

УДК:616-006.484.03-037:616.13/.14

Чертенко Т.М.

ОСОБЛИВОСТІ АНГІОГЕНЕЗУ В ДИФУЗНИХ АСТРОЦИТАРНИХ ПУХЛИНАХ 3-4 СТУПЕНЯ ЗЛОЯКІСНОСТІ

Харківська медична академія післядипломної освіти

Ангіогенез є однією з ключових ланок, що сприяє пухлинній прогресії. Ряд дослідників вказує, що оцінка експресії судинних маркерів може бути важливою для діагностики та прогнозу перебігу дифузних астроцитарних пухлин. А оцінка експресії судинного ендотеліального фактору росту (VEGF) є важливою для призначення таргетної хіміотерапії, особливо в випадках рецидування. З'ясовано, що одним з факторів, що впливає на синтез VEGF є підвищена кількість рецептору епідермального фактору росту (EGFR) в пухлинах. Однак, прогностична цінність цього явища ще досі є суперечливою. Майже не існує наукових робіт, які б вивчали ангіогенез у комплексі з оцінкою проліферативного потенціалу мікросудин та його особливостей в залежності від морфологічних характеристик пухлин. Мало вивчений ангіогенез в випадках рецидування анапластичних астроцитом та гліобластом, хоча знання щодо патоморфозу є дуже важливими для формулювання більш точної стратегії лікування. Метою цього дослідження було комплексне вивчення ангіогенезу в дифузних астроцитарних пухлинах 3-4 ступеня злоякісності за допомогою рутинної гістології та сучасного імуногістохімічного метода. Для досягнення встановленої мети були сформовані 3 групи, що включали 45 випадків анапластичних астроцитом та гліобластом. Перша і друга групи були представлени первинними пухлинами, однак пацієнти з першої групи, на відміну від другої, мали рецидив пухлини протягом року. Третя група складалася з рецидивів пухлин від пацієнтів з першої групи. Імуногістохімічне дослідження проводилося з використанням 3-х маркерів: CD34, VEGF та EGFR. Визначався індекс васкуляризації кожної з пухлин. Для статистичного аналізу кількісних показників застосовувалися Н-критерій Краскера-Уолліса та U-критерій Манна-Уїтні. При необхідності розраховувався χ^2 Пірсона. У результаті дослідження було виявлено, що середній індекс васкуляризації був дещо вищий в групі пухлин, що дали рецидив протягом року ($0,825 \pm 0,13$), порівняно з групою, де рецидивів не було ($0,67 \pm 0,39$). Але ця різниця не виявилася статистично значущою. Індекс васкуляризації був достовірно вищий ($p < 0,01$) в перше виявлених пухлинах з кістозним компонентом ($0,97 \pm 0,06$), ніж в аналогічних солідних пухлинах ($0,52 \pm 0,16$). Товстостінні судини достовірно частіше виявлялися в випадках рецидивів (χ^2 Пірсона=14,014, $p < 0,01$), порівняно з перше виявленими пухлинами. Це явище може бути пояснено патоморфозом судин під впливом променевої та хіміотерапії. Достовірно зростання індексу васкуляризації відбувалося при зростанні ступеня експресії EGFR в пухлинах ($H(2, N=45)=34,19$ ($p < 0,0001$)). Висновки. 1. В рецидивах злоякісних астроцитарних пухлин достовірно частіше, ніж у перше виявлених пухлинах виявляються товстостінні судини (χ^2 Пірсона=14,014, $p < 0,01$). 2. Індекс васкуляризації достовірно вищий у перше виявлених злоякісних дифузних астроцитарних пухлинах з кістозним компонентом, ніж в аналогічних солідних пухлинах ($p < 0,01$). 3. Не виявлено статистично достовірної різниці в індексі васкуляризації між групою пухлин, які дали рецидив протягом року, та групою пухлин без рецидиву ($p > 0,05$). 4. Відмічається статистичне значущє зростання індексу васкуляризації при зростанні рівня експресії EGFR пухлинними клітинами (Критерій Краскера-Уолліса $H(2, N=45)=34,19$ ($p < 0,0001$), U-критерій Манна-Уїтні при попарному порівнянні груп з $p < 0,01$ в кожній з пар).

