 2016; Shibuya R., 2014; Watson S., 2018]. Тем не менее, на сегодняшний день отсутствует

оптимальный алгоритм диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком с учетом их иммуногистохимических и молекулярно-генетических признаков.

В связи с вышесказанным проведение данного исследования играет важную роль в современной медицине, в частности в усовершенствовании процесса диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком, что имеет практическую ценность и актуальность.

Степень разработанности темы исследования. Интенсивное изучение недифференцированных круглоклеточных сарком за последние годы привело к значительному прогрессу в понимании их морфологических, иммуногистохимических и генетических особенностей. Это позволило разработать четкие критерии для их диагностики даже на догенетическом этапе. Однако, несмотря на достигнутые успехи, все еще отсутствует оптимальный алгоритм, который бы комплексно учитывал все аспекты этих новообразований. В связи с этим, данное исследование направлено на создание нового диагностического подхода, интегрирующего все известные характеристики этих опухолей. Такой алгоритм призван повысить точность и оперативность диагностики, что крайне важно для улучшения тактики лечения и прогнозирования течения заболевания у пациентов с данной патологией.

Цель исследования: усовершенствование алгоритма диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком на основании изучения их клинических, морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических признаков.

Задачи исследования:

1. Провести ретроспективный анализ морфологических и иммуногистохимических признаков опухолей из группы недифференцированных круглоклеточных сарком для разделения этой группы на отдельные нозологии (СЮ, саркома с альтерациями гена *BCOR*, *CIC*-перестроенная саркома).

2. Изучить клинические особенности каждого типа опухоли, включая возраст, пол пациентов и локализацию новообразований.

3. Изучить морфологические особенности разных типов недифференцированных круглоклеточных сарком.

4. Оценить диагностическую значимость различных иммуногистохимических маркеров для дифференциальной диагностики исследуемых типов сарком.

5. Провести оценку выживаемости пациентов с недифференцированными круглоклеточными саркомами в зависимости от типа опухоли.

6. Разработать алгоритм диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком, их дифференциальной диагностики в зависимости от типа опухоли.

Научная новизна исследования

1. Впервые проведен комплексный анализ морфологических и иммуногистохимических характеристик недифференцированных круглоклеточных сарком (саркомы Юинга, саркомы с альтерациями гена *BCOR* и *SIC*-перестроенной саркомы) на большой группе пациентов детского возраста (405 случаев).

2. Установлены ключевые дифференциально-диагностические иммуногистохимические маркеры для каждого типа недифференцированных круглоклеточных сарком у детей.

3. Впервые у детей проведена оценка выживаемости пациентов с недифференцированными круглоклеточными саркомами в зависимости от типа опухоли.

4. Разработан и внедрен в практику алгоритм дифференциальной диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком у детей, основанный на комплексной оценке морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических характеристик опухолей.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные в работе данные углубляют представления о морфологических и иммунофенотипических свойствах каждого типа опухоли из группы недифференцированных круглоклеточных сарком.

С использованием разработанного алгоритма повысится скорость и точность диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком врачами-патологоанатомами на основании морфологической картины и иммуногистохимических признаков на догенетическом этапе диагностики, что значительно ускоряет процесс по сравнению с генетическими методами. Это позволяет быстрее принимать решения о выборе терапии и уже на основании морфологии и фенотипа прогнозировать течение заболевания. Разработанный алгоритм позволит отличать опухоли из группы недифференцированных круглоклеточных сарком от других круглоклеточных опухолей с применением ограниченного набора антител, что оптимизирует диагностический процесс и ресурсозатраты.

Методология и методы диссертационного исследования

При выполнении диссертационного исследования были проанализированы 405 случаев недифференцированных круглоклеточных сарком, из которых 369 случаев СЮ, 20 случаев саркомы с альтерациями гена *BCOR*, 16 случаев *CIC*-перестроенной саркомы.

Были проанализированы клинические данные (возраст, пол, локализация поражений), морфологические характеристики, иммунофенотип, во всех случаях проведен генетический анализ (FISH-исследование, ПЦР, РНК-секвенирование), что отражает методологию диссертационной работы.

При выполнении диссертационного исследования применялись следующие методы:

1. Анализ клинической информации (возраст, пол, локализация поражений, негативное событие, летальность).
2. Гистологическое исследование (гематоксилин и эозин).
3. Построение ТМА-тканевых матриц.

4. Иммуногистохимическое исследование с использованием антител против: CD99, NKX2.2, BCOR, SATB2, TLE1, WT1, ETV4, Desmin, Myogenin, MyoD1, PanCK.

5. Верификация диагноза с определением статуса генов EWSR1, BCOR, CIC одним из методов (FISH-исследование, ПЦР, РНК-секвенирование).

6. Построение дифференциально-диагностического алгоритма.

Личный вклад соискателя

Все случаи недифференцированных круглоклеточных сарком были проанализированы лично соискателем на базе ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева (анализ клинической информации, гистологическое исследование (гематоксилин и эозин), иммуногистохимическое исследование (CD99, NKX2.2, BCOR, SATB2, TLE1, WT1, ETV4, Desmin, Myogenin, MyoD1, PanCK), подготовка материала для FISH-исследования, ПЦР, РНК-секвенирования, сканирование готовых микропрепаратов, обработка и анализ полученных результатов).

Положения, выносимые на защиту

1. Разные типы недифференцированных круглоклеточных сарком (СЮ, саркома с альтерациями гена *BCOR*, *CIC*-перестроенная саркома) различаются по своим демографическим, топографическим и возрастным характеристикам.

2. Гетерогенность морфологической картины недифференцированных круглоклеточных сарком является важным дифференциально-диагностическим критерием.

3. СЮ, саркома с альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенная саркома могут иметь иммунофенотипическое сходство.

4. СЮ, саркома с альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенная саркома имеют статистически значимые различия в уровне пятилетней общей и бессобытийной выживаемости.

5. Разработан алгоритм дифференциальной диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком, учитывающий как цитологические, так и иммуногистохимические и молекулярно-генетические

признаки, что позволяет достичь высокой точности в диагностике и выборе оптимальной стратегии лечения.

