

## РОЛЬ СОСУДИСТОГО КОМПОНЕНТА И ЭКСПРЕССИИ VEGF В ИСХОДАХ ЭНДОМЕТРИОИДНОЙ АДЕНКАРЦИНОМЫ ТЕЛА МАТКИ

Зиновкин Д.А.

ГУ «Республиканский научно практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Беларусь

*В данном исследовании было произведено сравнение морфометрических параметров сосудов и экспрессии VEGF у пациенток с ретроспективно известными исходами эндометриоидной аденокарциномы. Выявлены корреляции между морфометрическими показателями сосудов и экспрессией VEGF.*

**Ключевые слова:** эндометриоидная аденокарцинома тела матки, VEGF, площадь сосудов опухоли, количество сосудов опухоли.

### Введение

Опухоли могут находиться в скрытом состоянии годами, до того момента, пока не произойдет трансформация клеток в ангиогенный фенотип [1,5]. Этот феномен известен как ангиогенное переключение. В его основе лежит нарушение баланса между ингибиторами и активаторами ангиогенеза. Многие генетические отклонения, лежащие в основе малигнизации, такие как активация онкогенов и нарушения функционирования генов супрессии неконтролируемого роста, могут запустить ангиогенное переключение [6]. Неопластические сосуды не только обеспечивают кровоснабжение первичной опухоли, но также повышают вероятность метастатического распространения раковых клеток по кровеносной системе. Если трансформация произошла, то 100–300 опухолевых клеток способны запустить ангиогенез. Таким образом, опухоли, накопившие генетические аберрации, лежащие в основе ангиогенного переключения, обладают потенциалом к быстрому росту на ранних стадиях [1,7].

Рядом авторов было показано, что рост солидных опухолей зависит от многих факторов, наиболее значимым из которых является сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF). Данный фактор был описан впервые как гликопротеин, повышающий проницаемость сосудов микроциркуляторного русла опухоли без дегрануляции тучных клеток и повреждения эндотелия. Однако в дальнейшем было доказано, что VEGF обладает в злокачественных опухолях выраженным ангиогенным действием [14–16].

В течение последних 3-х десятилетий во всех экономически развитых странах отмечен неуклонный рост заболеваемости раком эндометрия. Наиболее часто встречающимся гистологическим типом рака тела матки является эндометриоидная аденокарцинома (ЭА) которая выявляется, по мнению разных авторов, в 75–90% всех случаев рака тела матки [2, 4, 13].

На сегодняшний день данные о сосудистом компоненте стромы ЭА и экспрессии VEGF ее опухолевыми клетками скудны и противоречивы как в отечественной, так и англоязычной зарубежной научной литературе. Не исключено, что качественные и количественные изменения сосудов ЭА и экспрессия VEGF могут являться значимыми патоморфологическими критериями прогноза течения данного заболевания [10–13].

Целью данного исследования являлось изучение микроциркуляторного русла и экспрессии VEGF, как возможных предикторов эндометриоидной аденокарциномы.

### Материалы и методы исследования

В исследовании использовались данные Белорусского канцер-регистра и архивный гистологический

материал 60 случаев с патогистологически верифицированным диагнозом ЭА I–III стадии (FIGO, 2009 г.) [6,8,9]. Пациентки были разделены на две группы. В 1-ю группу вошли случаи эндометриоидной аденокарциномы имевшие рецидивы, либо умершие от ЭА в течении 5-и лет после постановки диагноза (неблагоприятный исход). Во 2-ю – не имевшие рецидивов в течении 5-и лет после постановки диагноза (благоприятный исход). Средний возраст в группе с благоприятным исходом составил – 62,7±10,1 года; с неблагоприятным – 65,2±9,6 лет. Характеристика пациенток каждой группы по FIGO и степени дифференцировки (G) представлены в таблице 1.