Ключові слова: гліобластома, анапластична астроцитома, ангіогенез в злоякісних дифузних астроцитомах, VEGF, CD34, EGFR, рецидиви злоякісних дифузних астроцитом

Робота є частиною НДР кафедри патологічної анатомії ХМАПО «Патогістологічна та імуногістохімічна діагностика та прогноз злоякісних пухлин різної локалізації з урахуванням їх біологічних властивостей та клінічного перебігу». Державна реєстрація № 0117 U000594

Вступ

Ангіогенез є однією з ключових ланок, що сприяє пухлинній прогресії. Добре відомо, що щільність мікросудинного русла в дифузних астроцитарних пухлинах зростає паралельно з підвищенням їх ступеня злоякісності [1,2,3]. Тому ряд дослідників вказують, що оцінка експресії таких судинних маркерів як CD34 та судинного ендотеліального фактору росту (VEGF) можуть бути важливими для діагностики та прогнозу перебігу дифузних астроцитарних пухлин [3,4,5,6]. Більш того, VEGF може використовуватися як мішень при призначенні хіміотерапії, що пригнічує ангіогенез [6,7]. Особливо це актуально в випадках рецидування, коли стає питання щодо призначення бевацицимабу. З літератури відомо,

що первинною ланкою, що стимулює синтез VEGF, є підвищення кількості рецептору епідермального фактору росту (EGFR) в пухлинних клітинах [8,9]. В свою чергу, висока експресія EGFR часто є асоційована з анапластичними астроцитомами-wild type та гліобластомами – wild type [1,2,10], що теоретично може бути ознакою гіршого прогнозу, однак остаточно це питання ще не вивчене.

Незважаючи на достатню кількість інформації щодо окремих складових ангіогенезу (прогностичного значення типу судинного патерну [11], експресії ендотелієм зрілих мікросудин маркеру CD34 [4], поодиноких даних щодо оцінки розвитку нових мікросудин, їх щільності в дифузних астроцитарних пухлинах та взаємозв'язку неоангі-

огенезу з агресивністю пухлин [12,13], майже не існує наукових робіт, які б вивчали ангиогенез у комплексі з оцінкою проліферативного потенціалу мікросудин та його особливостей в залежності від морфологічних характеристик пухлин. Ангіогенез в випадках рецидування також мало вивчений, у зв'язку з тим, що не завжди вдається зібрати достатню кількість матеріалу з випадками рецидивів анапластичних астроцитом та гліобластом. Хоча знання щодо патоморфозу пухлин дуже важливі для формування більш ефективної стратегії лікування та оцінки його ефективності чи, навпаки, неефективності.

Мета

Метою цього дослідження було комплексне вивчення ангиогенезу в дифузних астроцитарних пухлинах Grade III-IV за допомогою рутинної гістології та імуногістохімічного метода та оцінка вірогідного прогностичного значення активності ангиогенезу для пацієнтів, що страждають на ці пухлини.

Матеріали і методи

Для вивчення особливостей ангиогенезу астроцитарних пухлин високого ступеня злоякісності

ті автором було відібрано загалом 45 випадків гліобластом та анапластичних астроцитом. Відібраний матеріал був розподілений на 3 групи: 1) 15 випадків від пацієнтів вперше прооперованих з приводу гліобластоми чи анапластичної астроцитоми, в яких протягом року після операції спостерігався рецидив пухлини; 2) 15 випадків від пацієнтів, що були вперше прооперовані з приводу злоякісної астроцитарної пухлини, але не мали рецидиву протягом року після операції; 3) 15 випадків рецидивів пухлин від пацієнтів з першої групи. Весь необхідний матеріал в вигляді парафінових блоків був відібраний в патологоанатомічних відділеннях Харківської обласної клінічної лікарні та Харківської міської клінічної лікарні №7. Критеріями включення до груп дослідження були: висока якість матеріалу та достатність його для проведення імуногістохімічного дослідження, наявність повної інформації стосовно пацієнтів з медичної картки стаціонарного хворого, наявність інформації стосовно стану здоров'я пацієнтів протягом року після проведення першого операційного втручання. Детальна інформація щодо відібраних груп наведена в таблиці 1.