Степень достоверности результатов

Для достижения достоверности результатов при каждом виде исследований (гистологическое исследование, иммуногистохимия, ПЦР, РНК-секвенирование и FISH) строго придерживались соответствующих протоколов и рекомендаций с использованием позитивных и негативных контролей в соответствии с протоколами контроля качества для каждого исследования.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования применяются в практической работе при исследовании опухолей костей и мягких тканей у детей в патологоанатомическом отделении ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева, в патологоанатомическом отделении Морозовской детской клинической больницы, в патологоанатомическом отделении РДКБ РНИМУ им. Н.И. Пирогова, патологоанатомическом отделении НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, а также используются в процессе обучения ординаторов и стажеров ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева. Опубликовано учебно-методическое пособие по дифференциальной диагностике круглоклеточных недифференцированных сарком для обучающихся по программам высшего образования подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре, подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре, а также для врачей-специалистов, получающих постдипломное образование по специальностям онкология, патологическая анатомия.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации было опубликовано 5 печатных работ, в том числе 4 работы в изданиях, рекомендованных ВАК, опубликовано учебное пособие «Саркома Юинга и «юингоподобные саркомы. Диагностика, дифференциальная диагностика» ISBN 978-5-6048339

Результаты диссертационной работы доложены на международном форуме «Инновационная онкология» 6-9 сентября 2023г; на ежегодном форуме

«Московского регионального общества онкопатологов и онкогенетиков» 20-21 октября 2023 г.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, основной части и заключения.

Введение состоит из актуальности, формулировки цели и задач исследования, научной новизны и значимости работы, а также из положений выносимых на защиту, степени достоверности результатов, апробации и внедрения результатов, указанием на количество опубликованных работ (в том числе, в изданиях, рекомендованных ВАК).

Основная часть диссертации состоит из обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения.

Заключение состоит из обобщения полученных результатов (выводов и практических рекомендаций).

Диссертация изложена на 144 страниц машинописного текста, содержит 34 рисунка и 18 таблиц. Библиографический список состоит из 221 литературных источников (из которых 17 отечественных и 204 зарубежных публикаций).

Материалы и методы

В рамках данной работы были проанализированы 405 случаев недифференцированных круглоклеточных сарком, из которых 369 случаев СЮ, 20 случаев саркомы с альтерациями гена *BCOR*, 16 случаев *CIC*-перестроенной саркомы. Все случаи были диагностированы в патологоанатомическом отделении ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева за период с 2012 по 2022 г.

Саркомы с *EWSR1*-non-*ETS* перестройками, обнаруженные при анализе материала, не были включены в исследование в связи с малым количеством наблюдений за обсуждаемый период. Часть пациентов проходила лечение в ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева, в остальных случаях материал был направлен на референс-исследование из других лечебных учреждений. Во всех случаях было получено информированное согласие от пациентов и/или законных представителей на обследование, лечение и использование

информации, полученной в ходе обследования и лечения, в научных и образовательных целях.

Критериями включения в исследование являлись:

– диагноз СЮ, саркомы с альтерациями гена *BCOR*, *CIC*-перестроенной саркомы, подтвержденный с помощью обнаружения характерных для данных нозологических форм транслокаций методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), проведенном в патологоанатомическом отделении ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева, либо методом обнаружения химерных транскриптов *EWSR1::FLI1*, *EWSR1::ERG*, *BCOR::CCNB3*, *BCOR::MAML3*, *BCOR::ITD*, *CIC::DUX4* с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) или РНК-секвенирования в лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева;

– отсутствие предшествующей терапии, либо терапевтический патоморфоз не более 2 степени (по шкале Nuvos);

– наличие достаточного количества материала (парафиновые блоки и/или готовые гистологические препараты);

– образцы, продемонстрировавшие низкую интенсивность иммуногистохимической окраски, исключались из выборки при дальнейшем анализе.

Большинство случаев было организовано в тканевые матрицы (tissue microarray, TMA), представляющие собой парафиновые блоки-реципиенты, содержащие тканевые цилиндры, извлеченные из стандартных парафиновых блоков. Изготовление тканевых матриц выполнялось с использованием автоматизированной системы EverBio AutoTiss10c (EverBio Technology Inc., Тайвань) и программного обеспечения AutoTiss Designer. Диаметр используемого панчера (core) 1.0 мм.

В 28 случаях, относящихся к последним 2 годам наблюдения, работа выполнялась с использованием стандартных парафиновых блоков.

Среди клинических данных учитывались пол, возраст и локализация опухолевого процесса. В качестве источника клинических данных

использовались электронная база данных ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева «Лабораторная информационная система», а также архив направлений патологоанатомического отделения.

Материал для гистологического исследования получали при биопсиях и резекциях опухолей костей и мягких тканей. Достаточным объемом считалось 1,5-2 кубических сантиметра. В направлении указывались данные пациента, задачи исследования, локализация поражения и другая важная информация.

Доставка нативного материала осуществлялась в растворе формалина. Мелкие фрагменты описывались и помещались в декальцинирующий раствор. Материал раскладывался по гистологическим кассетам с маркировкой.

При микроскопическом исследовании оценивались компоненты патологической ткани, цитологические свойства клеток, наличие некроза, митотическая активность, особое внимание уделялось гетерогенному морфологическому строению опухоли.

Иммуногистохимическое исследование проводилось с использованием 12 антител (CD99, NKX2.1, WT1, ETV4, BCOR, SATB2, TLE1, Myogenin, MyoD1, Desmin, PanCK, NUT) по стандартному протоколу. Оценка результатов осуществлялась на световом микроскопе.

Флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) выполнялась с локус-специфичными зондами (NUTM1 Dual Color Break Apart, CIC Dual Color Break Apart, EWSR1 Dual Color Break Apart, BCOR Break Apart) по двухдневному протоколу. Анализировалось не менее 200 ядер в каждом образце.

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени проводилась после выделения РНК и обратной транскрипции. Использовались специфические праймеры и зонды.

Секвенирование РНК осуществлялось на приборе NextSeq500 с последующим биоинформатическим анализом.

Качественные переменные представлены в виде частоты и доли (процента). Для сравнения качественных переменных использовался критерий χ^2 Пирсона. В случаях, когда количество наблюдений в подгруппах было менее

5, применялся точный критерий Фишера. Уровень статистической значимости был принят равным 0,05.

Для расчета выживаемости пациентов в группах недифференцированных круглоклеточных сарком использовали метод Каплана–Майера.

Общая выживаемость (ОВ) определялась как время от даты постановки диагноза до даты смерти от любой причины или даты последнего наблюдения для живых пациентов.