**Таблица 1.** – Характеристика случаев эндометриоидной аденокарциномы 1-й и 2-й групп

| Параметр                | Группа с неблагоприятным исходом (n) | Группа с благоприятным исходом (n) |
|-------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| Стадия по FIGO          |                                      |                                    |
| I                       | 7                                    | 13                                 |
| II                      | 13                                   | 13                                 |
| III                     | 5                                    | 4                                  |
| Степень дифференцировки |                                      |                                    |
| G <sub>1</sub>          | 5                                    | 16                                 |
| G <sub>2</sub>          | 19                                   | 12                                 |
| G <sub>3</sub>          | 6                                    | 2                                  |

Для гистологического исследования готовились срезы толщиной 5–6 мкм, которые монтировали на обработанные L-полилизинном предметные стекла. Иммуногистохимическую реакцию проводили на срезах, полученных с парафиновых блоков опухолей, фиксированных в формалине и прошедших обычную проводку с использованием высокотемпературных методов восстановления антигенной иммунореактивности (обработка в микроволновой печи). В исследовании применяли антитела CD34 и VEGF (Diagnostic Biosystems, США). Визуализацию результатов иммуногистохимической реакции и контрастирование гематоксилином производили с помощью системы Mouse UnoVue™ HRP/DAB Detection System (Diagnostic Biosystems, США).

Микропрепараты фотографировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse 50i с цифровой фотокамерой DS-F1 с разрешением 1689 на 1415 пикселей в 5 полях зрения. Подсчет параметров производили с использованием пакета прикладных программ анализа изображения. Все измерения производились при увеличении ×400, площадь поля зрения составила 6 299,11×397,67=118 952,07 мкм<sup>2</sup>.

Измерение площади сосудов и микрососудистой плотности опухоли проводили в местах с наибольшим числом капилляров (hot spots)[17]. Оценку экспрессии VEGF производили, исходя из процента позитивных клеток эндотелиоидной аденокарциномы в поле зрения.

Для сравнительного анализа групп с различными исходами заболевания использовался U-критерий Манна-Уитни. Взаимосвязь между показателями определялась методом непараметрического корреляционного анализа с определением коэффициента Спирмена. Статистически значимым считался результат при  $p < 0,05$ . Обработка данных производилась с использованием пакета программ Statistica 8.0 [3].

### Результаты и обсуждение

В настоящее время широко распространена оценка степени кровоснабжения опухоли по измерению микрососудистой плотности для определения ее клинического поведения. Впервые такую характеристику опухоли предложили N.Weidner и соавт. для рака молочной железы. В дальнейшем были изучены и другие опухоли (меланомы, глиомы, рак легкого, мочевого пузыря, предстательной железы), а также их метастазы. Была обнаружена отчетливая связь между высокой плотностью микрососудов в первичной опухоли и плохим прогнозом. Также отмечалось, что количество микрососудов в наиболее хорошо кровоснабжаемых участках опухоли (так называемые «hot spot») является прогностическим показателем клинического течения и исхода заболевания при карциноме молочной и предстательной железы [8,17].

В группе пациенток с неблагоприятным исходом медиана количества сосудов в  $1 \text{ мм}^2$  ткани ЭА составляла 139,1 (74,1÷174,6), в группе с благоприятным исходом определялась медиана, равная 95,5 (57,0÷171,0). Характеристика групп представлена на рисунке 1. При сравнении данных показателей в группах с благоприятным и неблагоприятным исходами определялась статистически значимая разница ( $p < 0,001$ ).

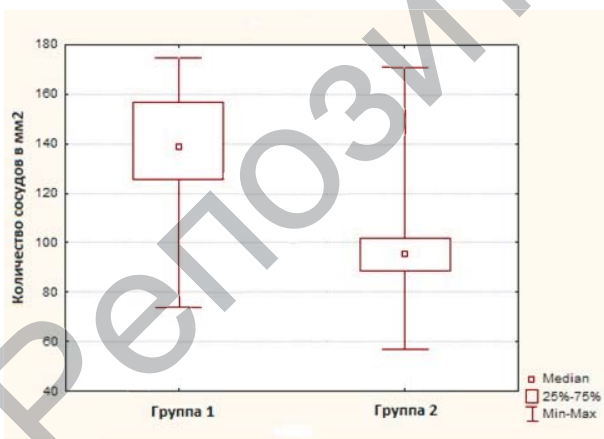


Рисунок 1. – Статистическая характеристика количества сосудов в  $1 \text{ мм}^2$  ткани опухоли у женщин с неблагоприятным (группа 1) и благоприятным (группа 2) исходом ЭА

Следует отметить, что сосуды в участках «hot spot» имели неровные просветы и нарушения строения эндотелия, которые проявлялись неравномерной экспрессией CD34 (рисунок 2).

