

К.О. Галахін

А. Ломбарт-Бош

М.М. Мельник

Е.М. Ковальчук

І.О. Пономарьов

Інститут онкології

АМН України, Київ, Україна

Університет Валенсії, Іспанія

**Ключові слова:** імуногістохімія, діагностика, пухлини сімейства Юїнга.

## ДИФЕРЕНЦІАЛЬНА ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ДІАГНОСТИКА ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН СІМЕЙСТВА ЮЇНГА

**Резюме.** Пухлини сімейства Юїнга (саркома Юїнга і PNET) належать до дрібно-круглоклітинних пухлин кісток і м'яких тканин, які входять до гетерогенної групи неоплазій, що діагностують переважно у дітей та осіб молодого віку. Проведення імуногістохімічного дослідження з урахуванням гістологічної будови пухлин у 70 хворих з пухлинами кісток і м'яких тканин дало змогу встановити діагноз типової і атипової саркоми Юїнга (38 пацієнтів), PNET-ASKIN пухлини (13), провести диференціальну діагностику і діагностувати остеосаркому (5), хондросаркому (1), ідентифікувати рабдоміосаркому (1), міксоїдну пухлину (1), метастази нейробластоми (1), карциноми (1). У 9 випадках матеріал виявився неінформативним. Найбільш ефективним виявився HBA-71 — основний маркер у діагностиці саркоми Юїнга та PNET-пухлин. Для їх типування доцільно також використовувати моноклональні антитіла до NSE, віментину, антигену HNK-1, білка S-100 та PGP9.5. Для диференціальної діагностики саркоми Юїнга і PNET та інших дрібно-круглоклітинних пухлин доцільно додатково застосовувати антитіла до OS-нектину, OS-кальцину, актину, міогеніну,  $\beta_2$ -мікроглобуліну та антигену епітеліальних мембран.

### ВСТУП

Діагностика пухлин опорно-рухового апарату, зокрема новоутворення кісток, є одним з найбільш важких розділів клінічної онкоморфології. Серед злоякісних новоутворень кісток особливе місце займають так звані пухлини сімейства Юїнга, які за своєю морфологією є дрібноклітинними пухлинами, а за клінічним перебігом — надзвичайно агресивними з короткою тривалістю виживання. Головною онкологічною формою цього сімейства є саркома Юїнга [2, 12].

Частіше пухлини кісток розвиваються у дітей та осіб молодого віку, що призводить до значних соціально-економічних втрат суспільства. Ефективність лікування саркоми Юїнга залежить від ранньої та адекватної її діагностики. При цьому необхідно враховувати, що саркома Юїнга неоднорідна за своєю морфологічною структурою, трактування її гісто- та цитогенетичного походження є неоднозначним і до цього часу. Розрізняють такі типи захворювання: класична (найменш диференційована), великоклітинна, саркома Юїнга з нейроектодермальним компонентом і саркома Юїнга з судинним компонентом. Крім того, ця патологія потребує проведення диференціальної діагностики з такими пухлинними ураженнями кісток, як анапластичні остеогенні дрібноклітинні саркоми, мезенхімальна хондросаркома, злоякісна ектомезенхімома, злоякісна лімфома та рабдоміосаркома [5, 7–9, 21].

Відомо, що одним із основних маркерів для типування саркоми Юїнга є антиген HBA-71

