

**О.А. Савченко,
І.С. Шпонька**

АНАЛІЗ РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ ПАНЦИТОКЕРАТИНІВ В ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ТА ГРАНУЛЬОЗОКЛІТИННИХ ПУХЛИНАХ ЯЄЧНИКІВ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра патологічної анатомії і судової медицини
(зав. – к. мед. н., доц. О.А. Алексєнко)
вул. В. Вернадського, 9, Дніпро, 49044, Україна
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»
Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine
V. Vernadsky str., 9, Dnipro, 49044, Ukraine
e-mail: savchenko.oksana21@gmail.com

Ключові слова: епітеліальні пухлини яєчників, гранульозоклітинні пухлини, імуногістохімія

Ключевые слова: эпителиальные опухоли яичников, гранулезоклеточные опухоли, иммуногистохимия

Key words: epithelial ovarian tumors, granulo-cellular tumors, immunohistochemistry

Реферат. Аналіз урвня експресии панцитокератинов в епителіальних и гранульозоклеточных опухолях яичников. Савченко О.А., Шпонька І.С. Дифференціальна діагностика новообразований яичников проводиться среди груп епітеліальних и гранульозоклеточних опухолей и остається актуальною проблемою онкогінекології. В основному зустрічаються епітеліальні опухолі (до 60%), но на долю гранульозоклеточних опухолей приходится до 5% из всех неоплазий яичника. Матеріали и методи. В роботі було проведено ретроспективне дослідження 43 спостережень опухолевих уражень яичників за період январь-декабрь 2017 г. Целью дослідження було проаналізувати комплекс морфологічних и імуногістохімічних характеристик Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – негативних фенотипов и Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – позитивних фенотипов неоплазий яичников, для совершенствования алгоритмов діагностики. Результати. Фенотип епітеліальних опухолей яичников в 100% спостережень соответствует панцитокератину Cytokeratin, Pan AE1/AE3 «+», в свою очередь фенотип гранулезоклеточных опухолей в основному отвечал експресии маркера Cytokeratin, Pan AE1 / AE3 "-" в 62,5%; а вариант в части клеток «+»/«-» Cytokeratin, Pan AE1/AE3 обнаружен в 37,5% гранулезоклеточных опухолей, независимо от потенциала их злокачественности. Таким образом, гранулезоклеточные опухоли имеют вариабельную експресию маркера Cytokeratin, Pan AE1/AE3 и требуют включения в первичную панель других діагностических ИГХ маркеров.

Abstract. Analysis of the level of expression of pancytokeratins in epithelial and granulocellular tumors of the ovaries. Savchenko O.A., Shponka I.S. Differential diagnosis of ovarian neoplasms is carried out among groups of epithelial and granulocellular tumors and remains an actual problem of oncogynecology. In general, epithelial tumors occur (up to 60%), but granulocellular cell tumors account for up to 5% of all ovarian neoplasia. Materials and methods. A retrospective study of 43 observations of ovarian tumor lesions over the period of January-December 2017 was conducted in the work. The aim of the study was to analyze the complex of morphological and immunohistochemical characteristics of Cytokeratin, Pan AE1 / AE3 - negative phenotypes and Cytokeratin, Pan AE1 / AE3 - positive phenotypes of ovarian neoplasia to improve diagnostic algorithms. Results. The phenotype of epithelial ovarian tumors in 100% of observations corresponds to pancytokeratin Cytokeratin, Pan AE1 / AE3 "+", in its turn the phenotype of granulocellular tumors basically responded to expression of the Cytokeratin marker, Pan AE1 / AE3 "-" in 62.5%; and the variant in the part of the cells "+" / "-" Cytokeratin, Pan AE1 / AE3 was found in 37.5% of granulocellular tumors, regardless of their malignant potential. Thus, granulocellular tumors have variable expression of the Cytokeratin marker, Pan AE1 / AE3 and require the inclusion of other diagnostic IGH markers in the primary panel.

