

## OSTEOSARKOMALAR ZAMANI AXICI SİTOMETRİK PARAMETRLƏRİN TƏYİNİ

<sup>1</sup>Muradov H.K., <sup>2</sup>Hüseynov E.R., <sup>1</sup>İbrahimova F.H., <sup>3</sup>Zeynalova N.H.

<sup>1</sup>Azərbaycan Tibb Universiteti. Histologiya, embriologiya və sitologiya kafedrası. Bakı, Azərbaycan

<sup>2</sup>Azərbaycan Tibb Universiteti. Onkologiya kafedrası. Bakı, Azərbaycan

<sup>3</sup>Milli Onkologiya Mərkəzi. Bakı, Azərbaycan

**Nəşr tarixi:** Dekabr 2019

**\*Əlaqə üçün məlumatlar:** AZ 1022, Bakı; Bakixanov küç., 23; e-mail: habilmuradov mail@ru

Tədqiqatın məqsədi. Osteosarkomalar zamanı axıcı sitofluorimetrik müayinələrin aparılması.

Tədqiqatın material və metodları. Tədqiqat qrupunda osteosarkomalı xəstələrin axıcı-sitometrik müayinəsini 96 xəstə təşkil etmişdir. Osteosarkoma daha çox qamış sümüyünün metafizin, distal hissəsində, incik sümüyünün proksimal hissəsində, çiyin sümüyün proksimal hissəsində lokallaşmışdır. DNT tədqiqi FACSCAN (Becton Dickinson, USA) axıcı sitofluorimetridə aparılmışdır.

Nəticələr. Axıcı-sitometrik cəhətdən bütün populyasiya çox klonlu olmuşdur, populyasiyada aneuploid hüceyrələrin xeyli miqdarı (53%) və yüksək DNT indeksinin (2,5%) səviyyəsi ilə xarakterizə olunmuşdur. Osteosarkomada əsas terapiya radikal cərrahi müdaxilədən ibarətdir, əlavə kimyəvi terapiya kliniki qeyd olunmayan metastazların qarşısını almaq məqsədi güdür. Osteosarkoma zamanı proqnoz neqativdir və 5-illik yaşama müddəti 18,5% təşkil etmişdir.

**Açar sözlər:** Sitofluorimetriya, osteosarkoma, aneuploidizm

## DESCRIPTION OF FLOW CYTOMETRIC PARAMETERS ON OSTEOSARCOMAS

<sup>1</sup>Muradov H.K., <sup>2</sup>Huseynov E.R., <sup>1</sup>Ibrahimova F.H., <sup>3</sup>Zeynalova N.H.

<sup>1</sup>Azerbaijan Medical University. Department of Histology, Embryology and Cytology. Baku. Azerbaijan

<sup>2</sup>Azerbaijan Medical University. Department of Oncology. Baku. Azerbaijan

<sup>3</sup>National Center of Oncology. Baku. Azerbaijan

**Publication date:** December 2019

**\*Contact information:** AZ 1022, Baku, Bakihanov street 23; e-mail: habilmuradov mail@ru

The purpose of the study. Providing of flow cytometric investigations on osteosarcomas

Material and methods. The study group consisted of patients with fluid-cytometric examination of 96 osteosarcoma patients. The DNA study was carried out on the flow cytometry of FACSCAN (Becton Dickinson, USA).

Results of research. From the fluid-cytometric point of view, the entire population was very cloned and characterized by a significant amount of aneuploidal cells (53%) and a high DNA index (2.5%) in the population. The prognosis for osteosarcoma is negative and the 5-year survival rate is 18.5%.

**Key words:** Flow cytometry, osteosarcoma, aneuploidism

**Giriş.** Son illərdə şişlərin sitomorfoloqiyasının inkişafı yeni metodik yanaşmalarla bağlıdır. Bu yanaşmalar xüsusilə, kəmiyyət müayinə metodların imkanları ilə (morfometriya, axıcı sitometriya, skanlaşma mikrofotometriya üsulları ilə) əlaqəlidir [1,4].