(p30/32MIC2, 12E7 або CD99), що експресується на клітинній поверхні при атипових варіантах саркоми Юїнга, примітивних нейроектодермальних пухлинах і не ідентифікується при нейробластомі, лімфомах та інших мезенхімальних або епітеліальних пухлинах. Слід додати, що деякі лімфоцити (лімфатичних вузлів і селезінки), кортикальні тимоцити, гранульозні клітини яєчника, клітини Лангерганса, клітини Сертолі та ендотеліальні клітини кровоносних судин дрібного калібру теж взаємодіють з MIC2. Для диференціального типування саркоми Юїнга використовують також моноклональні антитіла (мкАТ) до віментину, який є основним білком проміжних філаментів у клітинах мезенхімального походження і виявляється в пухлинних клітинах фібросаркоми, ангіосаркоми, хондросаркоми, злоякісної фіброзної гістіоцитомі, меланоми, шванноми і негоджкінських злоякісних лімфом. Ці пухлини характеризуються негативною реакцією з мкАТ до цитокератинів. На відміну від них саркома Юїнга взаємодіє з мкАТ до цитокератинів з низькою молекулярною масою (CAM 5,2). Можливість виявлення нейронспецифічної енолази — НСЕ-2-фосфо-1-гліцератгідролази (NSE) ґрунтується на нейроектодермальній природі пухлин сімейства Юїнга. Зокрема, в саркомі Юїнга НСЕ експресується майже в 60% клітин. МкАТ до антигену CD56 реагують в лімфоїдній тканині з природними кілерами. Крім того, як відомо, антиген CD56 (HNK-1) експресується в клітинних елементах нейроектодерми центральної і периферичної нервової системи,

клітинах передміхурової залози. Він візуалізується в гастроінтестинальних нейроендокринних клітинах, панкреатичних острівцевих клітинах, нирково-му епітелію. Крім вищевказаних маркерів для типування СЮ деякі автори використовують також мкАТ до PGP9.5, протеїну S-100 і нейрофіламентів (160 кД). Отже, наявні дані свідчать про те, що діагностичне типування пухлин сімейства Юїнга головним чином проводять на підставі імуногістохімічних методів [1, 3, 5–7, 13, 16, 17]. Класична діагностика саркоми Юїнга при застосуванні методу фарбування гематоксилином-еозином може призводити до помилок або до використання в патогістологічних висновках такого загального заключення, як «пухлина кістковомозкової природи». Дану проблему певною мірою дозволяє вирішувати комплексний підхід до діагностики: поєднання традиційного гістологічного та імуногістохімічного методів.

Метою даного дослідження стало вивчення діагностичних можливостей імуногістохімічних методів дослідження щодо адекватної морфологічної верифікації саркоми Юїнга. Ми намагалися провести ретроспективний аналіз історій хвороби і архівних гістологічних матеріалів, отриманих у хворих, які перебували на обстеженні і стаціонарному лікуванні в Інституті онкології АМН України (1986–1999рр.) з приводу саркоми Юїнга.

### ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

За допомогою ЕОМ проаналізували архівні історії хвороби 227 хворих на саркому Юїнга. З них у 70 хворих дітей та осіб молодого віку на депарафінованих зрізах провели імуногістохімічний аналіз зразків пухлинної тканини кісток і м'яких тканин (критерієм відбору пацієнтів була наявність не менш 3 парафінових блоків на одне дослідження). Вік пацієнтів складав від 1,1 до 27 років, середній — 14,5 року, співвідношення чоловіків і жінок — 1,3:1. Використовували парафінові зрізи пухлинної тканини кісток і м'яких тканин завтовшки 4 мкм, які досліджували з відповідними мкАТ до HNK-1 (S-100; NSE; HBA71; NF; PGP9.5; CAM5.2; P53; RB; RI; Vimentin; Desmin; Actin; TRK-A; Chromogranin; MYO-D; Myogenin; OS-Calcin; OS-Nectin; C-Erb-2; BCL-2; PCNA) фірм «ДАКО» (Данія), «Coulter / Immunothech» (США) і «PharMingen», «Becton Dickinson Company» (США), застосовуючи стандартний авідин-біотинний метод [6, 13]. Імуногістохімічні дослідження проводили у відділі патології медичного факультету Університету Валенсії згідно з україно-іспанським проектом.