Таблиця 1.
Клініко-морфологічні характеристики груп

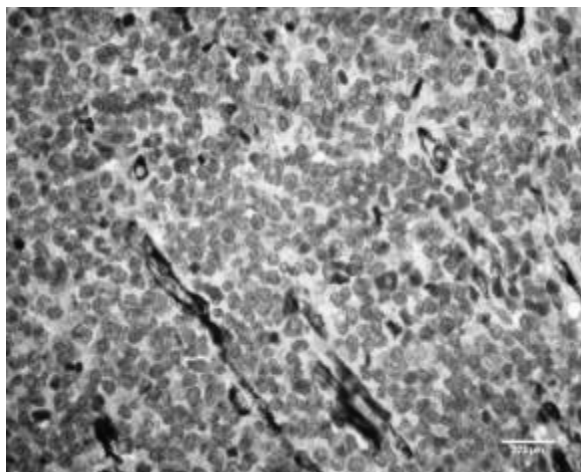
Ознака \ Група	Група 1 (первинні пухлини, що мали рецидив протягом року)	Група 2 (первинні пухлини без рецидиву протягом року)	Група 3 (рецидиви від пацієнтів з групи 1)
Стать			
Ч	9 (60%)	9 (60%)	9 (60%)
Ж	6 (40%)	6 (40%)	6 (40%)
Вік (M±σ)	50,13±10,86	56,2±12,295	51±10,66
Інтрамурозні кісти			
Є	7 (47%)	6 (40%)	7 (47%)
Немає	8 (53%)	9 (60%)	8 (53%)
Grade (ступінь злоякісності)			
III	1 (7%)	3 (20%)	1 (7%)
IV	14 (93%)	12 (80%)	14 (93%)

Особливості ангиогенезу досліджувалися з використанням первинних моноклональних антитіл: anti-CD34 antibody Class II clone QBEnd 10, 1:50 (Dako, Данія) та VEGF antibody clone JH121, 1:20 (ThermoScientific, США). Агресивність пухлини та її потенціал до зростання оцінювався за допомогою моноклонального антитіла до рецептору епідермального фактору росту: EGFR antibody clone SP84, 1:100 (ThermoScientific, США).

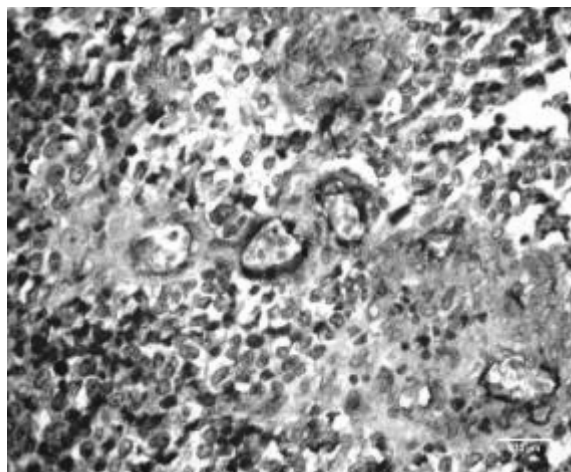
Для якісної оцінки особливостей ангиогенезу в дифузних астроцитарних пухлинах високого ступеня злоякісності окрім рутинного гістологічного дослідження був використаний такий сучасний метод, як імуногістохімія. Імуногістохімічне дослідження проводилося з використанням непрямого пероксидазно-антипероксидазного метода

згідно стандартних протоколів ДАКО. Додатково використовувалося забарвлення ядер клітин за допомогою гематоксиліну Майєра. Використовували зовнішній позитивний та негативний контроль для кожного маркера згідно рекомендаціям виробника. Диференційоване фарбування тканини служило внутрішнім контролем. Для кожного випадку була підрахована щільність мікросудинного русла (ЩМР) (кількість судин в 1 мм²) за CD34 та VEGF (прикладі експресування маркерів ендотелієм судин надані на мал.1 та 2).

Підрахунки проводилися на збільшені 400 в 4-х полях зору з найбільшою щільністю судин. Окремо для кожного випадку був розрахований індекс васкуляризації за формулою: ЩМР (VEGF)/ЩМР(СD34).



