

Бондарєва Валентина Олександрівна*Доцент, кандидат медичних наук**ДЗ Дніпропетровська медична академія МОЗ України***ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ P53-ОНКОПРОТЕЇНУ ТА МАРКЕРУ ПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ KI-67 У СЕРОЗНИХ ТА МУЦИНОЗНИХ ПУХЛИНАХ ЯЄЧНИКІВ****THE DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF P53-ONCOPROTEIN AND KI-67 PROLIFERATIVE LEVEL EXPRESSION IN SEROUS AND MUCINOUS BORDERLINE OVARY TUMORS**

Реферат. Стаття посвячена дослідженню потенціалу злоякісності, ймовірності метастазування і непрямої прогнозу розвитку серозних і муцинозних пухлин яєчників, які вважаються проміжним ланкою між доброякісними і злоякісними новоутвореннями цієї локалізації, імуногістохімічним методом з використанням моноклональних антитіл до p53 і Ki-67. Більшість зразків операційного матеріалу продемонструвала статус Ki67+/p53-, що свідчить про відносно сприятливий прогноз і низку тенденцію до малигнізації, проте статус Ki67+/p53+, отриманий у чверті зразків, потребує детальнішого вивчення і несе загрозу розвитку злоякісного новоутворення і метастазування.

Ключевые слова. Серозные, муцинозные, пограничные опухоли яичников, Ki67, p53, статус, иммуноморфологические маркеры, потенциал злокачественности.

Summary. This article is dedicated to investigations of the potential malignancy probability, metastasis possibility development, clinical survival and prognosis of serous and mucinous borderline ovarian tumors, that are considered as transitional link between benign and malignant tumors of this localization with immunomorphological methods, including monoclonal antibodies to p53 and Ki-67. The most clinical samples showed the postoperative material with Ki67+/p53- status, what argument a relatively favorable prognosis and a low tendency to malignization, but the Ki67+/p53+ status, has received a more careful samples requires, that need in detailed studying and probable menacing of malignization and metastasis development.

Key words: serous and mucinous borderline tumors of ovary, Ki-67, p53 status, immunomorphological markers and malignancies potential.

Дослідження виконано у рамках програми науково-дослідної роботи кафедр патологічної анатомії і судової медицини та онкології і медичної радіології Дніпропетровської державної медичної академії «Індивідуалізація лікування злоякісних пухлин з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу та маркерів хіміогормонорезистентності» (№ держреєстрації 0101U001002).

Реферат. Стаття присвячена дослідженню потенціалу злоякісності, вірогідності метастазування та безпосередньо прогнозу розвитку серозних і муцинозних пограничних пухлин яєчників, які вважаються перехідною ланкою між доброякісними та злоякісними новоутвореннями цієї локалізації, імуногістохімічним методом з використання моноклональних антитіл до

p53 та Ki-67. Більшість зразків операційного матеріалу продемонструвала статус Ki67+/p53-, що свідчило про відносно сприятливий прогноз і низку вірогідність подальшої малигнізації, проте статус Ki67+/p53+, отриманий у чверті зразків, потребує детальнішого вивчення і несе загрозу розвитку злоякісного новоутворення та можливості метастазування.

Вступ. Пограничні пухлини яєчників (ППЯ) являють собою групу пухлин епітеліального походження із варіюванням швидкості росту та відносно низьким потенціалом злоякісності, вірогідністю метастазування і, стосовно до злоякісних новоутворень, мають значно більш сприятливий прогноз [2 с.53]. ППЯ являють собою гетерогенну групу новоутворень, для яких проліферація епітелію, клітинний та ядерний атипізм

мають принципове значення [1 с.132, 5 с.968]. За останні роки значна увага стала приділятися значенню молекулярних та клітинних маркерів, що характеризують фундаментальні біологічні властивості пухлини [3 с.479, 8 с.943]. Без сумніву, дискримінуючу дію на розвиток ППЯ та можливу трансформацію на рак яєчників мають р53-онкопротеїн як маркер апоптозу та маркер проліферації Ki-67 [4 с.11, 7 с. 1179]. Відомо, що в нормі ген р53 являється «захисником» геному, активним «реаніматором» ДНК та індуктором апоптозу, але у випадках мутацій запускається синтез альтернативного, «мутантного» р53, який саме відбиває здатність клітин до блокування апоптозу, а рівень проліферативної активності не завжди відображає поведінку ППЯ [6 с. 9, 9 с. 469].