Ядра дофарбовували гематоксилином або метиловим зеленим. При гістологічній та імуногістохімічній верифікації враховували стать і вік, клініко-анатомічні особливості пухлин сімейства Юїнга за класифікацією ВООЗ 1994 р. [7–9], зокрема клітинні варіанти саркоми Юїнга, PNET-ASKIN та інших пухлин (остеосаркоми, рабдоміосаркоми, хондросаркоми, нейробластоми та ін.). Брало до уваги також вторинні зміни в пухлинах (некроз, кро-

вовиливи, запалення), які призводять до помилок, оскільки такі вогнища з пошкоджених клітин можуть не зв'язуватись з імунокон'югатами або, навпаки, давати гіпернакопичення артефактної природи. Результати імуногістохімічних досліджень оцінювали за допомогою індексу імуноекспресії (ІЕ):

$$\text{ІЕ} = \text{кількість імунопозитивних клітин} \times 100/2000.$$

Отримані результати досліджень оброблені за допомогою методів варіаційно-статистичного аналізу.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За 14 років на обстеженні і лікуванні в дитячому відділенні та відділенні пухлин опорно-рухового апарату Інституту онкології АМН України перебували 227 хворих, серед яких у 191 хворого діагност саркоми Юїнга верифікований за допомогою гістологічного методу, у 31 пацієнта лікування проводили на підставі тільки цитологічного заключення і лише у 5 хворих діагност саркоми Юїнга встановлено за результатами клініко-рентгенологічного обстеження.

Виявлена тенденція до збільшення кількості хворих за роками, особливо у 1996 році (табл. 1). Нерідко час від появи перших клінічних симптомів захворювання і до встановлення кінцевого морфологічного діагнозу є тривалим, про що свідчить детальний аналіз історій хвороби 70 осіб з даною патологією: від 1 до 6 міс — у 80,4%, від 6 до 12 міс — у 12,9% і більше 1 року — у 6,7% пацієнтів. Отримані нами результати суттєво не відрізняються від даних інших авторів [4], згідно з якими ці показники складають відповідно від 1 до 6 міс — у 78%, від 6 до 12 міс — у 20% і більше 12 міс — у 2% хворих. Це безумовно свідчить про необхідність покращання діагностичних заходів, зокрема більш частого виконання біопсії [ 21].

Таблиця 1

Розподіл хворих на саркому Юїнга за роками

Рік	Кількість хворих	%
1986	9	4,0
1987	9	4,0
1988	13	5,7
1989	11	4,8
1990	12	5,3
1991	18	7,9
1992	13	5,7
1993	23	10,1
1994	17	7,5
1995	17	7,5
1996	26	11,5
1997	23	10,1
1998	19	8,4
1999	17	7,5
Всього	227	100

Морфологічну (гістологічну, цитологічну) діагностику групи дрібно-круглоклітинних пухлин, зокрема саркоми Юїнга та PNET, на рівні світлової мікроскопії проводять методом виключення, і лікар-патолог змушений дати загальне заключення «кістковомозкова пухлина» або помиляється при її конкретизації. На сучасному етапі розвитку онкоморфології вирішенню даної проблеми допомагають додаткові методи імуногістохімії.

Із загальної кількості пацієнтів 5 було виключено, оскільки у них діагноз саркоми Юїнга ґрунтувався на результатах тільки клініко-рентгенологічного дослідження. З 222 випадків, коли пухлини були верифіковані за допомогою гістологічного і цитологічного методів, було відібрано 70 парафінових блоків, якість яких і збереження морфологічної будови пухлин дозволяли провести імунофенотипування останніх (рисунок).

Ми провели розподіл пухлин сімейства Юїнга на типові і атипіві саркоми Юїнга, PNET-ASKIN-пухлини та провели диференціальну діагностику з остеосаркомами, альвеолярними рабдоміосаркомами, хондросаркомами, міксоїдними пухлинами та метастазами нейробластоми і карциноми.