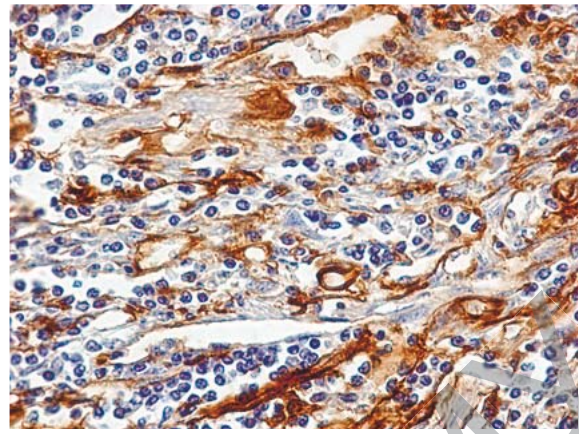


Рисунок 2. – Экспрессия CD34 эндотелием сосудов стромы опухоли. Окраска: Хромоген – диаминобензидин. Контрокрасивание гематоксилином Майера. Увеличение  $\times 400$

Медиана площади сосудов в  $1 \text{ мм}^2$  ткани опухоли в 1-й группе составляла 4904,1 (4400,1÷6245,1)  $\text{мкм}^2/\text{мм}^2$ . Медиана данного показателя во 2-й группе составила 2818,9 (1348,2÷5449,8)  $\text{мкм}^2/\text{мм}^2$ . Характеристика групп представлена на рисунке 3. При сравнении данных показателей в группах с благоприятным и неблагоприятным исходами определялась статистически значимая разница ( $p < 0,001$ ).

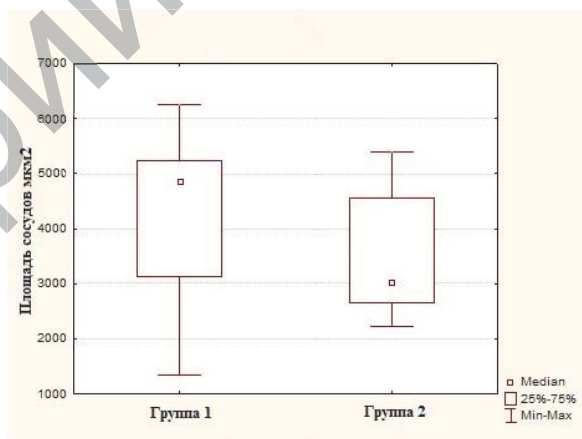
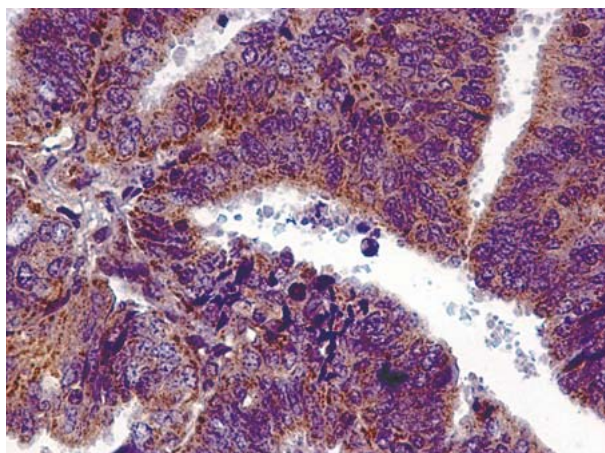


Рисунок 3. – Статистическая характеристика площади сосудов в  $1 \text{ мм}^2$  ткани опухоли у женщин с неблагоприятным (группа 1) и благоприятным (группа 2) исходом ЭА