Sümük patologiyasında axıcı sitome-

triyaya aid işlər yalnız xarici və tək-tək vətən alimləri tərəfindən aparılmışdır [3,4, 5,7,9]. Bu metod proliferasiya dərəcəsinin dəqiqləşdirilməsi; atipik və normal mitozların təyini, sümük patologiyasının bəzi morfoloji variantlarında sitoloji diaqnostikanın yaxşılaşdırılması üçün həlledici qabiliyyətli metodlardan hesab olunur [6].

Həmçinin sümük şişləri zamanı hüceyrə atipizminin erkən diaqnostikası və differensiasiya dərəcəsinin təyini bu metodun orqanizmin molekulyar genetik səviyyədə imkanlarından xəbər verir (2,8). Tədqiqat üçün zəruri olan avadanlığın tam olmaması və yalnız böyük tibb mərkəzlərdə olan cihazların xeyli dəyəri bizim respublikada bu barədə az saylı nəşirlərə səbəb olmuşdur.

Ona görə də ploidliliyi, proliferativ fəaliyyəti, hüceyrələrin heteroqenliyini və aneuploidliyanı dəqiq təyin etməyə imkan verən bu metodun əhəmiyyətini nəzərə alaraq, biz ənənəvi travial morfoloji metodlarla yanaşı olaraq sümük yenitörəmələrinin axıcı sitofluorimetrik xarakteristikasının ətraflı öyrənilməsinə lazımı hesab etdik.

**Tədqiqatın məqsədi:** Osteosarkomalar zamanı axıcı sitofluorimetrik müayinələrin aparılması.

**Material və metodları** Tədqiqat qrupunda osteosarkomalı xəstələrin axıcı-sitometrik müayinəsini 96 xəstə təşkil etmişdir. Osteosarkoma daha çox qamış sümüyünün metafizin, distal hissəsində, incik sümüyünün proksimal hissəsində, çiyin sümüyünün proksimal hissəsində lokallaşmışdır. DNT tədqiqi FACSCAN (Becton Dickinson, USA) axıcı sitofluomet- rində aparılmışdır.

Optik detektorların siqnailləri displeyin ekranında dəyişir və DNT miqdarı fluoressensiya dərəcəsindən asılı olaraq histoqram şəklində aşağıda təqdim edilən prinsiplə yazılır: hüceyrələrdə DNT səviyyəsi nə qədər çox olarsa, impuls da o qədər güclü olur və absis oxunun yazısı bir o qədər uzağa çəkilir. Ordinat oxunda kanala impulsların sayı qeyd edilir: yəni hər hansı bir nöqtədə əyri yuxarıda olsa, bu həmin sahədə DNT-nin müvafiq miqdarı olan hüceyrələrin bir yerə toplandığına dəlalət edir.

**Tədqiqatın nəticələri və onların müzakirəsi.**

Tədqiqat materialının ümumi miqdarından (96 müşahidə – 100%) 21 müşahidə (21,9%) yenidən götürülmüş toxumalardan, 75 müşahidə isə (78,1%) parafin bloklardan hazırlanmışdır.

Hüceyrələrin nüvələrində DNT səviyyəsinə görə osteosarkomalar variantlarının böyük müxtəlifliyi ilə xarakterizə olunurlar. Osteosarkoma variantları ayrı-ayrı müşahidədə istər hüceyrələrin üstünlüyünü təşkil edən sinfin ploidlilik səviyyəsinə görə, istərsə də hüceyrə populyasiyanın müxtəlif heteroqenlik səviyyəsinə görə bir birindən fərqlənirlər.