Бессобытийная выживаемость (БСВ) определялась как время от даты постановки диагноза до даты первого неблагоприятного события (прогрессирование заболевания, рецидив, смерть от осложнений лечения или возникновение второй опухоли) или даты последнего наблюдения для пациентов без событий. В рамках данного исследования была оценена 5-летняя выживаемость пациентов.

В данном исследовании дата цензурирования была установлена на 01.05.2023.

Статистические различия в выживаемости рассчитывались Log-rank критерием.

Обработка количественных данных проводилась с помощью программы Microsoft Excel 2016, программного обеспечения Jamovi (version 2.3.19), а также пакета программ статистической обработки данных IBM SPSS Statistics 23.0.

Результаты собственного исследования

Организация работы референс-центра на базе «ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Референс-центр применяет последовательный алгоритм исследования биопсийного материала: гистологический анализ, иммуногистохимические тесты, молекулярно-генетические методы. Результаты молекулярно-генетического исследования рассматриваются исключительно в комплексе с данными гистологии и иммуногистохимии.

Сроки выполнения: 4-15 рабочих дней для гистологического исследования и иммуногистохимии, до 40 рабочих дней для молекулярно-генетических анализов.

Общая характеристика пациентов в группах исследования

В исследование было включено 405 случаев, из которых большинство (369) составили пациенты с саркомой Юинга. Остальные случаи распределились между саркомами с альтерациями гена *BCOR* (20 случаев) и *CIC*-перестроенными саркомами (16 случаев). В общей выборке преобладали пациенты мужского пола, что также наблюдалось в группах с СЮ и саркомами с альтерациями гена *BCOR*. Среди пациентов с *CIC*-перестроенными саркомами отмечалось равное распределение по полу (таблицы 1, 2, рисунок 1).

Таблица 1 – Характеристика пациентов с недифференцированными круглоклеточными саркомами в зависимости от пола

Всего	Пол		Возраст	
	мужской	женский	медиана	макс: мин
405	226	179	12	22:0,4
%	55,8	44,1		

Таблица 2 – Доля пациентов мужского и женского пола среди лиц с диагнозом СЮ, саркомы с альтерациями гена *BCOR* и саркомы с перестройками гена *CIC*

Пол	Саркома Юинга		Саркома с альтерациями гена <i>BCOR</i>		Саркома с перестройками гена <i>CIC</i>		Всего	
	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
Женский	169	48	2	10	8	50	179	44,1
Мужской	200	52	18	90	8	50	226	55,8

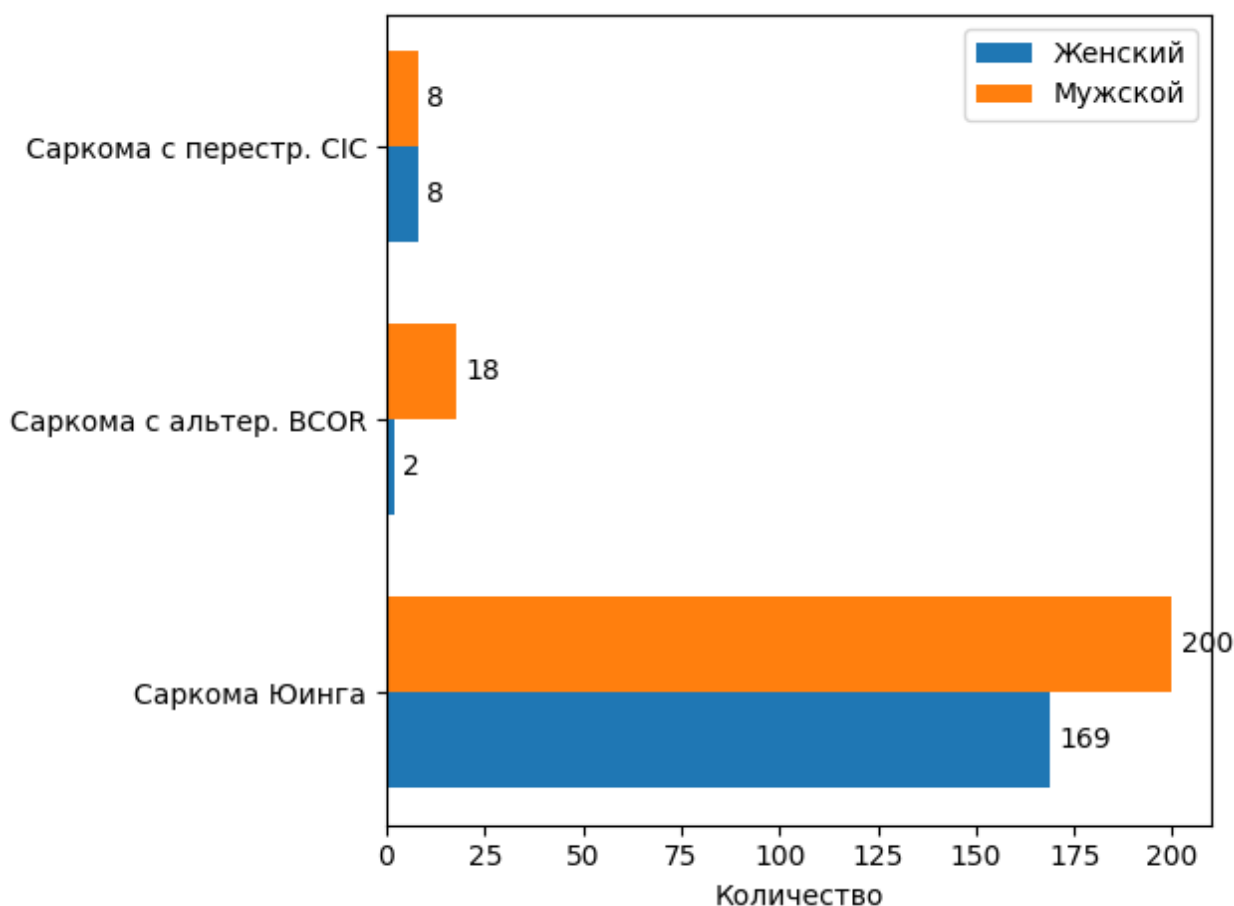


Рисунок 1 – Распределение по полу пациентов с диагнозом недифференцированных круглоклеточных сарком (СЮ, саркома с альтерациями гена *BCOR*, *CIC*-перестроенная саркома)

Возрастной диапазон всех пациентов варьировался от 5 месяцев до 22 лет, с медианой возраста 12 лет. Для саркомы Юинга возрастной диапазон составил от 6 месяцев до 22 лет (медиана 11 лет), для саркомы с альтерациями гена *BCOR* - от 5 месяцев до 16 лет (медиана 13 лет), а для *CIC*-перестроенных сарком - от 9 до 16 лет (медиана 13,5 лет). Во всех группах наибольшая частота заболеваемости наблюдалась среди детей старшего школьного возраста (11-18 лет) (таблица 3, рисунок 2).