Мал. 1 Експресія CD34 ендотелієм мікросудин в гліобластомі

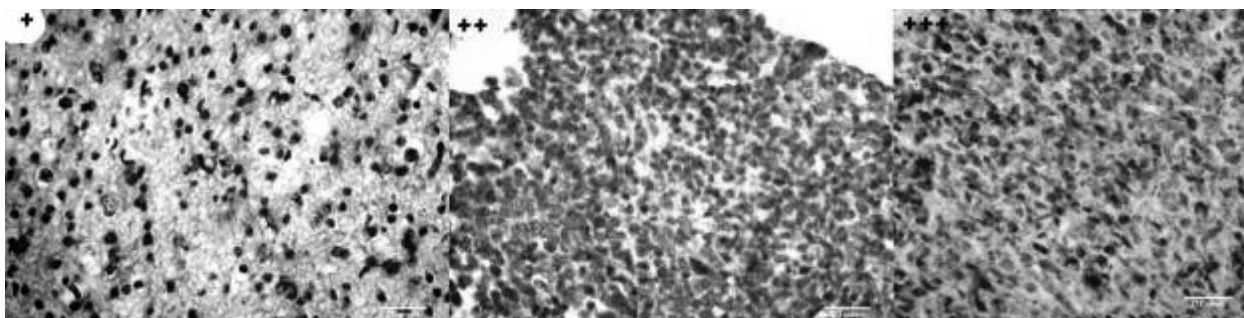


Мал. 2. Експресія VEGF ендотелієм мікросудин в гліобластомі

Це дало змогу оцінити активність ангіонеогенезу та проліферативний потенціал ендотелію мікросудин. Крім вищезазначеного оцінювалися такі клініко-морфологічні параметри як стать, вік, наявність інтратуморозних кіст, наявність товстостінних судин під час рутинного гістологічного дослідження, рівень експресії EGFR клітинами пухлини. Експресія EGFR за допомогою якісної

шкали (мал.3):

- «-» - експресія відсутня,
- «+» - слабка експресія маркера клітинами пухлини,
- «++» - помірна експресія маркера,
- «+++» - висока експресія маркера.



Мал.3 Шкала експресії EGFR в диффузних астроцитарних пухлинах Grade III-IV

Для статистичного аналізу кількісних показників автор застосував розрахунок Н-критерій Краскера-Уоліса ($p < 0,01$) та U-критерій Манна-Уїтні ($p < 0,01$). Визначалися середнє арифметичне та середнє квадратичне відхилення. Для опису якісних характеристик використовувався екстенсивний показник (%) та розрахунок χ^2 Пірсона. Розрахунки виконувалися за допомогою програм "Microsoft Excel 2010" та "Statistica 10.0"

Результати та їх обговорення

Нажаль, порівняння першої та другої групи за індексом васкуляризації з метою встановлення його впливу на рецидування не дали статистично значимого результату. Хоча середнє значення індексу васкуляризації було дещо вище в пухлинах, що дали рецидив протягом року ($0,825 \pm 0,13$) порівняно з групою пухлин, що не мали рецидиву протягом року ($0,67 \pm 0,39$), але розрахунок U-критерія Манна-Уїтні не виявив статистичної значущості цих показників ($p > 0,05$).

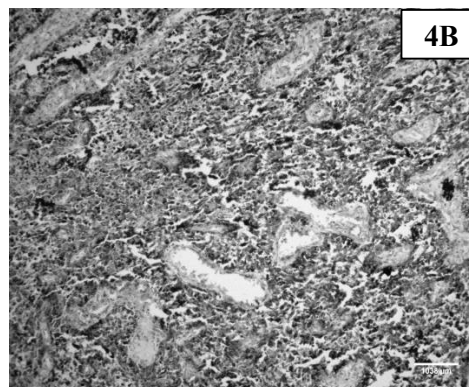
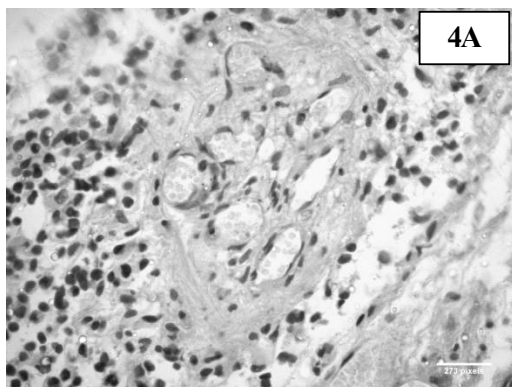
Тому автором було вирішено об'єднати їх в

одну велику групу - вперше виявлені пухлини. Ця група складалася з 12 жінок на 18 чоловіків. Середній вік пацієнтів складав $53,17 \pm 11,8$ років. Група рецидивів складалася з 6 жінок та 9 чоловіків. Середній вік хворих $51 \pm 10,66$ років. Середній індекс васкуляризації для вперше виявлених пухлин з кістозним компонентом складав $0,97 \pm 0,06$, для вперше виявлених солідних пухлин – $0,52 \pm 0,16$. Підрахунок U-критерія Манна-Уїтні виявив, що індекс васкуляризації достовірно вищий в вперше виявлених злоякісних астроцитарних пухлинах з кістозним компонентом ($p < 0,01$).