Мета дослідження. Дослідити патоморфологічні зміни та імуноморфологічні особливості рівня експресії р53-протеїну із проліферативною активністю у пограничних серозних та муцинозних пухлинах яєчників жінок у залежності від гістологічної форми новоутворення пацієнток.

Матеріали та методи дослідження. У дослідженні було використано операційний матеріал 168 пацієнток віком від 35 до 70 років із серозними та муцинозними пухлинами яєчників у період з 2013 по 2015 рр. Для проведення морфологічного дослідження операційний матеріал хворих на початку фіксувався в 10% розчині нейтрального забуференого формаліну, після чого матеріал заливався у парафін згідно до прийнятих стандартів. Для проведення світлової мікроскопії використовували мікроскоп «Leika DLM-E» (США) з об'єктивами $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$. При виготовленні зрізів перший із серії забарвлювали гематоксиліном та еозином для перевірки гістологічного діагнозу та можливості виконання ІГХ дослідження. З метою проведення імуноморфологічного дослідження (ІМД) гістологічні зрізи 4–6 мкм наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrost Plus, з проведенням депарафінізації, регідратації зрізів та інкубацією із первинними антитілами у вологих камерах при температурі 23–250С. В якості первинних антитіл використовувалися моноклональні антитіла до р53 (клон

DO-7) та Ki-67 (клон MIB-1) фірми Antibody Diluent тієї ж фірми та систему візуалізації Quanto та з нанесенням хромогену 3-діамінобензидин тетрахлориду (DAB). Для диференціювання структур тканин зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Майєра. Наступна дегідратація і включення у бальзам здійснювалися згідно стандартам. Дані імуногістохімічних досліджень, зазнавали статистичної обробки в програмі SPSS Statistica 17.0. В групах з достовірною відмінністю експресії маркеру значущим вважався зв'язок при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Під час проведення дослідження було з'ясовано, що яєчники, які використовувались у роботі, макроскопічно не мали великої цінності щодо встановлення ступеню розвитку на можливої малігнізації ППЯ. Цікавим виявилось саме імуноморфологічне дослідження зрізів, а також порівняння їх один з одним.

У результаті проведених імуноморфологічних досліджень нами було встановлено, що більшість жінок (61% від загальної кількості), хворих на серозні пограничні пухлини яєчників, мали Ki67+/p53- статус, який можна назвати найбільш достовірним щодо підтвердження діагнозу та отримання подальшого сприятливого прогнозу, на відміну від статусу Ki67+/p53+, який, у супереч сподіванням, виявився менш інформативним (26%), а відповідно й менш показовим на етапі діагностики новоутворення та щодо прогнозування можливості подальшої малігнізації ППЯ. Схожі результати було отримано також в дослідженні муцинозних ППЯ, де статус Ki67+/p53- підтвердився майже у треті жінок (66% зі 100%), тоді як Ki67+/p53+ статус знову виявився досить суперечливим у прогностичному плані (23%). Варто також підкреслити те, що статус Ki67-/p53+ не дає нам змоги об'єктивно судити про ступінь трансформації як серозних, так і муцинозних ППЯ (тільки 8 та 7% відповідно). Щодо Ki67-/p53- статусу, можна сказати, що він не може бути практично цікавим у діагностиці, тому що виявлений лише у 5% серозних та 4% муцинозних ППЯ, не несе жодної діагностичної та прогностичної користі (рис. 1).

Таблиця

Імуноморфологічний статус	ІМД серозних ППЯ		ІМД муцинозних ППЯ	
	%	N (кількість осіб)	%	N (кількість осіб)
Ki67-/p53-	5	6	4	1
Ki67-/p53+	8	10	7	3
Ki67+/p53+	26	33	23	10
Ki67+/p53-	61	77	66	28