Рання діагностика, попередження рецидивів та проведення диференціальної діагностики пухлин яєчників залишається актуальним питанням на сьогоднішній день. Епітеліальні пухлини яєчників (ЕПЯ) – різноманітна за складом група і зустрічається до 55-60% всіх неоплазий цієї локалізації [4, 5, 10]. У свою чергу,

гранульозоклітинні пухлини яєчників (ГрПЯ) зустрічаються в 2-5% та пов'язані з клітинами гранульози. Гістологічно виділяють два різновиди ГрПЯ, які мають певні клінічні та гістологічні особливості: гранульозоклітинна пухлина дорослого (95%) та ювенільного типу (вік пацієток – пубертатний період та рідше

після 30 років). Перший варіант має гістологічну схожість з ендометриїдними злужкисними епітеліальними пухлинами (ендометриїдними карциномами) яєчників, що часто потребує додаткового імуногістохімічного дослідження. ГрП ювенільного типу демонструє фенотип, характерний, навпаки, для світлоклітинних карцином яєчників; у той час, як пухлини з клітин Сертолі та Лейдіга будують структури серозних та муцинозних ЕПЯ [3, 4, 6, 9]. Досвід патоморфолога визначає суб'єктивність гістологічного висновку після рутинного зафарбовування гематоксиліном-еозинном, що викликає необхідність упорядкування диференційно-діагностичних критеріїв пухлин цієї локалізації.

Мета – покращити діагностичні критерії патогістологічного дослідження епітеліальних пухлин яєчників на підставі вивчення та порівняння рівня експресії маркера панцитокератину (AE1/AE3) в епітеліальних та гранульозоклітинних пухлинах яєчників.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У роботі проведено ретроспективний аналіз гістологічних та ІГХ досліджень післяопераційного матеріалу 43 пухлин яєчників, з них: 35 випадків епітеліальних пухлин (віком від 24 до 74 років (середнє $47,6 \pm 12,61$; медіана 49) та 8 – гранульозоклітинних пухлин яєчників дорослого типу (віком від 40 до 50 років, середнє $46,5 \pm 10,33$; медіана 47), що зверталися з КЗ «ДОКОД» ДОР, КЗ «КОД» ДОР, КЗ «ОКЛМ» ДОР продовж січня-грудня 2017 року з метою проведення ІГХ дослідження для виключення злужкисного новоутворення в морфологічний відділ діагностичного центру ТОВ «Аптеки медичної академії» м. Дніпра. Діагнози встановлювались двома досвідченими патоморфологами незалежно один від одного за сучасними класифікаціями ВООЗ [10]. Для проведення ІГХ дослідження ми використовували формалін-фіксовані і парафін-залиті зразки післяопераційного матеріалу. ІГХ дослідження проводилось згідно з протоколами компанії TermoScientific (TS), (США). У зрізах завтовшки 4 мкм використовували систему візуалізації Lab Vision Quanto (TS, США) з виявленням білкового ланцюга за допомогою DAB Quanto Chromogen (TS, США). Первинна панель ІГХ антитіл включала діагностичні антитіла до Pancytokeratin AE1/AE3 (TermoScientific, США). Титр антитіл підбирається індивідуально для кожного маркера з використанням спеціального розчину antibody diluent (Pancytokeratin AE1/AE3, розведення 1:200).

Статистичні методи дослідження. Дані досліджень підлягали статистичній обробці в

програмі Microsoft Excel, з використанням варіаційних методів, що включали визначення таких характеристик: середня арифметична; дисперсія; середнє квадратичне відхилення; коефіцієнт варіації; помилка середнього квадратичного відхилення.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