Найбільш характерними для ідентифікації типової і атипіві саркоми Юїнга (38 пацієнтів) були три імуногістохімічні маркери – HBA-71, віментин і HCE. Серед них перше місце посідає HBA-71, який був позитивний у 36 (94,7%) хворих із саркомою Юїнга; ПЕ — від 57 до 75%, середнє значення —  $66 \pm 1,27\%$ . Віментин посідає друге місце, його ідентифікували у 33 (86,8%) пацієнтів із саркомою Юїнга; ПЕ — від 43 до 60%, середнє значення —  $51,5 \pm 12,46\%$ . Третє місце належить маркеру HCE: позитивний — у 26 (68,42%) пацієнтів; ПЕ — від 12 до 49%, середнє значення —  $30,5 \pm 9,5\%$ . Після нього йде PGP9.5, який був позитивним у 22 (57,9%) хворих, ПЕ — від 38 до 44%, середнє значення —  $41 \pm 5,7\%$ . Експресія HNK-1 була позитивна у 4 (10,5%) пацієнтів з типовою і атипіві саркомою Юїнга, а експресія протеїну S-100 відзначена у 9 (23,7%) хворих. У 12 хворих ідентифікована PNET-пухлина і у 1 пацієнта — ASKIN-пух-

лина. PNET-пухлини виявили позитивну реакцію при визначенні HBA-71, NSE, PGP9.5, віментину. Реакція на антиген CD99 (HBA-71) була позитивною у 8 (66,6%) пацієнтів з PNET, ПЕ — від 59 до 71%, середнє значення —  $65 \pm 4,47\%$ . Позитивний результат імуногістохімічної реакції на HCE був у 11 (91,6%) хворих, ПЕ — від 47 до 61%, середнє значення —  $54 \pm 6,35\%$ . Реакція на віментин і PGP9.5 була імунопозитивною в усіх 12 (100%) пухлинах, ПЕ та їх середнє значення відповідно становили: від 39 до 58% ( $48,5 \pm 4,1\%$ ) та від 50 до 65% ( $56,9 \pm 2,7\%$ ). Антитіла до білка S-100 взаємодіяли з пухлинною тканиною PNET у 10 (83,3%) зразках. Окрім вищезазначених клітинних маркерів, імунопозитивну реакцію спостерігали також при застосуванні мКАТ до антигену HNK-1 у 6 (50%) та TRK-A в 3 (25%) випадках. ASKIN-пухлина мала позитивну реакцію на HCE, HBA-71 і негативну реакцію на віментин.

У 3 пацієнтів діагностовано остеосаркому з позитивною реакцією на OS-нектин, OS-кальцин, віментин і негативну — на HCE і HBA-71. В 1 випадку виявлено хондросаркому, яка позитивно взаємодіяла з антитілами до HNK-1, S-100, віментину, OS-нектину, OS-кальцину і негативно — з мКАТ до HBA-71.

Верифіковано випадок альвеолярної рабдоміосаркоми на підставі позитивної імуногістохімічної реакції на HCE, актин, міогенін і негативної — на HNK-1, білок S-100, HBA-71, TRK-A і PGP9.5. Випадок міксоїдної пухлини відповідає позитивному фарбуванню тільки з антитілами до білка S-100 і віментину, а випадок хондросаркоми — з реагентами до OS-нектину, OS-кальцину, віментину, білка S-100 та HNK-1.