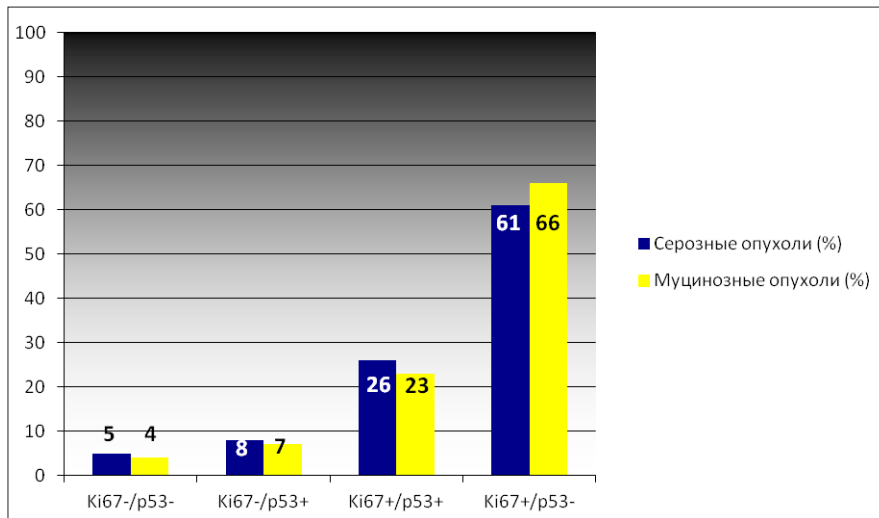


Рис. 1. Процентне співвідношення імуноморфологічного статусу Ki67 та p53 серед серозних і муцинозних ППЯ

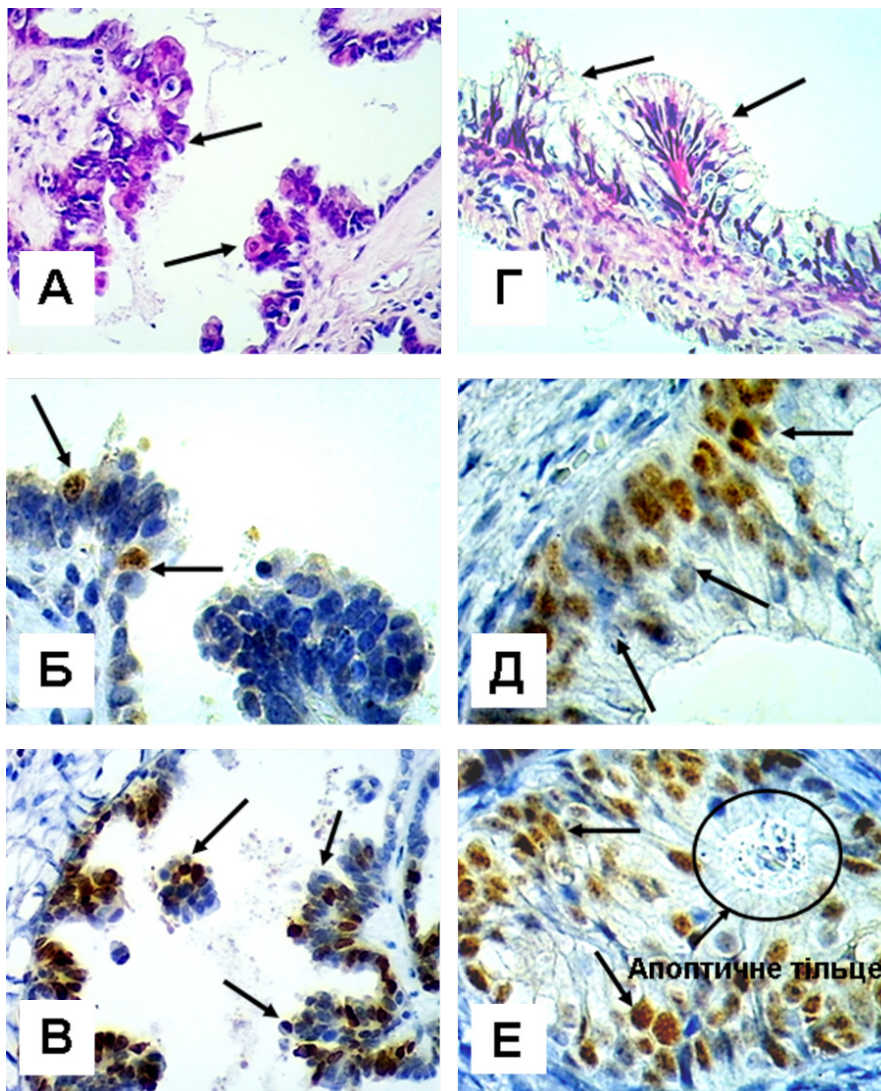


Рис. 2. А. Серозна цистаденома. Забарвлення Г+Е (×400) Б. Позитивна інтернуклеарна реакція із p53 (×1000) В. Позитивна інтернуклеарна реакція із Ki67 (×400) Г. Муцинозна цистаденома. Забарвлення Г+Е (×400) Д. Позитивна інтернуклеарна реакція із p53 (×1000) Е. Позитивна інтернуклеарна реакція із Ki67 (×1000)