Таблица 3 – Распределение пациентов с диагнозом саркомы Юинга, саркомы с альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенной саркомы по возрастным группам

Возраст	Саркома Юинга		Саркома с альтерациями гена <i>BCOR</i>		<i>CIC</i> -перестроенная саркома	
	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
<1 года	3	0,8	2	10	1	6,2
1-3 года	7	1,9	1	5	0	0
3-7 лет	27	7,3	2	10	2	12,5
7-11 лет	95	25,7	4	20	2	12,5
11-18 лет	236	63,9	11	55	11	68,7
>18 лет	1	0,3	0	0	0	0
Медиана	11		13		13,5	
Максимальный	22		16		16	
Минимальный	0,5		0,4		9	
Средний	10,9		11,4		13,3	

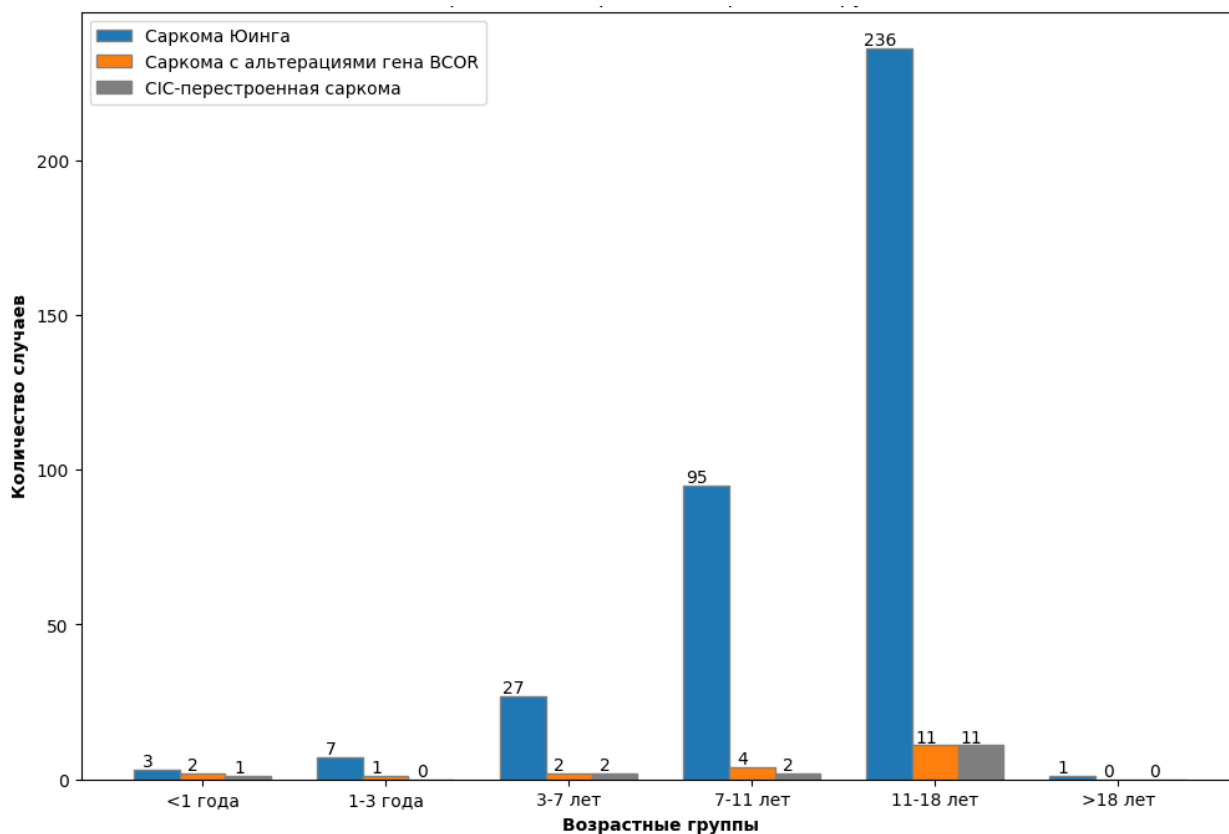


Рисунок 2 – Распределение пациентов с недифференцированными круглоклеточными саркомами (СЮ, саркома с альтерациями гена BCOR, CIC-перестроенная саркома) в зависимости от возраста

Локализация опухоли у пациентов в группах исследования

В исследуемой выборке пациентов преобладала костная локализация опухолей, составляя 66,67 % случаев. Наиболее часто поражалась бедренная кость (19,92 % в общей выборке) (таблицы 4, 5). Саркома Юинга демонстрировала наибольшую склонность к костной локализации (67,07 % случаев этого типа), также преимущественно поражая бедренную кость (21,22 %). Мягкотканная локализация была характерна для сарком с альтерациями гена BCOR (70 % случаев) и исключительна для сарком с перестройками гена CIC. Среди мягких тканей в общей выборке чаще поражались ткани таза (26,19 %) и бедра (22,22 %). У пациентов с саркомой с альтерациями гена BCOR преобладала локализация в забрюшинном пространстве (50 %), а при саркомах с перестройками гена CIC – в мягких тканях бедра (42,9 %).