Повышенная экспрессия VEGF опухолевыми клетками может играть важную роль в патогенезе злокачественных новообразований, поскольку кровоснабжение является одним из определяющих факторов роста опухоли. VEGF запускает неопластический ангиогенез, в результате возрастает плотность микрососудов, и малигнизированная ткань получает больше питательных веществ [1, 4]. Секрция VEGF опухолевыми клетками приводит к эскалации синтеза проангиогенных факторов; поскольку VEGF запускает ангиогенез, новые сосуды начинают снабжать малигнизированную ткань кислородом и питательными веществами, опухоль растет и вырабатывает большее количество VEGF. Кроме того, VEGF по принципу положительной обратной связи увеличивает уровень экспрессии рецептора VEGFR2 эндотелиоцитами опухолевых микрососудов, что стимулирует клеточный рост и пролиферацию эн-

дотелиальных клеток. Продемонстрировано, что VEGF играет важную роль в поддержке жизнеспособности вновь образованных неопластических сосудов, особенно при дефиците перicyтов [1, 4, 15-16].

В группе пациенток с неблагоприятным исходом экспрессия VEGF была выраженной с участками умеренной, медиана составляла 82,1% (59,1÷100,0%). Экспрессия VEGF клетками ЭА у пациенток с благоприятным исходом была неоднородной, выявлялись участки слабо и умеренной степени выраженности, медиана составляла 49% (20,8-62,1%) (рисунок 4). Характеристика групп представлена на рисунке 5.



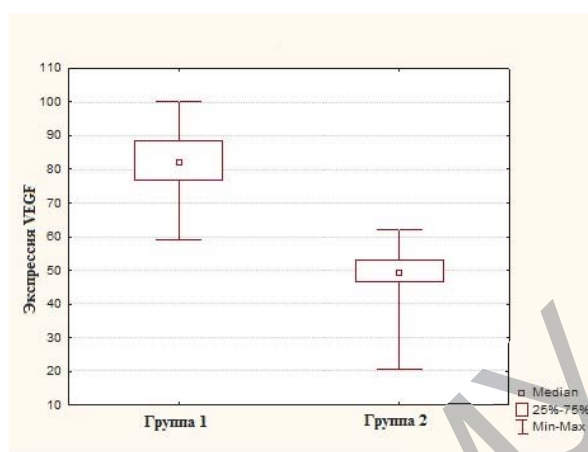
**Рисунок 4.** – Выраженная экспрессия VEGF клетками опухоли. Окраска: Хромоген – диаминобензидин. Контрокрасивание гематоксилином Майера. Увеличение ×400

При сравнении данных показателей в группах с благоприятным и неблагоприятным исходами определена статистически значимая разница ( $p < 0,001$ )

Корреляционный анализ в данном исследовании показал, что между площадью и количеством сосудов выявляется прямая сильная связь, что может указывать на патологические изменения сосудов опухоли. Корреляционные связи представлены в таблице 2. Между изменениями количества и площади сосудов и экспрессией VEGF была определена сильная корреляционная связь, что так же наблюдалось при

### Литература

1. Герштейн, Е.С. Фактор роста эндотелия сосудов клинически значимый показатель при злокачественных новообразованиях / Е.С. Герштейн [и др.] // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. – 2014. – №1. – т. 19. – С 10-20.
2. Океанов, А.Е. Статистика онкологических заболеваний / А.Е. Океанов, П.И. Моисеев, Л.Ф. Левин; под ред. О.Г. Суконко. – Минск: [б.и.], 2014 – С.147-152.
3. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 512 с
4. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований / Гос. Учреждение «Республ. научн.-практ. центр. онкол. и мед. радиол. им Н.Н. Александрова»; редкол. О.Г. Суконко [и др.]. – Минск: «Профессиональные издания», 2012 – С. 278-295.
5. Чехонин, В.П. Роль VEGF в развитии неопластиче-



**Рисунок 5.** – Статистическая характеристика экспрессии VEGF у женщин с неблагоприятным (группа 1) и благоприятным (группа 2) исходом ЭА

**Таблица 2.** – Корреляции между изменениями сосудов и экспрессией VEGF

| Корреляции  | $\tau$ | P      |
|---|--------|--------|
| Количество сосудов в 1 мм <sup>2</sup> опухоли & площадь сосудов в 1мм <sup>2</sup> опухоли | 0,727  | <0,001 |
| Количество сосудов в 1 мм <sup>2</sup> опухоли & VEGF                                       | 0,536  |        |
| Площадь сосудов в 1мм <sup>2</sup> опухоли & VEGF   | 0,717  |        |