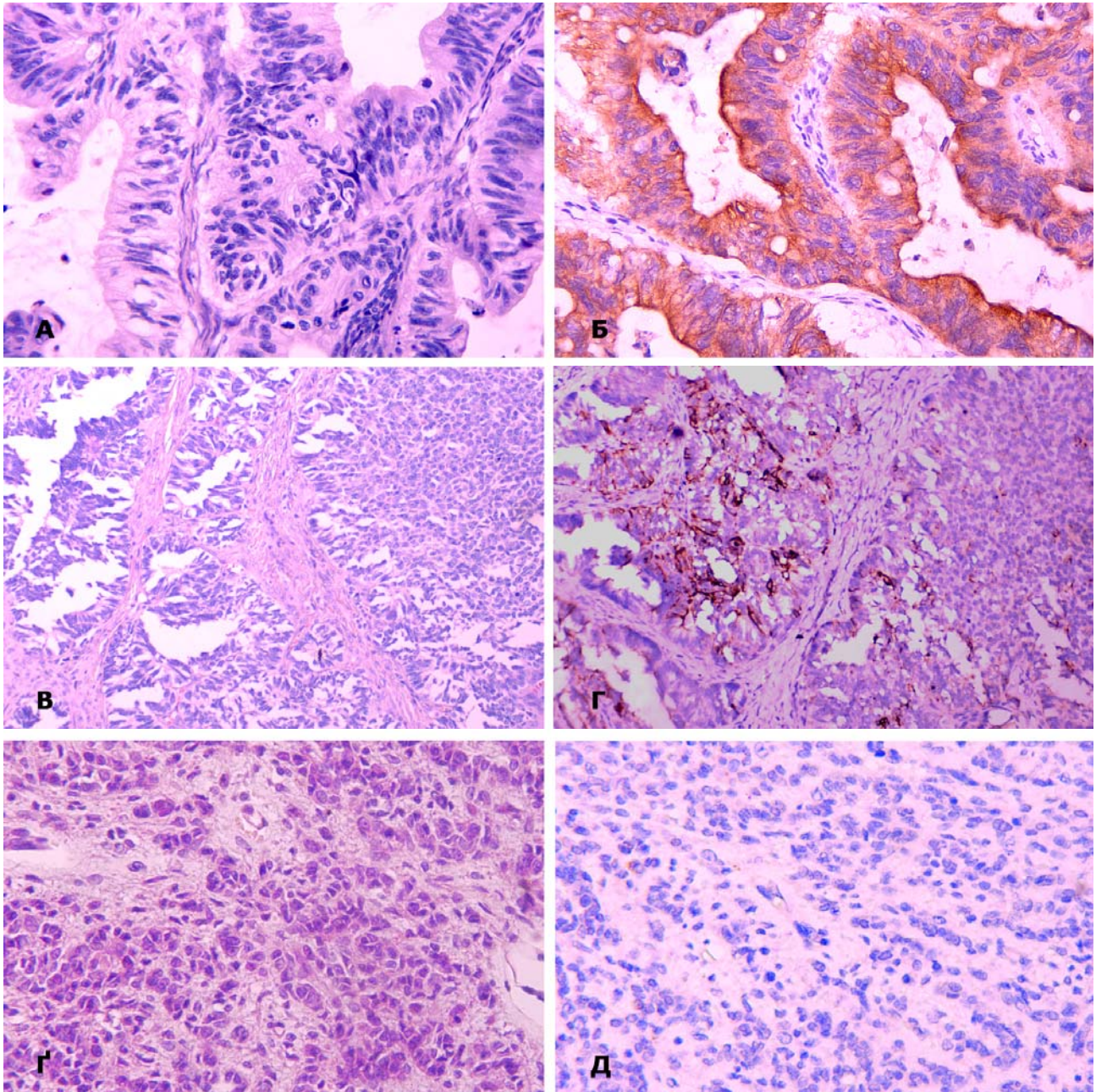
Рутинне зафарбовування (Г-Е) не завжди дозволяє відокремити головні морфологічні характеристики ЕПЯ. У цьому дослідженні було встановлено: епітеліальні пухлини ($n=35$), діагнози гранульозоклітинних пухлин дорослого типу ($n=8$) та жодного випадку пухлин з клітин Сертолі та Лейдіга за визначений період. Епітеліальні пухлини доброякісні ($n=3$), вистелені серозними або муциноподібними клітинами (ендоцервікальний тип), або ендометриїдними клітинами (менш часто зустрічалися перехідні або плоскі клітини), пограничні пухлини яєчників ($n=22$), склалися більше ніж з одного типу епітеліальних клітин, найбільш часто серозних та ендocerвікального типу; злужкисні пухлини ($n=10$). Аналізуючи розподіл гістологічних типів ПЯ серед випадків, можна виявити певну тенденцію до перевищення кількості епітеліальних пухлин (81,4%), ніж неепітеліального походження, а саме гранульозоклітинних дорослого типу (18,6%), за вказаний період ювенільних ГрПЯ у вибірці визначено не було. Ці статистичні дані розподілу не співпадають з результатами інших авторів [3, 4, 5, 6, 10], тому що не були враховані випадки епітеліальних пухлин, які не потребували ІГХ підтвердження.