Tədqiqatımızda modal sinif aşkarlanmayıb və bütün populyasiya çoxklonludur. Tetraploid DNT səviyyəsi olan hüceyrələr nisbətən çoxdur (19,0%). Həmçinin diploid (5,8%) və triploid (17,9%) DNT səviyyəli hüceyrələr də aşkar edilmişdir. Yerdə qalan hüceyrələr aşağıdakı şəkildə bölünmüşdür: DNT hipoploid səviyyəli hüceyrələr 7,8% təşkil etmişdir. Aneuploid səviyyəsi ilə – beş ploidlilik hüceyrələr – 10,1%, altı ploidlilik hüceyrələr – 11,2%, yeddi ploidlilik hüceyrələr – 6,8%, səkkiz ploidlilik hüceyrələr 8,8%, doqquz ploidlilik hüceyrələr – 3,8%, on ploidlilik hüceyrələr – 5,4% təşkil etmişdir. Osteosarkomada DNT səviyyəsinə görə hüceyrələrin heteroqenliyi çox yüksəkdir: 12, 14, 16, 19 c ploidlilik hüceyrələrə də rast gəlinir. Qeyd edilən hüceyrələr ümumi hüceyrə tərkibinin hansı müvafiq olaraq 1,5%, 0,6%, 0,7%, 0,6% təşkil edir.

Hüceyrə populyasiya sinifinin üstünlüyünə həmçinin DNT səviyyəsinin hüceyrə heteroqenliyinə görə biz xəstələri 4 qrupa qruplaşdırmışıq. Birinci qrupu 29 xəstə (1-29 müşahidə) təşkil etmişdir. Bu qrupu DNT səviyyəsinin histoqramasında DNT diploid səviyyəsi olan xəstələr təşkil etmişdir – 50,0%. DNT hipoploid səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr 12,4%, triploid dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 1, 9%, tetraploid dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr –

rələr – 18,6% təşkil etmişdir. Birinci qrupda nisbətən az faizə malik hüceyrələr aşağıdakı kimi bölünmüşdür: beş plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 8,1%, altı plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 1,9%, yeddi plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 2,8%, səkkiz plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 3,5% və aneuploidli doqquz plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 0, 8% təşkil etmişlər.

Osteosarkomaların ikinci qrupunu 27 xəstə (30-56 müşahidə) təşkil etmişdir. Bu qrup xəstələr üçün histogramasında DNT triploid səviyyəsi üstünlük təşkil edən hüceyrələr (50,0%) xarakter idi. Birinci qrup ilə müqayisədə burada DNT diploid (12,0%) və hipoploid (1,6%) səviyyəli hüceyrələrin sayı azalır. DNT tetraploid səviyyəli hüceyrələr 2,5% təşkil etmişlər. Eyni zamanda poliploid hüceyrələrin nisbi sayı artmışdır: beş plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 15,8%, altı plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 5,8%, yeddi plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 7,5%. Həmçinin DNT aneuploid səviyyəsi olan hüceyrələr aşkarlanmışdır: səkkiz plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 3,8%, doqquz plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr – 1,0% civarında qeydə alınmışlar.

Üçüncü qrupu osteosarkomalı 45 xəstə (57-101 müşahidələr) təşkil etmişdir. Bu qrupun hüceyrələrin histogramasında DNT tetraploid səviyyəsi üstünlük təşkil etmiş və hüceyrə populyasiyanın 48,9% civarında aşkar edilmişlər. Diploidli hüceyrələrin sayı 11,6% olmuşdur. Aneuploid hüceyrələrin miqdarı nisbətən yüksəkdir: altı-, səkkiz-, doqquz-, on plodli DNT səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr müvafiq olaraq hüceyrə populyasiyanın 25,5%, 10,5%, 1,8%, 1,7% təşkil etmişdir.

Dördüncü qrup ən böyük qrupdur. Ona 67 xəstə (102-168 müşahidələr) daxil

olmuşdur. Bu qrup xəstələrin DNT səviyyəsinin histogramalarda hüceyrələrin modal sinifini aid etmək mümkün deyil. Tetra (16, 0%) və səkkiz plodli (16, 0%) hüceyrələr üstünlük təşkil etmişlər. Hüceyrə populyasiyasında əhəmiyyətli faiz DNT aneuploid səviyyəli hüceyrələr təşkil etmişlər: beş-, altı-, yeddi-, doqquz-, on-, on iki-, on dörd-, on doqquz- plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələrin sayı müvafiq olaraq 7,7%, 11,8%, 7,8%, 2,2%, 4,9%, 3,8%, 1,6%, 2,0%, 1,5% olmuşdur. IV qrup xəstələrin histogramasında hipoploid (10,2%) və triploid (12,5%) plodli dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr də müəyyən edilmişdir. Həmçinin plodli DNT səviyyəsi 16c aşkar edilən hüceyrələr də aşkar edilmişdir ki, ümumi hüceyrə qrupları arasında onlar təqribən 2,0% təşkil etmişdir. Tədqiqatlarımızla müəyyən etmişik ki, IV qrup osteosarkomalı xəstələrin histogramaları digər qruplarla müqayisədə aydın ifadə edilmiş hüceyrə pikinin olmaması, DNT səviyyəsinə görə hüceyrələrin çox yüksək plodliyi və onların heteroqenliyi ilə xarakterizə olunurlar.