Таблица 4 – Варианты костной локализации опухоли в общей выборке, расположенные в порядке убывания частоты

Локализация	Количество случаев	Процент
Бедренная кость	50	19,92%
Кости голени	38	15,14%
Кости таза	38	15,14%
Позвонки	31	12,35%
Череп	30	11,95%
Ребро	29	11,55%
Кости стопы	11	4,38%
Плечевая кость	8	3,19%
Кости предплечья	8	3,19%
Лопатка	4	1,59%
Ключица	4	1,59%

Таблица 5 – Варианты мягкотканной локализации опухоли в общей выборке, расположенные в порядке убывания частоты

Локализация	Количество	Процент
Мягкие ткани таза	33	26,19 %
Мягкие ткани бедра	28	22,22 %
Мягкие ткани грудной стенки	19	15,08 %
Мягкие ткани шеи	21	16,67 %
Мозговые оболочки	8	6,35 %
Мягкие ткани голени	8	6,35 %
Мягкие ткани предплечья	8	6,35 %
Забрюшинное пространство	10	7,94 %
Спинальномозговой канал	7	5,56 %
Мягкие ткани спины	4	3,17 %
Брюшная полость	6	4,76%
Мягкие ткани стопы	1	0,79%

Морфология опухоли у пациентов в группах исследования

Морфология опухоли у пациентов в группах исследования была представлена преимущественно типичной картиной саркомы Юинга, которая наблюдалась в 91 % случаев. Эти опухоли характеризовались наличием округлых клеток среднего и маленького размера с гиперхромными ядрами и высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. В меньшем количестве случаев (7 %) встречалась атипичная морфология с эпителиоидноклеточным строением, а в 2 % случаев наблюдалось смешанное круглоклеточно-веретенклеточное строение. Круглоклеточная морфология была также характерна для сарком с альтерациями гена *BCOR* и сарком с перестройками гена *CIS*. Среди сарком с альтерациями гена *BCOR* дополнительно выявлялись опухоли с веретенклеточной морфологией. Саркомы с перестройками гена *CIS* чаще демонстрировали круглоклеточный и эпителиоидноклеточный морфологические типы (таблица 6).

Таблица 6 – Морфологические варианты сарком с альтерациями гена *BCOR* и *CIS*-перестроенной саркомы

Морфология	<i>BCOR</i>		<i>CIS</i>	
	Кол-во	%	Кол-во	%
Круглоклеточная	6	30	8	50
Эпителиоидноклеточная	0	0	5	31,25
Веретенклеточная	0	0	1	6,25
Круглоклеточно-веретенклеточная	14	70	1	6,25
Круглоклеточно-эпителиоидноклеточная	0	0	1	6,25
Веретенклеточно-эпителиоидноклеточная	0	0	0	0

Экспрессия антител в опухоли у пациентов в группах исследования

Экспрессия антител в опухоли у пациентов в группах исследования показала значительные различия между саркомой Юинга, саркомами с

альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенными саркомами. *CD99* экспрессировался во всех случаях саркомы Юинга, в половине случаев сарком с альтерациями *BCOR* и в 68,75 % *CIC*-перестроенных сарком. *NKX2.2* был выявлен почти во всех случаях саркомы Юинга, редко в саркомах с альтерациями *BCOR* и отсутствовал в *CIC*-перестроенных саркомах. Коэкспрессия *CD99* и *NKX2.2* наблюдалась в 96 % случаев саркомы Юинга, но не была обнаружена в других типах опухолей. *BCOR* экспрессировался во всех случаях сарком с альтерациями гена *BCOR*, редко в саркоме Юинга и отсутствовал в *CIC*-перестроенных саркомах. *SATB2* был выявлен только в саркомах с альтерациями *BCOR*. *TLE1* экспрессировался во всех саркомах с альтерациями *BCOR*, в 43 % *CIC*-перестроенных сарком и редко в саркоме Юинга. Коэкспрессия *BCOR*, *TLE1* и *SATB2* наблюдалась в 100 % сарком с альтерациями *BCOR*. *ETV4* и *WT1* чаще экспрессировались в *CIC*-перестроенных саркомах по сравнению с другими типами. *PanCK* был обнаружен в небольшом проценте случаев саркомы Юинга и в трети *CIC*-перестроенных сарком. Статистически значимые различия в экспрессии антител между группами были выявлены для большинства исследованных маркеров (таблица 7).

Таблица 7 – Экспрессия и коэкспрессия антител в опухоли у пациентов в группах исследования, %

Антитела	Саркома Юинга (n=369)	Саркома с альтерациям и гена <i>BCOR</i> (n=20)	Саркома с перестройка ми гена <i>CIC</i> (n=16)
<i>NKX2.2</i>	99	5	-
<i>CD99</i>	100	50	68,7
<i>CD99</i> и <i>NKX2.2</i>	96	-	-
<i>BCOR</i>	1,8	100	-
<i>SATB2</i>	-	100	-
<i>TLE1</i>	0,27	100	43
<i>BCOR</i> и <i>SATB2</i> (без экспрессии <i>TLE1</i>)	-	-	-

Продолжение таблицы 7

Антитела	Саркома Юинга (n=369)	Саркома с альтерациям и гена <i>BCOR</i> (n=20)	Саркома с перестройка ми гена <i>CIC</i> (n=16)
Коэкспрессия <i>BCOR</i> , <i>TLE1</i> и <i>SATB2</i>	-	100	-
<i>ETV4</i>	2	10	50
<i>WT1</i>	0,81	5	31
<i>PanCK</i>	2,7	-	37
<i>Desmin</i>	-	-	-
<i>Myogenin</i>	-	-	-
<i>MyoD1</i>	-	-	-
<i>NUT</i>	-	-	-

Выживаемость пациентов в группах исследования

Анализ 5-летней БСВ (Рисунок 3.21) выявил статистически значимые различия между исследуемыми группами ($p=0,0182$). Показатели БСВ составили $59\% \pm 3\%$ ($n=369$) для пациентов с СЮ, $74\% \pm 12\%$ ($n=20$) для пациентов с саркомой с альтерациями гена *BCOR* и $38\% \pm 14\%$ ($n=16$) для пациентов с *CIC*-перестроенной саркомой.

При попарном сравнении групп для БСВ статистически значимые различия были обнаружены между СЮ и *CIC*-перестроенной саркомой ($p=0,0309$), а также между саркомой с альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенной саркомой ($p=0,0403$). Различия между СЮ и саркомой с альтерациями гена *BCOR*- не достигли статистической значимости ($p=0,4149$).

Анализ 5-летней ОВ (Рисунок 3.22) также показал статистически значимые различия между группами ($p=0,0034$). Наилучшие показатели ОВ наблюдались у пациентов с саркомой с альтерациями гена *BCOR* ($80\% \pm 18\%$, $n=20$), за ними следовали пациенты с СЮ ($79\% \pm 3\%$, $n=369$) и *CIC*-перестроенной саркомой ($47\% \pm 17\%$, $n=16$).

