

Abstract

A. M. Romanjuk,
N. I. Hyryavenko,
M. S. Lyndin,
¹**D. H. Sumtsov,**
A. V. Zolotarova,
Sumy State University,
2 Rymsky-Korsakov st.,
Sumy 40007, Ukraine;
¹*Regional Communal*
Institution "Sumy Regional
Clinical Oncology Center",
31 Pryvokzalna st., Sumy,
Ukraine, 40022

MORPHOLOGICAL FEATURES OF FALLOPIAN TUBE PRIMARY CANCER

Fallopian tubes primary carcinoma is rarely observed in practice. Among all female genital malignant tumors, as reported in the world and national literature, it constitutes 0.13 % to 1.8 %. Fallopian tube primary cancer is difficult to diagnose; it should be differentiated from: inflammation, tuberculosis, tubal pregnancy, malignant tumors of the ovaries, peritoneum, metastatic cancer lesion of uterine appendages.

The aim of this study is to investigate morphological status and progesterone, estrogen receptor expression in the fallopian tubes cancer tissue. The relationship between histological and receptor status had been shown in this work.

Fallopian tube cancer tissue of 30 women was operated at Sumy Regional Clinical Oncology Center. The histological characteristics were studied for tissue sections stained by hematoxylin-eosin. Receptors of steroid hormone expression were studied by immunohistochemical method with monoclonal antibodies. Progesterone and estrogen expression was evaluated by methods of Remmele (1987), McCarty (1985) and Allred (1998), with proportion of stained nuclei and intensity.

The results demonstrated the dependence between fallopian tubes cancer receptor status and its histological features. Reduced differentiation of malignant process resulted in decrease of receptors sensitive to steroid hormones, which indicates the carcinogenesis progression. Both histological diagnosis and immunohistochemical profile of tumor are required when studying fallopian tube cancer tissue after surgical treatment.

Keywords: fallopian tubes, tumor, expression of receptors, immunohistochemistry, estrogen, progesterone.

Corresponding author: *natasha-gir@mail.ru*

Резюме

A. M. Романюк,
Н. І. Гирявенко,
М. С. Ліндін,
¹**Д. Г. Сумцов,**
А. В. Золотарьова,
Сумський державний
університет, вул. Римського-
Корсакова, 2, Суми,
Україна, 40007;
¹*Обласний комунальний заклад*
«Сумський обласний клінічний
онкологічний диспансер»,
вул. Привокзальна, 31, Суми,
Україна, 40022

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРВИННОГО РАКУ МАТКОВИХ ТРУБ

Робота присвячена вивченню морфологічних особливостей та експресії рецепторів естрогену та прогестерону в тканині раку маткових труб. Гістологічні характеристики тканини первинного раку маткових труб вивчалися на серійно-ступінчатих зрізах, забарвлених гематоксилін-еозином. Експресію рецепторів стероїдних гормонів вивчали за допомогою імуногістохімічного дослідження з використанням моноклональних антитіл. Результати проведеного дослідження засвідчили, що при зниженні диференціювання пухлини відбувається зниження експресії рецепторів естрогену та прогестерону. Це свідчить про несприятливий перебіг раку маткових труб та погіршення терапевтичного прогнозу.

Ключові слова: маткові труби, пухлина, експресія рецепторів, імуногістохімія, естроген, прогестерон.

Резюме

А. Н. Романюк,
Н. И. Гирявенко,
Н. С. Лындин,
1) Д. Г. Сумцов,

А. В. Золотарева,
Сумський державний
університет, ул. Римського-
Корсакова, 2, Сумы,
Україна, 40007;

1) Обласне комунальне
учреждение «Сумської обласної
клінічної онкологічної
диспансер», ул. Привокзальна,
31, Сумы, Україна, 40022

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРВИЧНОГО РАКА МАТОЧНЫХ ТРУБ

Работа посвящена изучению морфологических особенностей и экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в ткани рака маточных труб. Гистологические характеристики ткани первичного рака маточных труб изучались на серийно-ступенчатых срезах, окрашенных гематоксилин-эозином. Экспрессию рецепторов стероидных гормонов изучали с помощью иммуногистохимического исследования с использованием моноклональных антител. Результаты проведенного исследования показали, что при снижении дифференцировки опухоли происходит снижение экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона. Это свидетельствует о неблагоприятном течении рака маточных труб и ухудшении терапевтического прогноза.