Osteosarkomalarda G0/1 fazada olan hüceyrələrin miqları azalmışdır-70,0%, eyni zamanda proliferasiya edən hüceyrələrin sayı S fazada təxminən 4 dəfə – 15,5%, G2+M fazada – təxminən 14,5 dəfə artmışdır. Proliferasiya indeksi 26% təşkil etmişdir.

Bu patologiyada DNT indeksi 2,5% təşkil etmişdir. Osteosarkoma zamanı aneuploid hüceyrələr şişin bütün hüceyrələrin kütləsinin orta hesabla 53% təşkil edir.

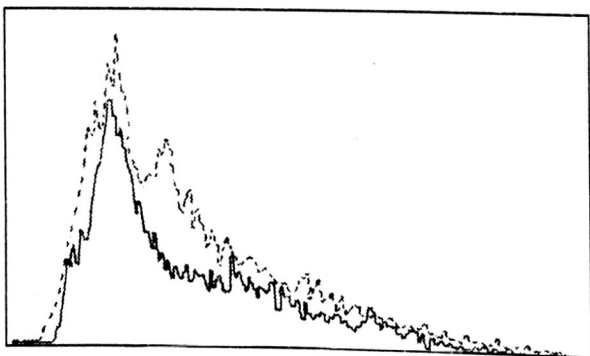
Tədqiq etdiyimiz osteosarkomalı xəstələrin sitoloji və axıcı sitometrik göstəricilərinin qarşılıqlı korrelyasion əlaqələrinin müqayisəsi nəticəsində aşkar olmuşdur ki, sitoloji görüntülərdə monomorf quruluşlu osteosarkomalar axıcı sitometrik olaraq plodlik səviyyəsi çox da yüksək olmayan histogrammalarla xarakterizə olunurlar. Hüceyrələrində kəskin po-

limorfizim müşahidə olunan osteosark-oma variantına, DNT səviyyəsinə görə hüceyrələrin heteroqenliyi və aneuploidiyanın spektri olduqca geniş olan (II-III qruplar), histogramlarda zirvənin kəskin ifadə edil-məsi fərqlənən müşahidələr aiddir. Osteosarkomaların qarışıq sitoloji variantına isə əsasən IV qrup xəstələrin histogramaları uyğun gəlir.

Tədqiqatımızda biz habelə «DNT indeksinin» göstəricilərini də tədqiq etmişik. Müəyyən edilmişdir ki, I qrup xəstələrdə (1-29 müşahidələr) hüceyrə populyasiyasında DNT diploid səviyyəsi üstünlük təşkil edən hüceyrələr aşkar edilir. «DNT indeksin» miqdarı 1,1- dən 1,8 qədər şərti vahid civarında dəyişir. Hüceyrə populyasiyada yüksək faizi (25% və artıq) DNT aneuploid səviyyəsi dnt səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr təşkil edir.

II qrupun xəstələrində (30-56 müşahidələr) hüceyrə populyasiyasında DNT triploid səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələr üstünlük təşkil etmişdir. «DNT indeksin» miqdarı 2,0-dən 2,5- qədər şərti vahid civarında dəyişilir. Bu müşahidələrdə 75% hüceyrələrdə DNT aneuploid səviyyəsi qeydə alınmışdır.

III qrupda (57-101 müşahidələr) dnt tetraploid səviyyəsi aşkar edilən hüceyrələrin üstünlük təşkil edir. «DNT indeksin» miqdarı 2,1-dən 2,8-qədər şərti vahid civarında dəyişir. Bu xəstələrin hüceyrə populyasiyasında bir çox hüceyrələr (45%) DNT aneuploidiya səviyyəsi ilə xarakterizə olunmuşlar.