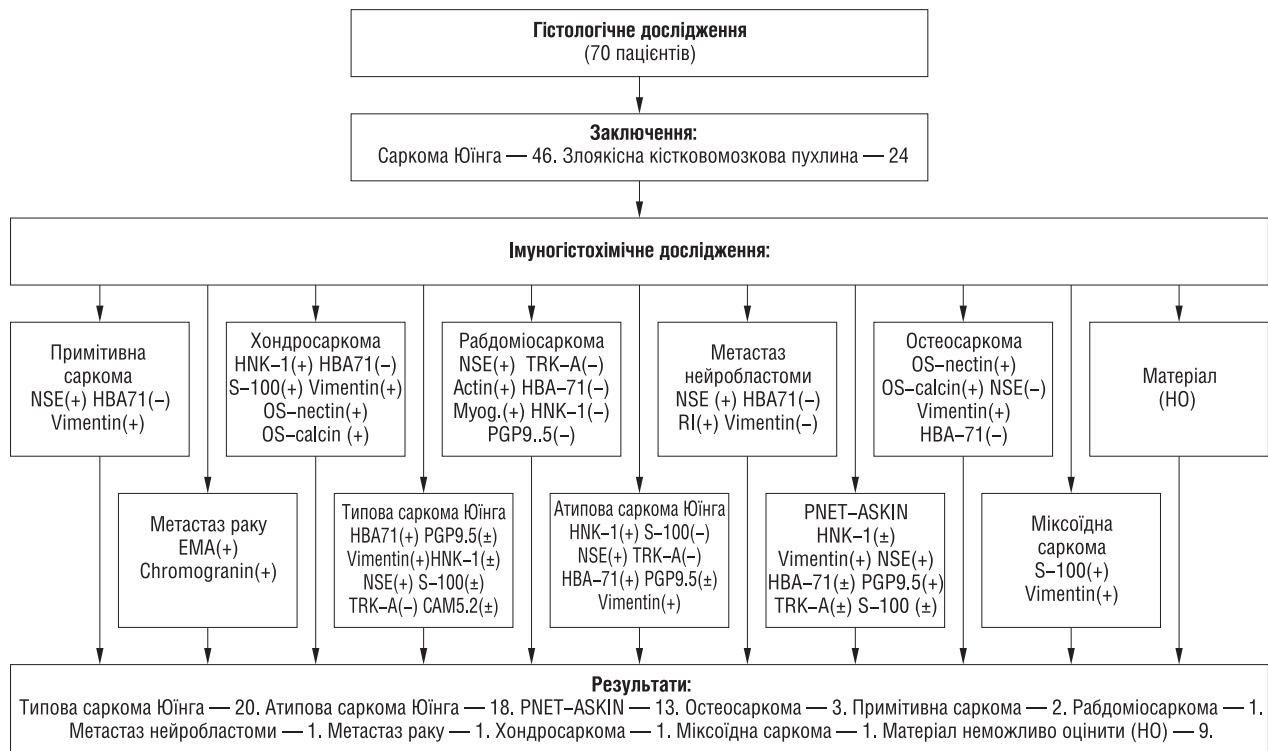


Рисунок. Результати комбінованого гістологічного та імуногістохімічного дослідження пухлин сімейства Юїнга

мінувала сама важка топографічна форма — тазова з переважним ураженням клубової кістки, що погіршує прогноз хвороби (табл. 3).

Таблиця 3

Топографія уражень кісток скелета пухлинами сімейства Юїнга

Місце ураження	Кількість хворих
Кістки таза	13
клубова	8
лобкова	3
клубова+сіднична	1
клубова+сіднична+лобкова	1
Стегна	10
Малогомілкова	9
Великогомілкова	7
Плечова	6
Ребро	3
Літьова	2
Променева	1
Загальна кількість хворих	51

Заслуговує на увагу ідентифікований нами TRK-A (тирозинкіназний рецептор), який виявили у 25% випадків PNET, що є рецептором інсуліноподібного фактора росту II (IGF-II), який сприяє проліферації, диференціації та підтриманню трофіки нейронів. За даними інших авторів, експресія TRK-A виявлена у гангліомах та нейробластомах [14, 20]. У наших дослідженнях цей маркер не проявив себе (негативний результат), його можна додатково застосовувати для розмежування саркоми Юїнга з PNET і нейробластомою.

Дослідження диференційованих маркерів клітин ендотелію дало негативні результати. Унікальним за своєю специфічністю виявився клітинний поверхневий маркер MIC2 (CD99) для діагностики саркоми Юїнга і периферичних нейроепітеліом. Епітопи антигену MIC2 розпізнаються моноклональними антитілами HBA-71, 013, 12 E7, які вперше були отримані до лінії Т-клітинної лейкемії, і незважаючи на перехресну реактивність з лімфоїдними клітинами, за результатами імуногістохімічних досліджень виявлено високу чутливість цього маркера при саркомі Юїнга та PNET (більше 90%) [21]. Про гістогенетичну спорідненість саркоми Юїнга та PNET-пухлин свідчить наявність ідентичної транслокації t (11; 22) (q24; q12), яка виявлена в лініях пухлинних клітин при цитогенетичних дослідженнях [5, 16, 21].