Ключевые слова: маточные трубы, опухоль, экспрессия рецепторов, иммуногистохимия, эстроген, прогестерон.

Автор, відповідальний за листування: natasha-gir@mail.ru

Вступ

Первинний рак маткових труб (ПРМТ) у практичній діяльності лікарів трапляється доволі рідко. Серед усіх злоякісних новоутворень жіночих статевих органів згідно з даними світової та вітчизняної літератури частота його виявлення становить від 0,13 до 1,8 % [1, 2]. Як правило, пухлина уражає одну маткову трубу. Діагностика ПРМТ складна: його необхідно диференціювати із запальними процесами, туберкульозом, трубною вагітністю, злоякісними пухлинами яєчників, очеревини, метастатичним ураженням придатків матки.

Наступним важливим питанням у проблемі диференціальної діагностики раку маткових труб (РМТ) є так звані «злоякісні тубооваріальні пухлини». Це поняття як термін штучно введено з урахуванням тісної анатомічної, функціональної спільності яєчника й маткової труби, їх гормонального взаємозв'язку, а також труднощів установлення топичності початкового пухлинного процесу. Найчастіше в пухлинному конгломераті первинність ураження (маткова труба чи яєчник) і шляхи поширення пухлинного процесу визначити важко навіть при скерованому морфологічному дослідженні операційного матеріалу. Тому логічно припустити, що розвиток пухлинного процесу у матковій трубці в клінічній практиці реально трапляється значно частіше. Про це частково свід-

чать значні розбіжності в публікаціях про захворюваність на ПРМТ, що в першу чергу залежить від якості морфологічної діагностики та спрямованості наукових або клінічних досліджень [1].

Перебіг пухлинного процесу залежить від ряду факторів: рівня диференціювання пухлини, її будови, активності інфільтруючого росту. У процесі анаплазії пухлина набуває нових властивостей та втрачає притаманні їй якості. У гормонально-чутливих клітинах статевих органів β-естрадіол, з'єднуючись із рецепторами до стероїдних гормонів, утворює комплекси, що виявляють стимулювальну мітотичну активність. Саме руйнування цього механізму лежить в основі гормонотерапії. Доведено, що естроген (ER)- і прогестерон (PR)-рецепторний статуси пухлини молочної залози вважаються одними із найпотужніших прогностичних маркерів: у разі наявності естроген- або прогестерон-позитивної пухлини остання є керованою і контрольованою антигормональними препаратами [3].

Ураховуючи вищезазначене, метою нашого дослідження стало вивчення морфологічних та імуногістохімічних (ІГХ) особливостей тканини ПРМТ та дослідження взаємозв'язку між його гістологічними особливостями і рецепторним статусом пухлини.



Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводили на тканині РМТ 30 жінок, прооперованих із приводу даного захворюван-

ня в Сумському обласному клінічному онкологічному диспансері за період із 2005 до 2014 року.