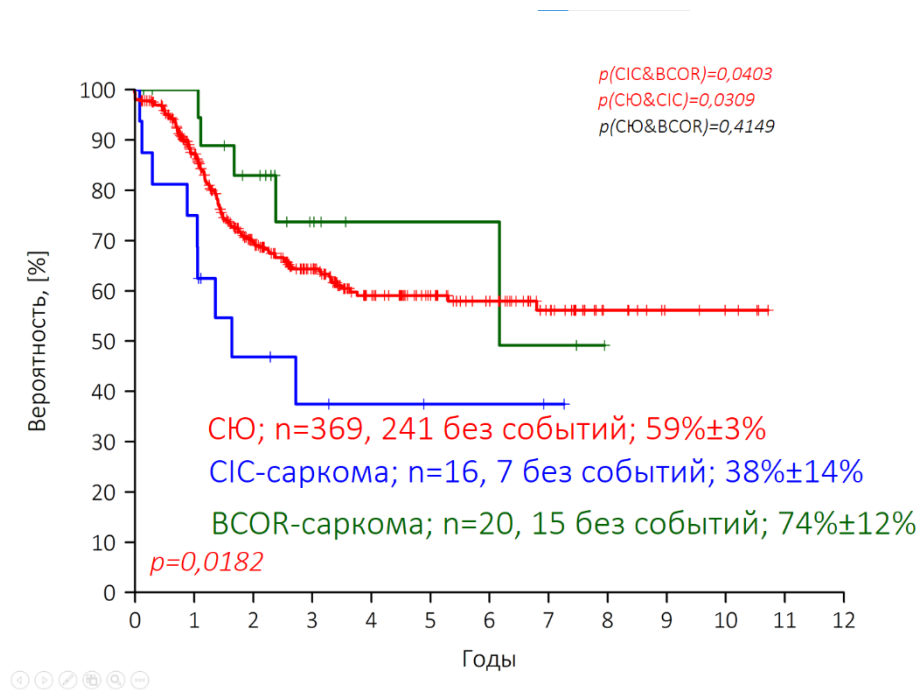


Рисунок 3 – Показатели БСВ для СЮ, саркомы с альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенной саркомы

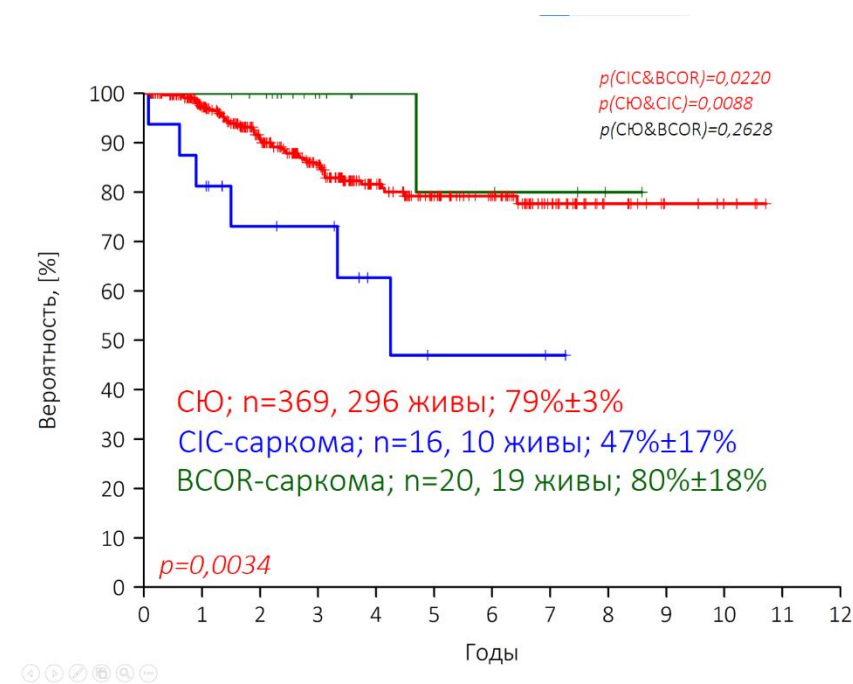


Рисунок 4 – Показатели ОВ для СЮ, саркомы с альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенной саркомы

При попарном сравнении групп для ОВ статистически значимые различия были обнаружены между СЮ и *CIC*-перестроенной саркомой ($p=0,0088$), а также между саркомой с альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенной саркомой

($p=0,0220$). Различия между СЮ и саркомой с альтерациями гена *BCOR* не достигли статистической значимости ($p=0,2628$).

Медианы наблюдения составили 2,8 года для СЮ, 2,3 года для *CIC*-перестроенной саркомы и 2,7 года для саркомы с альтерациями гена *BCOR*. Важно отметить, что группы значительно различались по размеру выборки, что могло повлиять на оценку выживаемости, особенно для *CIC*-перестроенной саркомы и саркомы с альтерациями гена *BCOR* с относительно небольшим количеством пациентов.

Алгоритм диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком

Алгоритм диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком требует комплексного подхода, включающего клинический, морфологический, иммуногистохимический и молекулярно-генетический анализ. Основой диагностики является тщательное гистологическое исследование. Иммуногистохимическое исследование с использованием панельного подхода позволяет эффективно дифференцировать различные типы круглоклеточных сарком. Выбор молекулярных тестов основывается на предварительном дифференциальном диагнозе. При круглоклеточной морфологии дифференциальный диагноз включает СЮ, лимфому, рабдомиосаркому, саркому с альтерациями *BCOR*, *CIC*-перестроенную саркому и другие круглоклеточные опухоли. При крупноклеточном или эпителиоидноклеточном строении рассматриваются СЮ, *CIC*-перестроенная саркома, круглоклеточная саркома с перестройкой *EWSR1::NFATC2*, рабдомиосаркома, РССома, рабдоидная опухоль и эпителиоидная саркома. Гетерогенное круглоклеточно-веретенноклеточное строение требует дифференциальной диагностики между СЮ, саркомой с альтерациями *BCOR*, *CIC*-перестроенной саркомой, круглоклеточными саркомами с перестройками *EWSR1::NFATc2* и *EWSR1::PATZ1*, синовиальной саркомой, рабдомиосаркомой и миоэпителиальной карциномой. Подробно алгоритм представлен на рисунке 5.