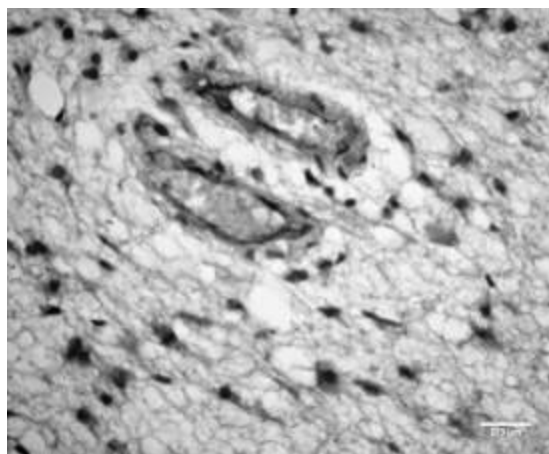
При порівнянні індексів васкуляризації в першій групі та в групі рецидивів з розрахуванням U-критерія Манна-Уїтні не було виявлено статистично значущих змін (U емп=110.5, U кр при рівні значущості $p < 0,01 = 56$; $p > 0,05$). Відсутність статистичного зв'язку може бути пояснена тим фактом, що високо злоякісні астроцитарні пухлини мають виражений поліморфізм та по-різному реагують на стандартну хіміо- та промене-ву терапію. Однак під час проведення гістоло-

гічного дослідження ми помітили, що товстостінні судини значно частіше зустрічаються в рецидивах пухлин (мал.4), ніж у вперше виявлених пухлинах. 73,3% (11 випадків) рецидивів мали

товстостінні судини порівняно з 16,7% (5 випадків) вперше виявлених пухлин (χ^2 Пірсона=14,014, $p<0,01$).



Мал.4. А – товстостінні мікросудини, що формують кластерні структури в рецидиві гліобластоми, забарвлення гематоксиліном та еозином, В – товстостінні мікросудини в рецидиві гліобластоми, тканина якої експресує EGFR (+++)



Мал.5 Експресія VEGF ендотелієм мікросудин та пухлинними клітинами (препарат з периферійної ділянки анапластичної астроцитому)

В науковій літературі є численна інформація відносно того, що зі зростанням рівня злоякісності дифузні астроцитарні пухлини експресують EGFR більш виражено [1,2,3,10,14], а також, що експресія EGFR асоційована з пришвидшеним ростом пухлин і більш агресивною їх поведінкою. Також відомо, що підвищена секреція EGFR пухлинними клітинами призводить до більш активної секреції VEGF та пришвидшенню ангиогенезу [8,9]. Спираючись на ці дані автором було вирішено виявити, чи існує зв'язок між рівнем експресії EGFR пухлинними клітинами та індексом васкуляризації. Порівняння проводилося між трьома групами: група з відсутньою експресією EGFR, група з слабкою експресією та група з помірною або високою експресією. Детальна інформація про групи надана в таблиці 2.

Критерій Краскера-Уолліса $H(2, N=45)=34,19$ ($p<0,0001$), тобто є достовірний статистичний зв'язок між рівнем експресії EGFR та індексом

васкуляризації. Далі за допомогою U-критерія Манна-Уїтні кожна з груп була порівняна попарно. В кожній парі був встановлений статистичний зв'язок. З усього цього можна зробити висновок, що зі зростанням індексу васкуляризації зростає рівень експресії EGFR пухлинними клітинами. При цьому у деяких пухлинах з експресією EGFR «+++» була виявлена чітка експресія VEGF пухлинними клітинами (мал.5).

Деякі автори вказують, що експресія VEGF пухлинними клітинами свідчить про більш агресивну поведінку пухлини та гірший прогноз [3,7,11]. Однак в цьому дослідженні у зв'язку з недостатньою кількістю спостережень експресії VEGF в пухлинних клітинах (всього 3 спостереження, переважно експресія добре візуалізувалася у біоптатах, що були взяті з периферії пухлини), автор не мав змоги зробити якісь статистично значущі висновки щодо цього явища.

Таблиця 2.
Розподілення індексів васкуляризації всіх досліджуваних пухлин (45 випадків)
в залежності від ступеню експресії EGFR цими пухлинами.