Отримані результати підтверджують загальновідому тезу про гістогенетичне нейроектодермальне походження саркоми Юїнга, що має практичне значення для прогнозу подальшого перебігу хвороби. Найбільш інформативним виявився маркер MIC2, який має пріоритетне значення в діагностиці саркоми Юїнга і PNET-пухлин. У проведеному дослідженні він позитивно реагував як при типових, так і атипівих формах саркоми Юїнга і PNET. Для їх типування доцільним є застосування також мкАТ до таких маркерів, як HBA-71, NSE, віментин, HNK-1, білок S-100, PGP9.5. Додатково для проведення диференціальної діагностики саркоми Юїнга і PNET та інших дрібно-круглоклітинних неоплазм необхідно застосовувати антитіла до таких маркерів: TRK-A, OS-нектину, OS-кальцину, актину, міогену

Діагностовано метастаз нейробластоми, яка вогнищами мала позитивну реакцію на НСЕ і негативну — на HBA-71 та при визначенні  $\beta_2$ -мікроглобуліну (RI). В 1 хворій внаслідок позитивної реакції з мкАТ до ЕМА (антиген епітеліальних мембран) виявлено метастаз карциноми. У 9 випадках матеріал не піддавався остаточній імуногістохімічній оцінці.

У хворих з типовими та атипівими формами саркоми Юїнга, PNET-ASKIN-пухлинами проведено додатковий аналіз за віком та статтю (табл. 2).

Таблиця 2

Характеристика груп хворих із пухлинами сімейства Юїнга

Імуногістохімічний діагноз	Кількість хворих		Межі коливання віку (роки)				Середній вік (роки)	
	Чоловіків	Жінок	Чоловіків		Жінок		Чоловіків	Жінок
			min	max	min	max		
Саркома Юїнга (типіві і атипіві форми)	23	15	5,5	18	6	25	11,8 ± 0,7	13,7 ± 1,4
PNET-ASKIN-пухлина	9	4	6	21	2,8	15	11,9 ± 1,6	7,7 ± 2,6

Співставляючи отримані результати з даними імуногістохімічних досліджень, які були проведені іншими авторами, слід зазначити, що саркома Юїнга, віментин належать до інтермедіальних філаментів, які містяться в усіх мезенхімальних клітинах [18]. Відсутність клітинної маркерної специфічності для саркоми Юїнга була встановлена R. Moll та співавторами [18], які відзначили, що саркома Юїнга містить десмосомальні білки, а також цитокератини, що знаходяться в звичайному епітелії. Моніторинг випадків пухлин сімейства Юїнга, проведений іншими дослідниками, також показав, що в окремо розташованих групах та в поодиноких клітинах спостерігається експресія нейрофіламентів, що вказує на походження саркоми Юїнга з плюрипотентних клітин, тобто здатних різних типів клітин, до диференціювання [19]. Цю концепцію підтверджують дані наших спостережень, які свідчать, що пухлини сімейства Юїнга і PNET, зокрема деякі клітини їх атипівих форм, проявляють м'язову диференціацію, на що вказують актинпозитивні випадки 5 (13,2%) і результати досліджень [10, 22], згідно з якими окремі периферичні нейроепітеліоми (PNET) були десмінні актинпозитивні, гіпотетично виявляючи міогенну диференціацію нейральних клітин. Деякі автори повідомляють про цитокератинпозитивні випадки захворювання [5, 10]. Саркома Юїнга експресує такі нейропротейни, як NSE, PGP9.5, Leu-7 [5, 15, 24], що співпадає і з отриманими нами результатами. Наявність даних маркерів є поганою прогностичною ознакою [11], але цю точку зору поділяли не всі фахівці. Наприклад, у дослідженнях, проведених D. Schmidt та співавторами [23], встановлено, що поганою прогностичною ознакою є наявність не окремих (наприклад, NSE), а множинних нейрогенних маркерів. Для прогнозування перебігу захворювання у пацієнтів із саркомою Юїнга має також значення локалізація первинного пухлинного вогнища. За нашими даними, до-