злокачественных опухолях других локализаций (глиомы, рак молочной железы, толстой кишки, легкого)

### Выводы

1. Определение количества сосудов и их площади в 1 мм<sup>2</sup> ткани опухоли может быть использовано как прогностический признак неблагоприятного течения ЭА тела матки.
2. Экспрессия клетками опухоли VEGF может являться прогностически значимым критерием неблагоприятного течения ЭА тела матки.
3. Изменения площади и количества сосудов в ткани опухоли сильно коррелируют с уровнем экспрессии VEGF, что может указывать на то, что он играет одну из ведущих ролей в неопластическом ангиогенезе ЭА тела матки.

### Литература

1. Gershtejn, E.S. Faktor rosta e'ndoteliya sosudov klinicheski znachimy'j pokazatel' pri zlokachestvenny'x novoobrazovaniyax / E.S. Gershtejn [i dr.] // Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya: Estestvenny'e i texnicheskie nauki. – 2014. – №1. – t. 19. – S 10-20.
2. Okeanov, A.E. Statistika onkologicheskix zabolevanij / A.E. Okeanov, P.I. Moiseev, L.F. Levin; pod red. O.G. Sukonko. – Minsk: [b.i.], 2014 – S.147-152.
3. Rebrova, O.Yu. Statisticheskij analiz medicinskih danny'x. Primenenie prikladny'x programm Statistica / O.Yu. Rebrova. – M.: Media Sfera, 2002. – 512 c
4. Algoritmy' diagnostiki i lecheniya zlokachestvenny'x novoobrazovaniy / Gos. Uchrezhdenie «Respubl. nauchn.-prakt. centr. onkol. i med. radiol. im N.N. Aleksandrova»; redkol. O.G. Sukonko [i dr.]. – Minsk: «Professional'n'y'e izdaniya», 2012 – S. 278-295.
5. Chexonin, V.P. Rol' VEGF v razvitii neoplasticheskogo

ского ангиогенеза / В.П. Чехонин [и др.] // Вестник РАМН. – 2012. – №2. – С 23-33.

6. Endometrioid carcinoma of the uterus: pathologic and molecular features // A. Azueta [et al.] // Seminars in Diagnostic Pathology. – 2010. – Vol. 27. – P 227-240.

7. VEGF-1 expression in colorectal cancer is associated with disease localization, stage, and long-term disease-specific survival / R. Bendardaf [et al.] // Anticancer Res. – 2008. – Vol. 28. – P. 3865–3870.

8. Damjanov, I. Cancer grading manual / I. Damjanov, F. Fan; под ред. I. Damjanov. – New York: Springer, 2013. – P. 121-122.

9. Endometrial carcinoma / G.S.Silverberg [et al.] // World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs / A. Fattaneh [et al.]– Lyon, 2000. – P. 221–230

10. Increased microvascular proliferation is negatively correlated to tumour blood flow and is associated with unfavourable outcome in endometrial carcinomas / I.S. Haldorsen [et al.] // Br. J. Cancer. – 2014. – Vol. 110. – № 1. –P. 107-114.

11. Endoglin, VEGF, and its receptors in predicting metastases in endometrial carcinoma / S.K. Saarelainen [et al.] // Tumour Biol. – 2014. – Vol. 35. –№ 5. –P. 4651-4657.

12. Angiogenic factors in normal endometrium and endometrial adenocarcinoma / M. Saito [et al.] // Angiogenic factors in normal endometrium and endometrial adenocarcinoma / Pathol. Int. – 2007. – Vol. 57. – № 3. – P. 140-147.

13. Necrosis related HIF-1 $\alpha$  expression predicts prognosis in patients with endometrioid endometrial carcinoma / L.M. Seeber [et al.] // BMC Cancer. – 2010. – Vol. 307. №10. – P. 1471-1477.

14. Tumor angiogenesis, macrophages and mast cell microdensities in endometrioid endometrial carcinoma / C. Simionescu [et al.] // Oncol. Lett. – 2013. – Vol. 6. – № 2. – P. 415-420.

