

Прогностическое значение рецептора ангиогенеза (CD-31) при серозной и муцинозной цистаденокарциномы яичников

Мурадов Х.К.¹, Намазов Ф.Р.², Ибрагимова Ф.Х.¹, Мурадова С.Р.³

¹Кафедра гистологии, ²кафедра онкологии, ³кафедра внутренних болезней II Азербайджанского медицинского университета². Баку. Азербайджан

Дата публикации: май 2019

*Адреса для переписки: Адрес: AZ 1022, ул. Бакыханова, 23, e-mail: habilmuradov mail@ru

Цель исследования. Изучение взаимосвязи между ангиогенезом и прогнозом при серозной и муцинозной цистаденокарциномах яичников.

Материал и методы. Учитывая специфику исследования, нами был использован комплекс светооптических и гистохимических методов анализа материалов. Для иммуногистохимического исследования материал, который был заморожен в жидком азоте, из которого были сделаны секции криостата, затем фиксировали в ацетоне, а также материал парафиновых блоков, зафиксированных в 10% формалине. Соответствующие срезы (7,0–10,0 мкм) обрабатывали стандартным набором авидин-биотиновой реакции с использованием мышинных моноклональных антител к рецептору ангиогенеза (CD31) (DAKO, Франция).

Результаты исследования. Всего 96 пациентов с диагнозом серозная и слизистая цистаденокарцинома яичника были обобщены и проанализированы. Выраженная активность стромальных элементов при серозной цистаденокарциноме составила $27,8 \pm 6,1\%$ случаев; при муцинозной цистаденокарциноме выраженная активность наблюдалась более чем в половине случаев. Напротив, низкая активность рецептора ангиогенеза (CD31) преобладает при серозных цистаденокарциномах яичников ($p < 0,05$).

Ключевые слова: серозные и слизистые цистаденокарциномы, развитие кровеносных сосудов. иммуногистохимические исследования.

Стремительное развитие в 80-90-х годах XX века наших знаний о природе злокачественного роста обусловило определенные успехи в диагностике и терапии новообразований человека (2). Диагноз злокачественной опухоли в настоящее время обуславливается на комплексном клинико-морфологическом анализе с привлечением, при необходимости, результатов дополнительных молекулярно-биологических методов исследования, в том числе иммуногистохимии (5).

Большие перспективы открылись в связи с созданием методов получения моноклональных антител с помощью гибридов. Моноклональные антитела позволяют обнаружить самые незначительные антигенные различия между клетками (в одну детерминанту) и давать их количественную оценку (7,9). Они обладают абсолютной специфичностью и стандартностью, могут быть получены в больших количествах и в любое время, так как продуцирующие их клеточные линии можно законсервировать на неопределенно долгий срок (4). С

помощью обычных антисывороток, полученных путем иммунизации и очистки сыворотки, никогда нельзя достигнуть такой специфичности, чувствительности и стандартизации, какую имеют моноклональные антитела. Уровень и точность иммунодиагностических исследований зависят от того, в какой мере в них используются моноклональные антитела (1,10).

Во взрослом организме новые сосуды образуются только в результате ангиогенеза. Активация ангиогенеза может происходить при таких патологических процессах в организме, как заживление ран и рост опухоли(5). Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в условиях отсутствия сосудов опухолевый клон достигает всего лишь нескольких миллиметров в диаметре, и только после того как в опухоли "включится" ангиогенез и первичный опухолевый клон получит доступ к сосудистой системе, начинается его усиленный рост(7). Действительно, для того чтобы популяция опухолевых клеток могла увеличиваться, необходимо, чтобы клетки были обеспечены питательными веществами и кислородом, которые поступают из близлежащих кровеносных сосудов (6). В отсутствие доступа к адекватному кровоснабжению опухолевые клетки некротизируются и/или вступают в апоптоз, ограничивая тем самым увеличение объема опухоли независимо от того, насколько высокими пролиферативными возможностями обладают сами опухолевые клетки (3).

Существуют данные, свидетельствующие о том, что включение ангиогенеза может происходить уже на ранних, пренеопластических стадиях опухолевого развития. Такие данные получены, например, в экспериментальных моделях, где злокачественные опухоли возникают у трансгенных мышей, несущих в геноме доминирующие онкогены и/или

поврежденные гены-супрессоры опухолевого роста (8). При исследовании канцерогенеза с использованием некоторых из этих моделей, где опухоли в процессе своего развития проходят через гистологически различающиеся стадии, "включение" ангиогенеза наблюдалось на ранних стадиях, предшествующих появлению солидных опухолей.

Цель исследования. изучение связи между ангиогенезом и прогнозом при серозной и муцинозной цистаденокарциномы яичников.

Материал и методы исследования.

С учетом специфики исследования, нами был применён комплекс светооптических и гистохимических методов анализа материала.

. Применены следующие цитологические методы окрашивания:

- окраска по Романовскому – Гимзе; по Граму; гематоксилином-эозином. При выполнении этих методик мазки предварительно были зафиксированы, по возможности, 10,0% раствором метанола в 0,2 М фосфатном буфере с pH-7,4.