Şəkil .Osteosarkomalar zamanı summar histogram

IV qrupun osteosarkomalı xəstələri (102-168 müşahidələr) ən yüksək ploidik, heteroqenlik və hüceyrələrin aneuploidiyası, dnt

yüksək səviyyəsi, habelə «DNT indeksinin» ən yüksək göstəriciləri ilə (2,0-dən 4,4 qədər şərti vahid civarında) xarakterizə olunurlar. Bu müşahidələrdə hüceyrələrin 70% miqdarı DNT aneuploid səviyyəsinə malik olmuşlar.

**Yekun.** Axıçı-sitometrik cəhətdən bütün populyasiya çox klonlu olmuşdur, populyasiyada aneuploid hüceyrələrin xeyli miqdarı (53%) və yüksək DNT indleksinin (2,5%) səviyyəsi ilə xarakterizə olunmuşdur. Osteosarkomada əsas terapiya radikal cərrahi müdaxilədən ibarətdir, əlavə kimyəvi terapiya kliniki qeyd olunmayan metastazların qarşısını almaq məqsədi güdür. Osteosarkoma zamanı proqnoz neqativdir və 5-illik yaşama müddəti 18,5% təşkil etmişdir. Alınmış faktiki material sübut edir ki, osteosarkomaların histogenetik mənbəyinin təyini, yalnız bütün şiş hüceyrələrin spesifikasını maksimal əks etdirən kompleks əlamətlərin analizi əsasında mümkündür, bu patologiyanın diaqnostika və proqnozlaşdırması məhz göstərilən parametrlər civarında məqsədəuyğun sayıla bilər.

**Maliyyə mənbəyi:** Bu iş Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişaf Fondunun maliyyə yardımı ilə yerinə yetirilmişdir. Q.RANT № EIF-KETPL-2- 2015-1(25)-56/34/3-M-04

**Maraqların toqquşması:** Yoxdur.

#### Ədəbiyyat siyahısı.

1. Əmiraslanov Ə.T., Qaziyev A.Y. Onkologiya. Bakı, 2008; 478.
2. Богатырев В.Н., Мачак Г.Н., Соколова В.К., Ситюков П.А. Значение ДНК-проточной цитофлуориметрии для прогнозирования безметастатической выживаемости у больных остеосаркомой / Материалы 5 Всероссийского съезда онкологов «Высокие технологии в онкологии». Казань, 2007; 1: 343-345.
3. Кочергина Н.В., Зимина О.Г., Мачак Г.Н., Лукьянченко А.Б. Диагностика остеосарком костей // Медицинская визуализация, 2009; 1: 98-105.

4. *Муратов Х.К.* Клиническая значимость проточно-цитометрических исследований при остеосаркомах / Professor В.М. Mahmudbəyovun 100 illik yubileyinə həsr olunmuş elmi-təcrübi konfransın elmi işlärtoplusu. Bakı, 2002; 46-47.
5. *Муратов Х.К.* Проточно-цитометрическая идентификация доброкачественных и злокачественных костеобразующих опухолей / Материалы III съезда онкологов радиологов СНГ. Минск, 2014; 313.
6. *Donati D., Giacomini S., Gozzi E. et al.* Osteosarcoma of the pelvis // *Eur. J. Surg. Oncol.*, 2014; 30: 332-340.
7. *Ham S., Kroon H., Koops H., Hoekstra H.* Osteosarcoma of the pelvis: oncological results of 40 patients registered by The Netherlands Committee on Bone Tumours // *Eur. J. Surg. Oncol.*, 2010; 26 (1): 53-60.
8. *Lucas D., Dhillon J., Ryan J.* Intraoperative cytology of bone and soft tissue tumors // *Akta Cytol.*, 2016; 40(5): 1090-1091
9. *Wines A., Bonar F., Lam P. et al.* Telangiectatic dedifferentiation of a parosteal osteosarcoma // *Skeletal Radiol.*, 2010; 29: 597-600.