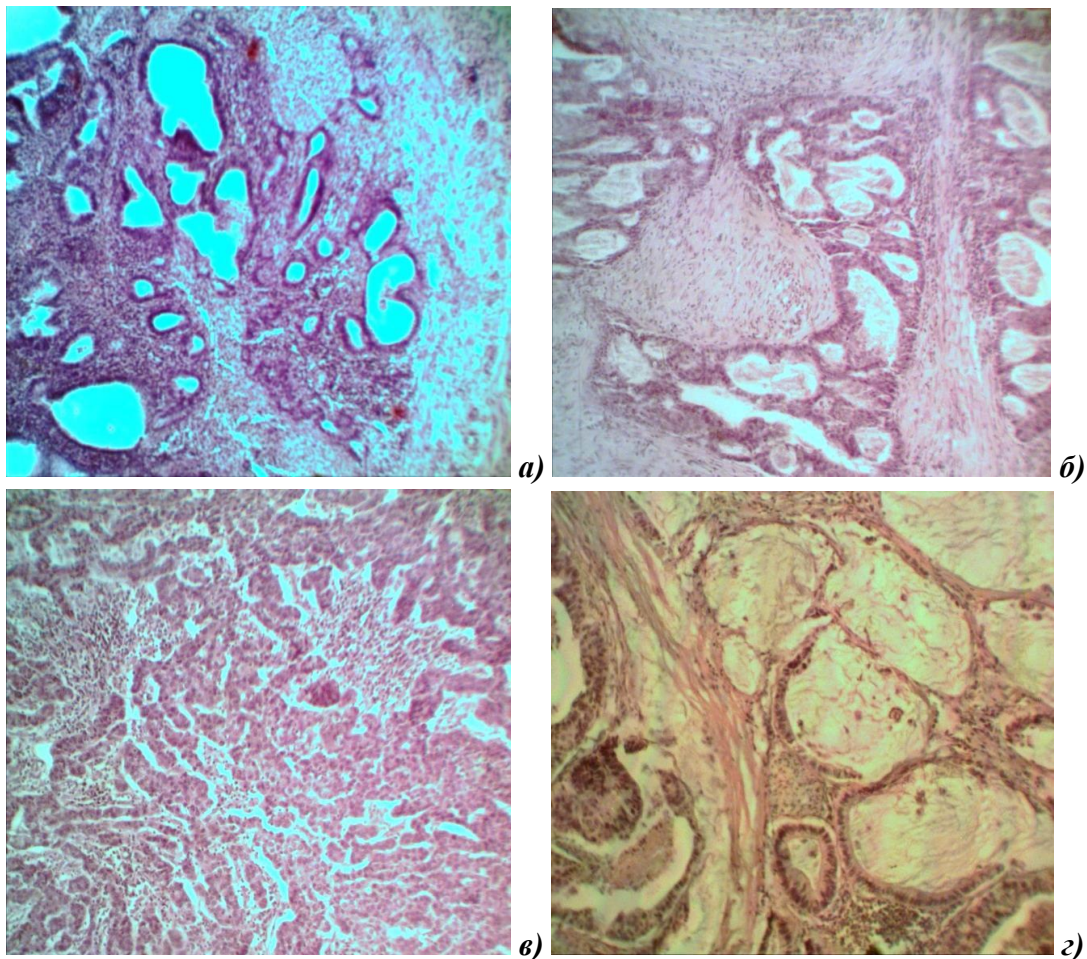


Рисунок 1 – Гістологічні варіанти РМТ. Забарвлення гематоксилін-еозином (Зб. х100):

а) високодиференційована серозна аденокарцинома; б) серозна аденокарцинома помірної диференціації; в) низькодиференційована серозна аденокарцинома; з) муцинозна аденокарцинома

Гістологічні характеристики тканин вивчалися з використанням серійно-ступінчатих зрізів, забарвлених гематоксилін-еозином. За допомогою цифрової системи виведення зображення «SEO Scan» (Україна) знімки мікропрепаратів документували та зберігали на персональному комп'ютері. Для проведення ІГХ-дослідження виготовляли зрізи завтовшки 3–4 мкм, що підлягали стандартній депарафінації та зневодненню у ксилолі та спиртах зростаючої концентрації. Імуногістохімічна реакція проходила 2 етапами [4]:

I – інкубування з первинними кролячими моноклональними антитілами в розведенні 1:400 (клон SP1 – для визначення ER, клон SP2 – для PR) упродовж 50 хвилин ($t = 370\text{ }^{\circ}\text{C}$);

II – інкубування із вторинними антитілами (UltraVision ONE HRP Polymer) – 30 хвилин ($t = 370\text{ }^{\circ}\text{C}$). Як хромоген використано діамінобензидин ($t = 370\text{ }^{\circ}\text{C} - 50$ хвилин) з дофарбовуванням негативно забарвлених ядер гематоксиліном Маєра. Оцінювання експресії ER та PR проводили за способами Remmler (1987) [5], McCarty (1985) [6] та Allred (1998) [7] з урахуванням частки забарвлених ядер та інтенсивності їх забарвлення. Будь-яке фарбування, крім ядерного, інтерпретувалося як негативне. Під час проведення статистичного дослідження використовували програму Microsoft Excel 2010 з додатком AtteStat 12.0.5. Взаємозв'язок між досліджуваними показниками оцінювали згідно з критерієм кореляції Пірсона (r) з урахуванням

нормальності вибірки за критерієм Колмогорова, різницю вважали імовірною при $p < 0,05$.