У ГрПЯ дорослого типу частіше зустрічався дифузний малюнок, при якому пухлинні клітини росли в трабекулах, гніздах, хвилястих стрічках, менш часто зустрічався мікрофолікулярний малюнок, в якому клітини гранульози оточували невеликі простори. Ядра бліді, кутасті чи овальні, часто рифлені (жолобоподібні), які були розташовані безсистемно по відношенню один до одного та до фолікулів, з мітотичною активністю від 3% до 17%. За літературними джерелами, ГрПЯ ювенільного типу відрізняються вищою мітотичною активністю і мають округлі клітини з гіперхромними ядрами, які втрачають рифленість, та еозинофільною (лютеїнізованою) цитоплазмою [5, 10].

У 35 (100%) випадках епітеліальних пухлин яєчників виявлена експресія маркера Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – позитивних (+) (рис. Б), незалежно від їхнього рівня диференціювання. У 3 випадках (37,5%) гранульозоклітинних пухлин виявлений варіант експресії маркера Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – у частині клітин (+) / у частині

клітин (-) (рис. В), та в 5 випадках (62,5%) гранульозоклітинних пухлин виявлений варіант експресії маркера Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – (-) (рис. Д). Зазначений маркер можна використуву-

вати в панелі діагностичних антитіл як епітеліальних, так і гранульозоклітинних пухлин яєчників, але з урахуванням морфологічних ознак та експресією інших маркерів (табл.).



А. Серозна аденокарцинома яєчника (проліферація епітелію зсередини капсули), зафарбовування Г-Е. $\times 400$. **Б.** Серозна аденокарцинома яєчника, позитивна реакція з маркером AE1/AE3, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра. $\times 400$. **В.** Гранульозоклітинна пухлина яєчника, зафарбовування Г-Е, $\times 400$. **Г.** Гранульозоклітинна пухлина яєчника: вогнищева позитивна та негативна реакції з маркером AE1/AE3, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра. $\times 400$. **Д.** Гранульозоклітинна пухлина яєчника, зафарбовування Г-Е. $\times 400$. **Е.** Гранульозоклітинна пухлина яєчника: негативна реакція з маркером AE1/AE3, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра $\times 400$

Експресія маркера Cytokeratin, Pan AE1/AE3 в епітеліальних та гранульозоклітинних пухлинах яєчника

Гістологічний тип пухлини яєчника	Експресія маркера Cytokeratin, Pan AE1/AE3		
	«+» (позитивна), n	«+/-» (в частині клітин), n	«-» (негативна), n
Епітеліальні	33	-	-
Гранульозоклітинні, дорослого типу	-	3	5

ПІДСУМОК

Таким чином, фенотип епітеліальних пухлин яєчників відповідає панцитокератину AE1/AE3 «+» 100%, фенотип гранульозоклітинних пухлин, навпаки, здебільшого відповідає експресії маркера панцитокератину AE1/AE3 «-» 62,5%; варіант у частині клітин «+»/«-» експресія маркера панцитокератину AE1/AE3 виявлена в 37,5% гранульозоклітинних пухлинах, незалежно від потенціалу злоякісності. ГрПЯ мають варіабельну