EGFR (0) (N=16)	EGFR (+) (N=15)	EGFR (++/+++) (N=14)
0,46	0,64	1,01
0,54	0,56	0,92
0,57	0,95	1,00
0,55	0,69	0,96
0,35	0,65	0,80
0,38	0,66	0,98
0,40	0,74	0,90
0,54	0,73	1,44
0,60	0,67	2,76
0,59	0,65	1,38
0,55	0,55	1,52
0,54	0,66	1,19
0,35	0,38	1,84
0,24	0,52	0,90
0,40	0,77	
0,32		

Висновки

1. В рецидивах злоякісних астроцитарних пухлин достовірно частіше, ніж в вперше виявлених пухлинах, виявляються товстостінні судини (χ^2 Пірсона=14,014, $p<0,01$). Ця ознака може бути наслідком патоморфозу судин після радіо- та хіміотерапії. 2. Індекс васкуляризації достовірно вищий у вперше виявлених злоякісних дифузних астроцитарних пухлинах з кістозним компонентом, ніж в аналогічних солідних пухлинах ($p<0,01$). 3. Не виявлено статистично достовірної різниці в індексі васкуляризації між групою пухлин, які дали рецидив протягом року, та групою пухлин без рецидиву. Хоча середнє значення індексу васкуляризації було вище в першій групі ($0,825\pm 0,13$) порівняно з другою ($0,67\pm 0,39$). Автор вважає, що для визначення прогностичної цінності цього показника потрібні більші групи спостереження та вивчення взаємозв'язку з іншими молекулярно-біологічними ознаками злоякісних дифузних астроцитарних пухлин. 4. Відмічається статистично значуще зростання індексу васкуляризації при зростанні рівня експресії EGFR пухлинними клітинами (Критерій Краскера-Уолліса $H(2, N=45)=34,19$ ($p<0,0001$), U -критерій Манна-Уїтні при попарному порівнянні груп з $p<0,01$ в кожній з пар). Інформація щодо індексу васкуляризації та експресії EGFR може бути корисна лікарям-онкологам для призначення більш ефективною хіміотерапії, порівняно зі стандартною для окремих груп пацієнтів. Наприклад, призначення бевацицумабу не тільки після рецидиву, але й при первинній хіміотерапії.

References

- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. Lyon: IARC; 2007. 312 p.
- Louis D, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee W, Ohgaki H, Wiestler O, Kleihues P, Ellison D. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathologica*. 2016; 131(6):803-820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
- Fletcher C. editor. Diagnostic histopathology of tumors. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2013. 2296 p.
- Kong, X, Guan J, Ma W, Li Y, Xing B, Yang Y, Wang Y, Gao J, Wei J, Yao Y, Xu Z, Dou W, Lian W, Su C, Ren Z and Wang R. CD34 Over-expression is associated with gliomas' higher WHO grade. *Medicine*. 2016; 95(7):28-30. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002830>.
- Yoo H, Sohn S, Lee SH. The expressions of carbonic anhydrase 9 and vascular endothelial growth factor in astrocytic tumors predict a poor prognosis. *International Journal of Molecular Medicine*. 2010; 26(1):3-9 <https://doi.org/10.3892/ijmm.00000427>
- Jain R, di Tomaso E, Duda D, Loeffler J, Sorensen A. and Batchelor T. Angiogenesis in brain tumors. *Nature Reviews Neuroscience*. 2007; 8(8):610-22. <https://doi.org/10.1038/nrn2175>
- Ellis L, Hicklin D. VEGF-targeted therapy: mechanisms of anti-tumor activity. *Nature Reviews Cancer*. 2008; 8(8):579-591. <https://doi.org/10.1038/nrc2403>
- Goldman C, Kim J, Wong W, King V, Brock T, Gillespie G. Epidermal growth factor stimulates vascular endothelial growth factor production by human malignant glioma cells: a model of glioblastoma multiforme pathophysiology. *Molecular Biology of the Cell*. 1993; 4(1):121-33.
- Minder P, Zajac E, Quigley J, Deryugina E. (2015). EGFR Regulates the Development and Microarchitecture of Intratumoral Angiogenic Vasculature Capable of Sustaining Cancer Cell Intravasation. *Neoplasia*. 2015; 17(8):634-649. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2015.08.002>.
- Dabbs D. editor. Diagnostic Immunohistochemistry. London: Elsevier Health Sciences; 2013. 848 p.
- Chen L, Lin Z, Lin G, Zhou C, Chen Y, Wang X, Zheng Z. Classification of microvascular patterns via cluster analysis reveals their prognostic significance in glioblastoma. *Human Pathology*. 2015; 46(1):120-8. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2014.10.002>
- Birlik B, Canda S, Ozer E. Tumour vascularity is of prognostic significance in adult, but not paediatric astrocytomas. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2006; 32(5):532-38. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2015.08.002>.
- Rahmah N, Sakai K, Li Y, Sano K, Hongo K. Comparison of manual and digital microvascular density counting of RECK expression in glioma. *Neuropathology*. 2011; 32(3):245-51. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2011.01265.x>
- Nana A, Yang P, Lin H. Overview of Transforming Growth Factor β Superfamily Involvement in Glioblastoma Initiation and Progression. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015; 16(16): 6813-23. <http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.16.6813>