Применены следующие селективные цитохимические методы окраски :

- инкубация мазков в 0,05% забуференном растворе тионина; инкубация мазков в 1,0 % растворе альцианового синего при pH-5,5.

Кусочки тканей, предназначенные для светооптического анализа, фиксировались в 10% растворе кислого формалина, жидкость Буэна, обезживались в спиртах восходящей концентрации и заключались в парафин. При работе с архивными материалами отбирались лишь те из них, которые находились либо в растворе формалина («сырой запас»), либо же – в парафиновых блоках. Микротомные срезы толщиной 5,0 – 7,0 мкм окрашивались гематоксилином-эозином, пикрофуксиновой смесью по ван-Гизону, а в отдельных случаях – 0,05%

забуференным раствором тионина и гематоксилином-флюорэсцеином (уранином). Готовые микропрепараты микрофотографировались и фотографировались в стандартных, сопоставимых условиях.

Для иммуногистохимического исследования использовался материал, замороженный в жидком азоте, из которого изготавливали криостатные срезы, с последующей фиксацией в ацетоне, а также материал парафиновых блоков, фиксированных в 10% формалине. Соответствующие срезы (7,0-10,0 мкм) обработаны стандартным набором авидин-биотиновой реакции с применением мышиных моноклональных антител к рецептору ангиогенеза (СД-31) («ДАКО», Франция).

Обсуждение: Всего были обобщены и проанализированы данные 96 больных с диагнозом серозной и муцинозной цистаденокарциномы яичников, лечившихся и находившихся под наблюдением в Онкологической клинике АМУ с 2007 по 2012 годы. Возраст больных с серозной и муцинозной цистаденокарциномы яичников варьировал от 21-го года до 70-ти и старше лет.

С целью уточнения возможного прогностического значения экспрессии цитомембранного рецептора ангиогенеза (СД 31) нами у 96-ти больных с серозными и муцинозными цистаденокарциномами яичников проведены иммуногистохимические исследования. Из них серозные цистаденокарциномы составили 61 случая (63,6%), а муцинозные цистаденокарциномы 32 (33,4%) случаев.

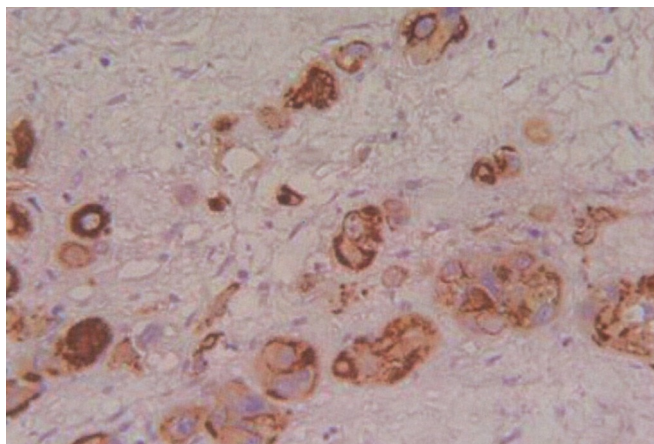


Рис1. Выраженная реактивность при муцинозной цистаденокарциномы яичников

Реактивность иммуногистохимических реакций оценивалось по следующим критериям:

- (++) – выраженная реактивность в большинстве случаев
- (+) – положительная реакция
- (-) – постоянное негативность в групповом подходе
- (+/-) – случайные, обычно фокальные реакции

При серозной и муцинозной цистаденокарциномы яичников, установлено максимальная плотность СД-31 позитивных клеток. СД-31 позитивность присуща эндотелиальным клеткам, адвентициальным клеткам и периваскулярным элементам.

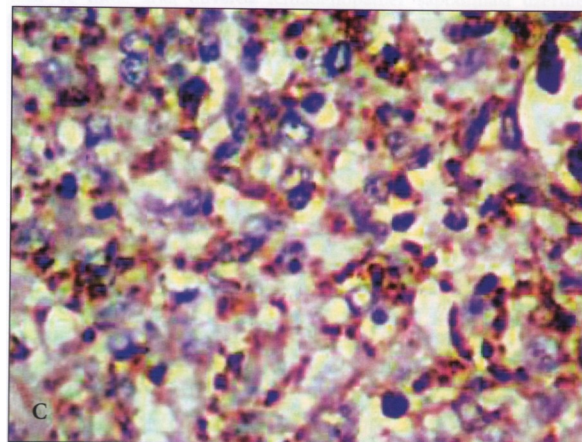


Рис2. Максимальная плотность CD-31 позитивных клеток при серозной цистаденокарциномы яичников

При изучении уровня рецептора ангиогенеза (CD-31) в стромальных элементах при серозной и муцинозной цистаденокарциномы яичников нами обнаружена более выраженная активность стромальных элементов в муцинозной цистаденокарциноме яичников (табл.1).