експресію панцитокератину AE1/AE3 і потребують включення в первинну панель інших діагностичних маркерів.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням діагностичних критеріїв патогістологічного дослідження епітеліальних пухлин яєчників на підставі визначення рівнів експресії різних маркерів порівняно з іншими групами пухлин яєчників.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Иммуногистохимические особенности клеток серозной аденокарциномы яичников, определяющее клиническое течение заболевания и выживаемость больных / К.М. Пожарский, Г.А. Раскин, В.Л. Винокуров [и др.] // Архив патологии. – 2015. – № 1. – С. 38-40.
2. Adult granulosa cell tumors of the ovary: a retrospective study of 30 cases with respect to the expression of steroid synthesis enzymes / Sachiko Kitamura, Kaoru Abiko, Noriomi Matsumura [et al.] // J. Gynecologic Oncology. – 2017. – Vol. 28, N 4. – P. 31-39.
3. Hanahan D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R.A. Weinberg // Cell. – 2011. – N 4. – P. 646-674.
4. Fletcher C.D.M. Diagnostic histopathology of tumors Vol. 1. / C.D.M. Fletcher. – Hardcover: Churchill Livingstone, 2013. – 2296.
5. Kurman R.J. Blaustein's pathology of the female genital tract / R.J Kurman // Springer. – 2001. – P. 791-904.

6. Mills S.E. Diagnostic surgical pathology / S.E. Mills., D. Carter, J.K. Greenson // Wolters Kluwer. – 2010. – Vol 2. – P. 2278-2308.
7. Seromucinous component in endometrioid endometrial carcinoma as a histological predictor of prognosis / Morikazu Miyamoto, Masashi Takano, Tadashi Aoyama [et al.] // J. Gynecologic Oncology. – 2018. – Vol. 29, N 2. – P. 20-27.
8. The molecular mechanism of ovarian granulosa cell tumors / Li Jiaheng, Bao Riqiang, Peng Shiwei [et al.] // J. Ovarian Research. – 2018. – N 11. – P. 13-20.
9. Tummala M. Recurrent ovarian cancer / M. Tummala, W. McGuire // Clin. Advances Hematology Oncology. – 2005. – N 3. – P. 723-736.
10. WHO Classification of tumors of female reproductive organs / R.J. Kurman, M.L. Carcangiu, C.S. Hington [et al.]. – Revised 4th ed. – Lyon: IARC, 2014. – 307 p.

REFERENCES

1. Pozharsky KM, Raskin GA, Vinokurov VL, Yurkova LE, Mukhina MS. [Immunohistochemical features of cells of serous ovarian adenocarcinoma, determining the clinical course of the disease and the survival of patients]. Arkhiv patologii. 2015;1:38-40. Russian.
2. Sachiko Kitamura, Kaoru Abiko, Noriomi Matsumura. Adult granulosa cell tumors of the ovary: a retrospective study of 30 cases with respect to the expression of steroid synthesis enzymes. Journal of Gynecologic Oncology. 2017;28(4):31-39.

3. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011;4:646-74.
4. Fletcher CDM. author. Diagnostic histopathology of tumors. PA: Elsevier. 2013;1:658-88.
5. Kurman RJ. Blaustein's pathology of the female genital tract. Springer. 2001;791-904.
6. Mills SE, Carter D, Greenson JK. Diagnostic surgical pathology. Wolters Kluwer. 2010;2:2278-308.
7. Morikazu Miyamoto, Masashi Takano, Tadashi Aoyama. Seromucinous component in endometrioid endo-

metrial carcinoma as a histological predictor of prognosis. *Journal of Gynecologic Oncology*. 2018;29(2):20-27.

8. Jiaheng Li, Riqiang Bao, Shiwei Peng The molecular mechanism of ovarian granulosa cell tumors. *Journal of Ovarian Research*. 2018;11:13-20.

9. Tummala M, et al. Recurrent ovarian cancer. *Clinical Advances in Hematology and Oncology*. 2005;3:723-36.

10. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of tumors of female reproductive organs. Revised 4th ed. Lyon, IARC. 2014;307.

Стаття надійшла до редакції
16.04.2018