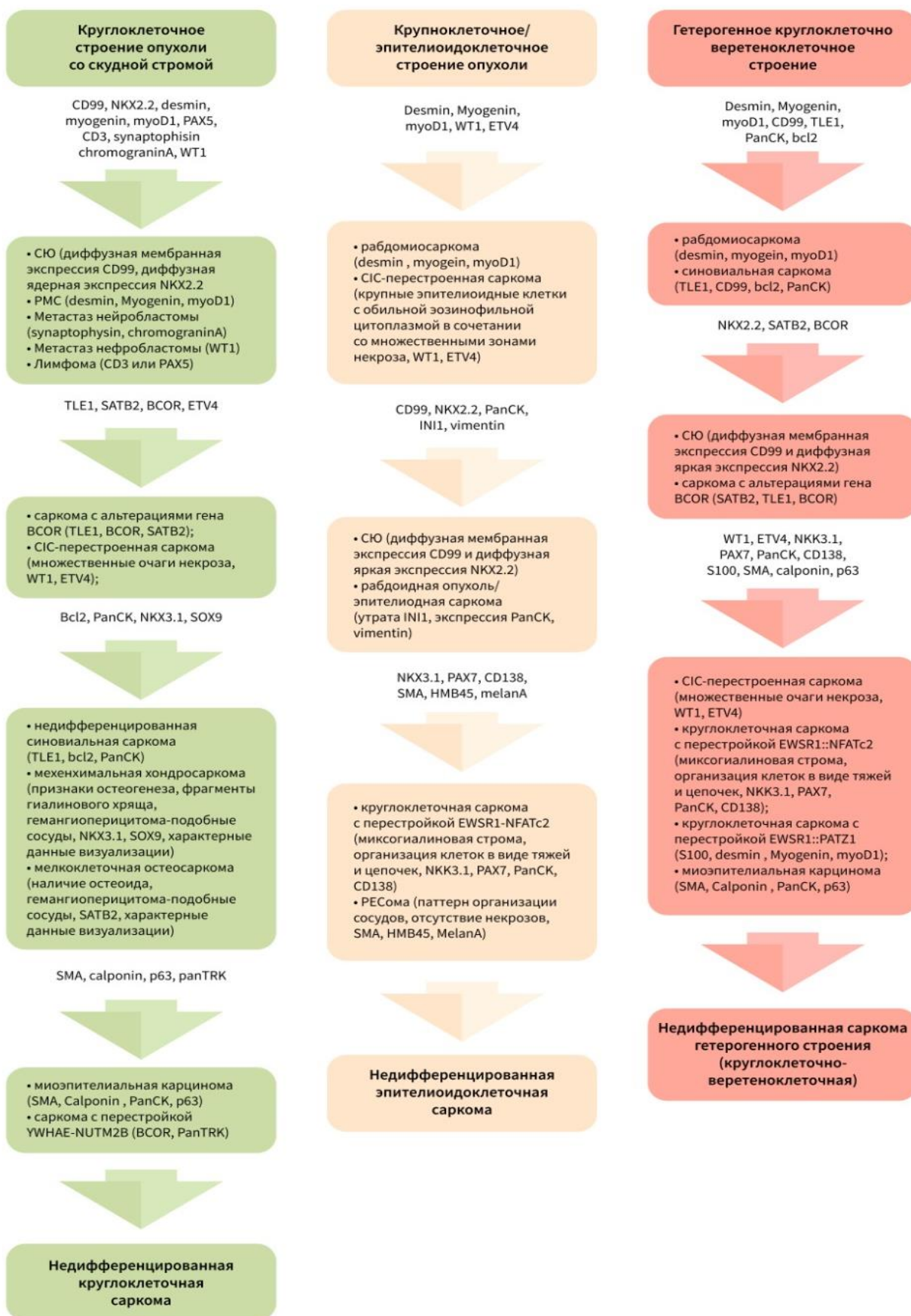


Рисунок 5 – Алгоритм диагностики

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования были изучены клинико-морфологические и молекулярно-генетические характеристики 405 случаев круглоклеточных опухолей мягких тканей и костей, включая 369 случаев СЮ, 16 случаев *CIC*-перестроенных сарком и 20 случаев сарком с альтерациями гена *BCOR*. Полученные данные подтвердили преимущественное поражение СЮ пациентов мужского пола в возрасте 11-18 лет, в то время как для сарком с альтерациями гена *BCOR* характерно преобладание пациентов мужского пола более младшего возраста. Выявлены особенности локализации исследуемых опухолей: для СЮ характерна преимущественно костная локализация, для сарком с альтерациями гена *BCOR* – мягкотканная локализация (часто в забрюшинном пространстве), а для *CIC*-перестроенных сарком – исключительно мягкотканная локализация. Морфологически СЮ в большинстве случаев имеет типичное мономорфное круглоклеточное строение, в то время как саркомы с альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенные саркомы демонстрируют большую морфологическую гетерогенность. В ходе исследования установлена высокая чувствительность и низкая специфичность экспрессии CD99 для диагностики СЮ, при этом коэкспрессия CD99 и NKX2.2 является высокочувствительной и высокоспецифичной и не встречается в других типах опухолей. Для саркомы с альтерациями гена *BCOR* наиболее специфична коэкспрессия *BCOR*, *SATB2* и *TLE1*, а для *CIC*-перестроенной саркомы характерна экспрессия *ETV4* и *WT1*. На основе полученных результатов разработан алгоритм дифференциальной диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком. Выявлены различия в клиническом течении и прогнозе исследуемых опухолей: наиболее благоприятное течение характерно для сарком с альтерациями гена *BCOR*, наиболее агрессивное – для *CIC*-перестроенной саркомы. Полученные результаты имеют важное значение для улучшения диагностики и прогнозирования течения круглоклеточных сарком мягких тканей и костей, что может способствовать оптимизации терапевтических подходов и улучшению исходов заболевания у пациентов с данной патологией.

Выводы

1. В результате проведенного ретроспективного анализа морфологических и иммуногистохимических признаков 405 случаев опухолей из группы недифференцированных круглоклеточных сарком было выявлено 369 случаев СЮ (91,1%), 20 случаев саркомы с альтерациями гена *BCOR* (4,9%) и 16 случаев *SIC*-перестроенной саркомы (3,9%).

2. Различия в клинических характеристиках разных типов недифференцированных круглоклеточных сарком (пол, возраст, локализация) имеют важное диагностическое значение. Большинство пациентов с СЮ составили лица мужского пола в возрасте от 5 месяцев до 22 лет (медиана 11 лет) с преимущественной костной локализацией опухоли (66,4% случаев), преимущественно в бедренной кости (21,22%). Саркома с альтерациями гена *BCOR* чаще встречалась у мальчиков (90% случаев) в возрасте от 5 месяцев до 16 лет (медиана 13 лет) и имела преимущественно мягкотканную локализацию (70% случаев), чаще всего в забрюшинном пространстве (50%). *SIC*-перестроенная саркома наблюдалась с равной частотой у мальчиков и девочек в возрасте от 9 до 16 лет (медиана 13,5 лет) и имела исключительно мягкотканную локализацию, преимущественно в мягких тканях бедра (42,9%).