Відповідно до отриманих результатів, спостерігається цікава закономірність щодо прогностично важливої ролі маркеру Ki67 та онкопротеїну p53 у комбінації Ki67+/p53- та Ki67+/p53+, згідно з якою впливають певні висновки. Так статус Ki67+/p53- вважається досить сприятливою ознакою у проліферації пухлинних клітин та свідчить про гарний прогноз розвитку новоутворення. Важливо звернути увагу на те, що статус Ki67+/p53+ потребує більшої уваги до себе під час проведення діагностики та у подальшому прогнозуванні, оскільки є спільним з аденокарциномою та свідчить про можливість швидкої малігнізації пограничної пухлини.

Висновки

1. Таким чином, найбільші значення у різних групах пограничних пухлин яєчників були нами отримані серед пацієток зі статусом Ki67+/p53- (61% у серозних і 66% у муцинозних відповідно).

2. Прогностичне значення рівня експресії маркеру проліферації Ki-67 потребує подальшого вивчення, тому що частота варіює у залежності від гістологічної форми новоутворення (більше у муцинозних пухлин) та віку пацієток.

3. У відсотку онкотрансформації має велике значення блок апоптозу, що є ключовим моментом для пограничних пухлин яєчників, особливо важливим є статус Ki67+/p53+ (26% у серозних і 23% у муцинозних), оскільки він співпадає з таким статусом у аденокарциномах.

Літературні джерела

1. Виноградов И. И. Значение маркеров пролиферации и апоптоза для пограничных опухолей яичников / И. И. Виноградов, Л. Э. Завалишина, Ю. Ю. Андреева и др. // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. — 2013. — № 3. — С. 130–136.
2. Ahmed A. A. Driver mutations in TP53 are ubiquitous in high grade serous carcinoma of the ovary / A. A. Ahmed, D. Etemadmoghadam, J. Temple [et al.] // Journal of Pathology. — 2010. — Vol.221. — P. 49–56.
3. Blegen H. Prognostic significance of cell cycle proteins and genomic instability in borderline, early and advanced stage ovarian carcinomas / H. Blegen, N. Ein-horn, K. Sjøvall [et al.] // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2000. — Vol.10. — P. 477–487.
4. D'Andrilli G. Epithelial ovarian cancer: the role of cell cycle genes in the different histotypes / G. D'Andrilli, A. Giordano, A. Bovicelli // Open. Clin. Cancer J. — 2008. — Vol.2. — P. 7–12.
5. Giurgea L.N. The immunohistochemical expression of p53 and Ki67 in ovarian epithelial borderline tumors. Correlation with clinicopathological factors / Giurgea L.N., Ungureanu C., Mihailovici M.S. // Rom. J. Morphol. Embryol. — 2012. — Vol. 53. — P. 967–973.
6. May T. Low malignant potential tumors with micropapillary features are molecularly similar to low grade serous carcinoma of the ovary / T. May, C. Virtanen, M. Sharma [et al.] // Gynecol. Oncol. — 2010. — Vol.117. — P. 9–17.
7. Nam E.J. Alteration of cell-cycle regulation in epithelial ovarian cancer / E.J. Nam, Y.T. Kim // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2008. — Vol.18. — P. 1169–1182.
8. Page C.L. Predictive and prognostic protein biomarkers in epithelial ovarian cancer: recommendation for future studies / C. L. Page, D. G. Huntsman, D. M. Provencher [et al.] // Cancers. — 2010. — Vol. 2. — P. 913–954.
9. Rubatt J.M. Independent prognostic relevance of microvessel density in advanced epithelial ovarian cancer and associations between CD31, CD105, p53 status, and angiogenic marker expression: A Gynecologic Oncology Group study / J.M. Rubatt, K.M. Darcy, A. Hutson [et al.] // Gynecol. Oncol. — 2009. — Vol.112. — P. 469–474.