15. Vascular proliferation is important for clinical progress of endometrial cancer / I.M. Stefansson [et al.] // Cancer Res. – 2006. – Vol. 66. – № 6. –P. 3303-3309.

16. Expression profiling and significance of VEGF-A, VEGFR2, VEGFR3 and related proteins in endometrial carcinoma / J. Wang [et al.] // Cytokine. – 2014. – Vol. 68. – № 2. –P. 94-100.

17. Weidner, N. Modern surgical pathology (2nd Edition) / Ed. N. Weidner [et al.] // Saunders -Elsevier, Philadelphia. – 2009. – 2233 p.

angiogeneza / V.P. Chexonin [i dr.] // Vestnik RAMN. – 2012. – №2. – S 23-33.

6. Endometrioid carcinoma of the uterus: pathologic and molecular features // A. Azueta [et al.] // Seminars in Diagnostic Pathology. – 2010. – Vol. 27. – P 227-240.

7. VEGF-1 expression in colorectal cancer is associated with disease localization, stage, and long-term disease-specific survival / R. Bendardaf [et al.] // Anticancer Res. – 2008. – Vol. 28. – P. 3865–3870.

8. Damjanov, I. Cancer grading manual / I. Damjanov, F. Fan; pod red. I. Damjanov. – New York: Springer, 2013. – P. 121-122.

9. Endometrial sarcoma / G.S.Silverberg [et al.] // World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs / A. Fattaneh [et al.]– Lyon, 2000. – P. 221–230

10. Increased microvascular proliferation is negatively correlated to tumour blood flow and is associated with unfavourable outcome in endometrial carcinomas / I.S. Haldorsen [et al.] // Br. J. Cancer. – 2014. – Vol. 110. – № 1. –P. 107-114.

11. Endoglin, VEGF, and its receptors in predicting metastases in endometrial carcinoma / S.K. Saarelainen [et al.] // Tumour Biol. – 2014. – Vol. 35. –№ 5. –P. 4651-4657.

12. Angiogenic factors in normal endometrium and endometrial adenocarcinoma / M. Saito [et al.] // Angiogenic factors in normal endometrium and endometrial adenocarcinoma / Pathol. Int. – 2007. – Vol. 57. – № 3. – P. 140-147.

13. Necrosis related HIF-1 $\alpha$  expression predicts prognosis in patients with endometrioid endometrial carcinoma / L.M. Seeber [et al.] // BMC Cancer. – 2010. – Vol. 307. №10. – P. 1471-1477.

14. Tumor angiogenesis, macrophages and mast cell microdensities in endometrioid endometrial carcinoma / C. Simionescu [et al.] // Oncol. Lett. – 2013. – Vol. 6. – № 2. – P. 415-420.

15. Vascular proliferation is important for clinical progress of endometrial cancer / I.M. Stefansson [et al.] // Cancer Res. – 2006. – Vol. 66. – № 6. –P. 3303-3309.

16. Expression profiling and significance of VEGF-A, VEGFR2, VEGFR3 and related proteins in endometrial carcinoma / J. Wang [et al.] // Cytokine. – 2014. – Vol. 68. – № 2. –R. 94-100.

17. Weidner, N. Modern surgical pathology (2nd Edition) / Ed. N. Weidner [et al.] // Saunders -Elsevier, Philadelphia. – 2009. – 2233 p.

## ROLE OF VASCULAR COMPONENT AND VEGF EXPRESSION FOR OUTCOMES OF ENDOMETRIOID ADENOCARCINOMA OF CORPUS UTERI

Zinovkin D.A.

State Establishment "Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology", Gomel, Belarus

*In this study, morphometrical criteria of vessels and VEGF expression were compared in patients with the retrospectively known outcomes of endometrioid adenocarcinoma. Correlation between morphometrical criteria of vessels and VEGF expression was revealed.*

**Key words:** endometrioid adenocarcinoma of the corpus uteri, VEGF, area of vessels of tumor, number of vessels of tumor

Адрес для корреспонденции: e-mail: zinych007@yandex.ru

Поступила 15.06.2015