3. Для СЮ в 91% случаев была характерна типичная морфология с мелкими округлыми клетками, в 7% - эпителиоидноклеточное строение, в 2% - смешанное круглоклеточно-веретенклеточное строение. Саркомы с альтерациями гена *BCOR* в 30% случаев имели круглоклеточную морфологию, в 70% - круглоклеточно-веретенклеточную. *SIC*-перестроенные саркомы в 50% случаев имели круглоклеточную морфологию, в 31,25% - эпителиоидноклеточную, в 6,25% - веретенклеточную, в 6,25% - круглоклеточно-веретенклеточную и в 6,25% - круглоклеточно-эпителиоидноклеточную.

4. У недифференцированных круглоклеточных сарком может наблюдаться перекрестная экспрессия антител, однако каждая опухоль имеет свою уникальную комбинацию иммуногистохимических маркеров, которая обладает

высокой диагностической значимостью. Для СЮ наиболее специфична коэкспрессия CD99 и NKX2.2, выявленная в 96% случаев ($p < 0,0001$). Саркомы с альтерациями гена *BCOR* характеризуются 100% коэкспрессией *BCOR*, *TLE1* и *SATB2* ($p < 0,0001$), а *CIC*-перестроенные саркомы - частой экспрессией *WT1* (70%) и *ETV4* (50%) ($p = < 0,000004$). Экспрессия CD99 характерна для всех типов недифференцированных круглоклеточных сарком, встречается в 100% СЮ, в 50% сарком с альтерациями гена *BCOR* и 68,75% *CIC*-перестроенных сарком. *TLE1* присутствует в 43% *CIC*-перестроенных сарком и 0,27% СЮ. *WT1* выявлен в 5% сарком с альтерациями гена *BCOR* и 0,81% СЮ.

5. Анализ данных пятилетней выживаемости показал статистически значимые различия между группами ($p = 0,0182$ для БСВ и $p = 0,0034$ для ОВ). Более высокая пятилетняя БСВ наблюдалась у больных саркомой с альтерациями гена *BCOR* ($74\% \pm 12\%$, $n = 20$), более низкая отмечалась в группе СЮ ($59\% \pm 3\%$, $n = 369$) и в группе *CIC*-перестроенной саркомы ($38\% \pm 14\%$, $n = 16$). Наиболее высокий показатель ОВ был у больных саркомой с альтерациями гена *BCOR* ($80\% \pm 18\%$, $n = 20$), более низкий у пациентов СЮ ($79\% \pm 3\%$, $n = 369$) и *CIC*-перестроенной саркома ($47\% \pm 17\%$, $n = 16$). Значимые различия БСВ и ОВ наблюдались между больными СЮ и *CIC*-перестроенной саркомой ($p = 0,0309$ для БСВ, $p = 0,0088$ для ОВ), а также между саркомой с альтерациями гена *BCOR* и *CIC*-перестроенной саркомой ($p = 0,0403$ для БСВ, $p = 0,0220$ для ОВ).

6. Разработан алгоритм дифференциальной диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком, основанный на оценке морфологических особенностей и иммуногистохимических маркеров.

Практические рекомендации

1. Рекомендуем использовать разработанный алгоритм дифференциальной диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком в диагностической практике по определению типа опухоли (СЮ, *CIC* - перестроенная саркома и саркома с альтерациями гена *BCOR*).

2. Рекомендуем учитывать, что определяющим критерием в дифференциальной диагностике недифференцированных круглоклеточных сарком являются цитологические признаки их клеток.

3. Описанные дифференциально-диагностические алгоритмы являются наиболее ценными и информативными в отношении детской популяции. Во взрослой популяции при всех описанных типах морфологического строения опухоли рекомендуем в первую очередь исключать опухоли с эпителиальной дифференцировкой и меланому.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сидоров И.В. Саркома с альтерациями гена BCOR (BCOR-ITD) с изолированным поражением L3-позвонка у мальчика 8 лет / Сидоров И.В., Федорова А.С., Макарова Н.П., Коноплева Е.И., Шарлай А.С., Панферова А.В., Друй А.Е., Коновалов Д.М. // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. - 2022. - Т.21. - №3 - С. 84-89. <https://doi.org/10.24287/1726-1708-2022-21-3-84-89>
2. Сидоров И.В. Саркома правой бедренной кости с гетерогенной морфологией, схожей с миоэпителиальной карциномой и амплификацией гена EWSR1 у мальчика 15 лет. Клиническое наблюдение и обзор литературы / Сидоров И.В., Федорова А.С., Коноплева Е.И., Шарлай А.С., Коновалов Д.М. // Российский журнал детской гематологии и онкологии. - 2022. - Т.9. - №4 - С. 102-106. <https://doi.org/10.21682/2311-1267-2022-9-4-102-106>
3. Сидоров И.В. СИС-перестроенная саркома: клиническое наблюдение и обзор литературы / Сидоров И.В., Федорова А.С., Коноплева Е.И., Макарова Н.П., Шарлай А.С., Коновалов Д.М. // Архив патологии. - 2023. - Т.85. - №3 - С. 64-70. <https://doi.org/10.17116/patol20238503164>
4. Сидоров И.В. Клинико-морфологическая характеристика саркомы Юинга и алгоритм диагностики недифференцированных круглоклеточных сарком / Сидоров И.В., Федорова А.С., Шарлай А.С., Коновалов Д.М. // Архив патологии. - 2023. - Т.85. - №5 - С. 13-21. <https://doi.org/10.17116/patol20238505113>
5. Sinichenkova, K. Rapid but nondurable response of a BRAF exon 15 double-mutated spindle cell sarcoma to a combination of BRAF and MEK inhibitors. / Sinichenkova, K., Sidorov, I., Kriventsova, N., Konovalov, D., Abasov, R., Usman, N. [et al] // Oncotarget. – 2024. – V.15. – P. 493-500. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.28606>
6. Саркома Юинга и «юингоподобные» саркомы. Диагностика, дифференциальная диагностика: учебное пособие/ Сидоров И.В., Федорова А.С., Панферова А.В., Синиченкова К.Ю., Друй А.Е., Качанов Д.Ю., Коновалов Д.М., Л. - М.: ФГБУ НМИЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ. 2023. - 32с.