Реферат

ОСОБЕННОСТИ АНГИОГЕНЕЗА В ДИФFUЗНЫХ АСТРОЦИТАРНЫХ ОПУХОЛЯХ 3-4 СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ
Чертенко Т.Н.

Ключевые слова: глиобластома, анапластическая астроцитомы, ангиогенез в злокачественных диффузных астроцитомах, VEGF, CD34, EGFR, рецидивы злокачественных диффузных астроцитом.

Ангиогенез играет одну из ведущих ролей в опухолевой прогрессии. Ряд исследователей отмечает важность оценки экспрессии сосудистых маркеров в диффузных астроцитарных опухолях при постановке диагноза и формировании прогноза. Экспрессия же сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) должна быть оценена при подборе таргетной химиотерапии, особенно в случаях рецидивирования. Установлено, что повышение количества рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) в ткани опухоли является одним из факторов, стимулирующих синтез VEGF. Однако прогностическое значение этого явления все еще остается спорным. Практически не существует научных работ, которые бы изучали ангиогенез в комплексе с оценкой пролиферативного потенциала эндотелия микрососудов и его особенности в зависимости от морфологических характеристик опухолей. Мало изучен ангиогенез в случаях рецидивов анапластических астроцитом и глиобластом. Хотя знания касательно патоморфоза очень важны при подборе более точной стратегии лечения и оценке ее эффективности. Целью этой работы было комплексное изучение ангиогенеза в диффузных астроцитарных опухолях 3-4 степени злокачественности при помощи рутинного гистологического исследования и современного иммуногистохимического метода. Для достижения поставленной цели были сформированы 3 группы (общее количество наблюдений – 45 случаев). Первая и вторая группа состояли из первичных анапластических астроцитом и глиобластом, однако пациенты из первой группы, в отличие от пациентов из второй группы, имели рецидив опухоли в течение года после операции. Третья группа состояла из рецидивов опухолей от пациентов из первой группы. Иммуногистохимическое исследование проводилось с использованием маркеров: CD34, VEGF и EGFR. Определялся индекс васкуляризации для каждого случая. Индекс рассчитывался как отношение плотности микрососудистого русла по VEGF к плотности микрососудистого русла по CD34. Для статистического анализа количественных показателей использовался Н-критерий Краскера-Уолиса и U-критерий Манна-Уитни. При необходимости рассчитывался χ^2 Пирсона. В результате исследования было установлено, что средний индекс васкуляризации несколько выше в группе опухолей, которая имела рецидивы в течение года (0,825±0,13), по сравнению с группой, где рецидивов не было (0,67±0,39). Но статистического значения эта разница не имела. Индекс васкуляризации был достоверно выше ($p < 0,01$) во впервые выявленных опухолях с кистозным компонентом (0,97±0,06), по сравнению с аналогичными солидными опухолями (0,52±0,16). Толстостенные сосуды достоверно чаще обнаруживались в случаях рецидивов (χ^2 Пирсона=14,014, $p < 0,01$). Вероятно, это явление могло быть следствием патоморфоза сосудов под влиянием лучевой и химиотерапии. Достоверный рост индекса васкуляризации отмечался с ростом степени экспрессии EGFR в ткани опухоли (Критерий Краскера-Уоллиса Н (2, N=45)=34,19 ($p < 0,0001$)). Выводы. 1. В рецидивах злокачественных астроцитарных опухолей достоверно чаще, чем во впервые выявленных опухолях, обнаруживались толстостенные сосуды (χ^2 Пирсона =14,014, $p < 0,01$). 2. Индекс васкуляризации достоверно выше во впервые выявленных злокачественных диффузных астроцитарных опухолях с кистозным компонентом, по сравнению с аналогичными солидными опухолями ($p < 0,01$). 3. Не обнаружено статистически достоверной разницы в индексе васкуляризации у группы опухолей, давших в течение года, и группой опухолей без рецидива ($p > 0,05$). 4. Отмечался статистически значимый рост индекса васкуляризации при увеличении степени экспрессии EGFR опухолевыми клетками (Критерий Краскера-Уоллиса Н (2, N=45)=34,19 ($p < 0,0001$)), U-критерий Манна-Уитни при попарном сравнении групп с $p < 0,01$ в каждой из пар).