Таблица 1

Активность CD-31 при различных вариантах цистаденокарциномы

Гитологические варианты цистаденокарциномы	Активность IL-2		
	Выраженная (++)	Положительная реакция (+)	Постоянная негативность (-)
Серозная (n=61)	17 27,8±6,1 %	14 25,9±6,0 %	30 46,3±6,8%
Муцинозная (n=32)	16 51,7±6,8 %	9 27,6±6,1 %	8 20,7±5,5%
p	$\chi^2=6,33; p < 0,05$		

Как видим из представленной таблицы, если выраженная активность стромальных элементов в серозной цистаденокарциноме составили 27,8±6,1% случаев, то в муцинозной цистаденокарциноме выраженная активность встречалась в более половине случаев. Наоборот, низкая активность рецептора ангиогенеза (CD-31) преобладает в серозных цистаденокарциномах яичников ($p < 0,05$)

Заключение. Итак, изучение связи между ангиогенезом (CD 31) и прогнозом при серозной и муцинозной цистаденокарциномы яичников выявила достоверную разницу между этими показателями ($\chi^2=6,33; p < 0,05$).

Источники финансирования: Данная работа выполнена при финансовой поддержке Фонда Развития Науки при Президенте Азербайджанской Республики- ГРАНТ № EIF- KETPL - 2-2015-1(25)-56/34/3-M-04 -и ГРАНТ № EIF-BGM-4-RFTF-1-2017-776

Столкновение интересов: нет

Библиография

1. Əmiraslanov Ə.T., Muradov H.K. Dayağ-hərəkət orqanları şişlərində neoplastik angiogeniz. Miniqrafiya, Bakı, 2017, 532 səh.
2. Гиблалиева Н.Г, Мурадов Х.К. Иммуногистохимические исследования ангиогенеза при серозной и муцинозной цистаденокарциноме яичников Тəbabətin aktual problemləri 2018, Elmi-praktir konfrans, Bakı, 2018, səh.63
3. Ибрагимова Ф.Х. Мурадов Х.К. Цитологические исследование серозной цистаденокарциномы яичников Тəbabətin aktual problemləri 2018, Elmi-praktir konfrans, Bakı, 2018, səh.273
4. Folkman J. Angiogenesis and breast cancer // J. Clin. Oncol. — 1994. - Vol. 4. — P. 441-443.
5. Hanahan D., Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis // Cell. — 1996. — Vol. 86. - P. 353-364.
6. Lauren J., Gunji Y., Alijalo K. Is angiopoierin-2 necessary for initiation of tumor angiogenesis? // Amer. J. Pathol. — 2015. -Vol. 153. - P. 1333-1339.
7. Martiny-Baron G, Marme D. VEGF-mediated tumour angiogenesis:

a new target for cancer therapy // Current opinion in Biotechnology. — 2010 - Vol 6 — P. 675—680.

8. O'Reilly M. S., Boer T., Shing K et al. Eridostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth // Cell — 2007. - Vol. 88. - P. 277-285.

9. O'Reilly M. S., Holmgren L. Shing Y. et al, Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a

Lewis lung carcinoma / Cell. — 2014. — Vol. 79. - P. 315-328.

10. Risau W. Mechanisms of angiogenesis // Nature. - 2009 — Vol. 386. — P. 671—674.

11. Senger D. A, Van be Water L, Brawn L. F et al. Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology // Cancer and Metastasis Rev. — 2013. — Vol 12, — P 303-324,

RESUME

Prognostic value of the angiogenesis receptor (cd-31) in the serous and mucinous ovarian cystadenocarcinomas

Muradov H.K.¹, Namazov F.R.², Ibrahimova F.H.¹, Muradova S.R.³

Department of Histology¹, Embryology and Citology, Department of Oncology², Department of Internal Medicine II³ of Azerbaijan Medical University. Baku. Azerbaijan

The purpose of the study. Study of the relationship between angiogenesis and prognosis in serous and mucinous ovarian cystadenocarcinomas.

Material and methods. Taking into account the specifics of the study, we used a complex of light-optical and histochemical methods of material analysis. For immunohistochemical investigation, the material which was frozen in liquid nitrogen, from which cryostat sections were made, followed by fixation in acetone, as well as material of paraffin blocks fixed in 10% formalin. The corresponding sections (7.0–10.0 µm) were processed with a standard set of avidin-biotin reaction using mouse monoclonal antibodies to angiogenesis receptor (DM-31) (DAKO, France).

Results of research. A total of 96 patients with a diagnosis of serous and mucinous ovarian cystadenocarcinoma were summarized and analyzed. The pronounced activity of stromal elements in serous cystadenocarcinoma was $27.8 \pm 6.1\%$ of cases; in mucinous cystadenocarcinoma, pronounced activity occurred in more than half of the cases. On the contrary, low activity of the angiogenesis receptor (DM-31) prevails in serous ovarian cystadenocarcinomas ($p < 0.05$)

Key words: serous and mucinous cystadenocarcinomas, angiogenesis, immunohistochemical studies