ніну,  $\beta_2$ -мікроглобуліну (RI) та ЕМА. Використання тільки гістологічного методу не дає змоги об'єктивно діагностувати на належному рівні всі дрібно-круглоклітинні пухлини кісток і м'яких тканин, зокрема саркоми Юїнга. Це, як було зазначено вище, обумовлено гетерогенністю їх гістогенезу. Використання імуногістохімічного методу і великого спектра мкАТ дає змогу ідентифікувати і визначити саркому Юїнга, PNET-ASKIN-пухлини, проводити диференціальну діагностику і діагностувати остеосаркому, хондросаркому, рабдоміосаркому, міксоїдну пухлину, а також виявляти метастази нейробластоми і карциноми. Слід підкреслити, що імуноטיפування пухлин сімейства Юїнга доцільно проводити після гістологічного дослідження, яке об'єктивно свідчить про дрібно-круглоклітинну та мікроскопічну будову пухлинних клітин кісток і м'яких тканин.

### ЛІТЕРАТУРА

1. **Абраменко ИВ.** Гистогенетические принципы иммунологической диагностики опухолей у детей. В: Материалы научно-практического семинара «Актуальные вопросы детской онкологии». Київ, 1998: 46.
2. **Абрам'юк АМ, Дробченко ЛК, Стадник ЗМ, Щуровський ОМ.** Саркома Юїнга у дітей: діагностична цінність рентгенологічного та КТ обстежень В: Променева діагностика, променева терапія. Київ: Наук думка, 2000: 62.
3. **Глузман ДФ, Абраменко ИВ, Гольдшмид БЯ, Юрченко ОВ.** Антигены клеток опухолей как маркеры в диагностических иммуногистохимических исследованиях. Эксперим онкол 1993; **15** (2): 9–18.
4. **Дурнов ЛА, Кошечкина НА, Колесник ЕВ.** Рентгенологическая диагностика злокачественных опухолей костей таза у детей. Вопр онкол 2000; **46** (4): 410–4.
5. **Лломбарт-Бош А, Карда К, Педро-Олайя А.** Биопатология саркомы Юинга. Арх патологии 1994; **56** (6): 37–44.
6. **Пинчук ВГ, Глузман ДФ, Надгорная ВА и др.** Иммуноцитохимия и моноклональные антитела в онкогематологии. Киев: Наук думка, 1990. 323 с.
7. **Смирнов АВ, Соловьев ЮН.** Периферические нейроэктодермальные опухоли мягких тканей и костей. Арх патологии 1995; **57** (1): 16–22.
8. **Соловьев ЮН.** Новые нозологические формы в классификации опухолей костей. Арх патологии 1998; **60** (4): 57–61.
9. **Соловьев ЮН.** Опухоли костей. В: Патологоанатомическая диагностика опухолей человека. Под ред НА Краевского, АВ Смольяникова, ДС Саркисова. Москва: Медицина, 1993; **2**: 482–523.
10. **Daugaard S, Kamy C, Sunde LM, et al.** Ewing's sarcoma. A retrospective study of histological and immunohistochemical factors and their relation to prognosis. Virchows Arch Pathol 1989; **414**: 243–51.
11. **Hartman KR, Triche TJ, Kinsella TJ, Miser JS.** Prognostic value of histopathology in Ewing's sarcoma. Long-term follow-up of distal extremity primary tumors. Cancer 1991; **67**: 163–71.
12. **Holcombe EG.** The Ewing family of tumors (Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumors). Pediat Clin North Amer 1997; **44**: 991–1004.
13. **Hus SM, Raine L.** The use of avidin - biotin - peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques In: Advances in Immunohistochemistry. Ed by RA Lellis. Masson. Publ. USA; 1984: 31–42.
14. **Kim CJ, Chi JG, Thiele CJ.** Insulin-like growth factor-II expression is down-regulated in TrkA-transfected SK-N-AS neuroblastoma cells. Lab Invest 1999; **79**: 1007–13.
15. **Llombart-Bosch A, Lacombe MJ, Peydro-Olaya A, et al.** Malignant peripheral neuroectodermal tumors of bone other than Askin's neoplasms: characterization of 14 new cases with immunohistochemistry and electron microscopy. Virchows Arch Pathol 1988; **412**: 421–30.
16. **Mastic MF, Molenaar WM, Plaat BE, et al.** Translocation (11;22) (g24; g12) in a small tumor of the thigh in a 2-year-old boy: immunohistology, cytogenetics, molecular genetics and review of the literature. Human Pathol 1999; **30**: 352–5.
17. **Molenaar WM, Muntinghe FL.** Expression of neural cell adhesion molecules and neurofilament protein isoforms in Ewing's sarcoma of bone and soft tissue sarcomas other than rhabdomyosarcoma. Human Pathol 1999; **30**: 1207–12.
18. **Moll R, Lee I, Gould VE, et al.** Immunocytochemical analysis of Ewing's tumors. Patterns of expressions of intermediate filaments and desmosomal proteins indicate cell type heterogeneity and pluripotential differentiation. Am J Pathol 1987; **127**: 288–304.
19. **Moore KL.** Developing Human: Clinically Oriented Embryology. 4th ed Philadelphia: WB Saunders; 1988: 364–401.
20. **Nishio S, Morioka T, Hamada Y, et al.** Immunohistochemical expression of tyrosine kinase (Trk) receptor proteins in mature neuronal cell tumors of the central nervous system. Clin Neuro-pathol 1998; **17**: 123–30.
21. **Parham D.M.** Pediatric neoplasia: morphology and biology. Philadelphia-New York: Lippincott-Raven Publishers, 1996; 554 p.
22. **Parham DM, Dias P, Kelly DR, et al.** Desmin positivity in primitive neuroectodermal tumor of childhood. Am J Surg Pathol 1992; **16**: 483–492.
23. **Schmidt D, Hermann C, Jurgens, et al.** Malignant peripheral neuroectodermal tumor and its necessary distinction from Ewing's sarcoma: A report from the Kiel Pediatric Tumor Registry. Cancer 1991; **68**: 2251–9.
24. **Steiner GC.** Neuroectodermal tumor versus Ewing's sarcoma-immunohistochemical and electron microscopic observations. Curr Top Pathol 1989; **80**: 1–29.