Summary

ANGIOGENESIS IN HIGH GRADE DIFFUSE ASTROCYTIC TUMORS

Chertenko T.

Key words: glioblastoma, anaplastic astrocytoma, angiogenesis in malignant diffuse astrocytic tumors, VEGF, CD34, EGFR, recurrences of high grade diffuse astrocytic tumors

Angiogenesis plays the key role in tumor progression. It is mentioned in some scientific reports that the evaluation of the expression such vascular markers as CD34 and VEGF could be used for diagnostic and prognostic purposes. Moreover, VEGF expression should be evaluated in cases when specifically targeted chemotherapy is needed e.g. in relapsed tumors. It was well described the fact that the growth of a number of epidermal growth factor receptor (EGFR) in tumor tissue is one of the triggers that stimulate the synthesis of VEGF. Nevertheless, the prognostic impact of this phenomenon for diffuse astrocytic tumors is still under discussion. There is a lack of studies that are focused on the angiogenesis in a complex with scoring a proliferative activity of endothelium and its features varying from tumor morphology. The number of research reports that describe angiogenesis in relapsed anaplastic astrocytomas and glioblastomas is also insufficient,

although this information could be helpful for the development of an effective therapeutic strategy. The aim of this study was a complex analysis of angiogenesis in diffuse astrocytic tumors grade III-IV through the routine histological investigation and contemporary immunohistochemical method. Materials and methods. The recent study included 3 groups of tumor specimens (the total number of observations was 45 tumor samples). The first and the second groups included samples of anaplastic astrocytomas and glioblastomas, but patients from the 1st group, in comparison to patients from the 2nd group, experienced a recurrence within 1 year after the surgery. The third group was composed of relapses of the tumors from the patients in the 1st group. Immunohistochemistry with primary antibody CD34, VEGF and EGFR were used in our study. The index of vascularisation was independently calculated in every case. The index was calculated as the ratio of the microvascular density scored with VEGF to the microvascular density scored with CD34. Kruskal-Wallis H and Mann-Whitney U tests were performed for comparison of quantitative parameters between groups. Chi-squared test was used when it was needed. Results. The average index of vascularisation was slightly higher in the group of tumors, that relapsed within 1 year after the surgery ($0,825 \pm 0,13$) in comparison with the group of tumors without relapse ($0,67 \pm 0,39$). But this difference was statistically insignificant. The index of vascularisation was significantly higher ($p < 0,01$) in primary tumors with cysts ($0,97 \pm 0,06$) compared to primary solid tumors ($0,52 \pm 0,16$). The thick-walled vessels are significantly more often found in relapsed diffuse astrocytic tumors (Chi-squared test=14,014, $p < 0,01$). Probably, it could be a result of microvessel transformation caused by radiation and chemotherapy. The significant elevation of the index of vascularization was associated with elevation of EGFR expression in tumor tissue (Kruskal-Wallis H (2, N=45)=34,19 ($p < 0,0001$)). Conclusions. 1. The thick-walled vessels are significantly more often found in relapsed diffuse astrocytic tumors compared to primary tumors (Chi-squared test=14,014, $p < 0,01$). 2. The index of vascularisation was significantly higher ($p < 0,01$) in primary tumors with cysts compared to primary solid tumors. 3. There were no significant differences in the index of vascularization in the group of tumors, that relapsed within 1 year after the surgery and the group without relapse ($p > 0,05$). 4. The significant elevation of the index of vascularization was associated with elevation of EGFR expression in tumor tissue (Kruskal-Wallis H (2, N=45)=34,19 ($p < 0,0001$)) and Mann-Whitney U test in a pairwise comparison of groups $p < 0,01$ for each pair).