### DIFFERENTIAL IMMUNOHISTOCHEMICAL DIAGNOSIS OF THE EWING FAMILY'S MALIGNANT TUMORS

*K.O. Galakhin, A. Llombart-Bosch, M.M. Melnyk, E.M. Kovaltshuk, I.O. Ponomaryov*

**Summary.** *The Ewing family tumors (Ewing's sarcoma and PNET) are a small cell, round cell tumors of bone and soft tissues, which form a heterogenous group of neoplasms in children and teenagers, among which Ewing's sarcoma occupies a leading role. The use of immunohistochemical studies, taking into consideration the histology of tumors in 70 patients with bone and soft tissue tumors enabled determination of typical Ewing's sarcoma (38 patients), PNET-ASKIN tumors (13), differential diagnosis and establishing osteosarcoma (5), hondrosarcoma (1), identification of rhabdomyosarcoma (1), mixoid tumor (1), neuroblastoma metastasis (1), those of carcinoma (1), non-indicative material (9). The most informative was moab to HBA-71 marker. Which held a key place in the diagnosis of Ewing's sarcoma and PNET tumors. For their typing it is also advisable to use the antibodies to such markers as OS-NECTIN, OS-CALCIN, MYOGENIN,  $\beta_2$ -microglobulin and endothelial membrane antigen.*

**Key Words:** immunohistochemistry, diagnosis, Ewing's family of tumors.