Результати дослідження

Виявлення первинності злоякісного ураження маткових труб проводилося на основі 4 критеріїв:

1) пухлина при макроскопічному дослідженні локалізувалася в матковій трубці;

2) при мікроскопічному дослідженні була ушкоджена вся слизова оболонка, і пухлина переважно мала папілярний малюнок будови;

3) якщо стінка труби уражена на великій відстані, виявлявся перехід між ушкодженим та інтактним трубним епітелієм;

4) у тубооваріальних пухлинах більша частина пухлини макроскопічно містилася в трубці, а не в яєчнику.

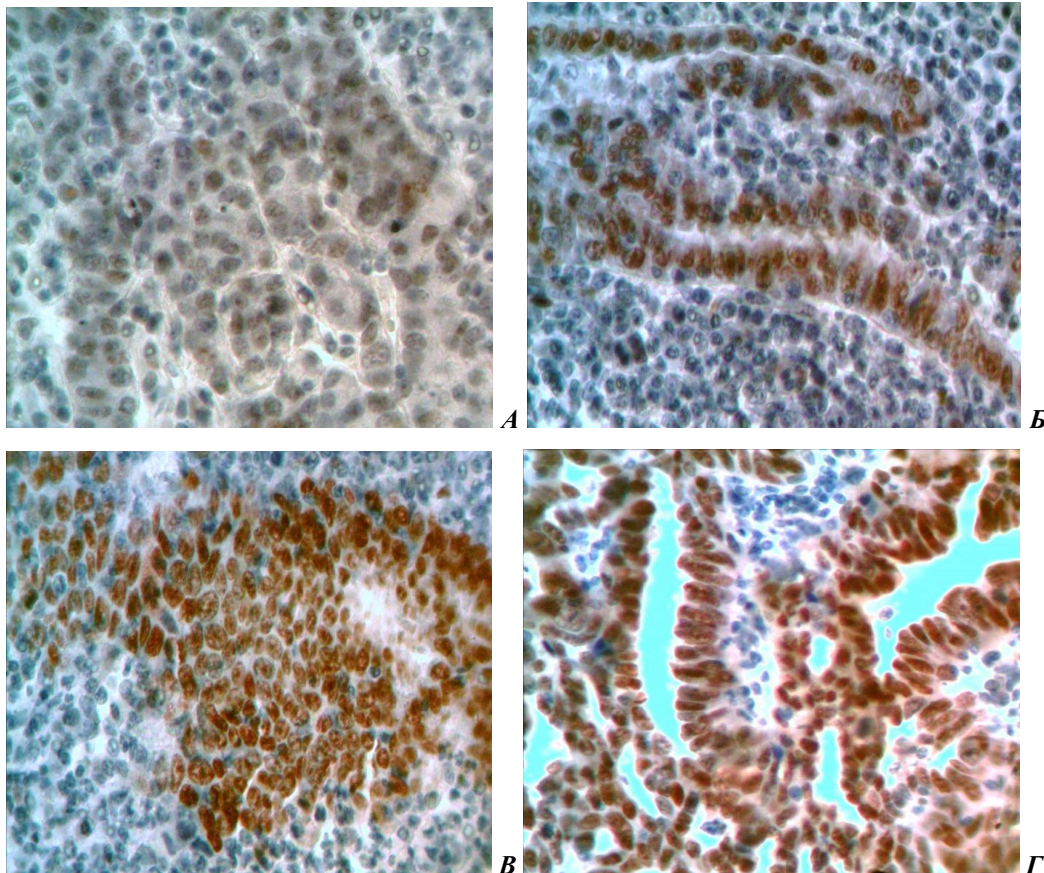


Рисунок 2 – Експресія рецепторів стероїдних гормонів (Зб. х400):

А – негативна реакція; Б – слабопозитивна реакція; В – помірно позитивна реакція; Г – сильно позитивна реакція

Дослідження гістологічних препаратів виявило, що у тканині РМТ у 29 випадках представлена серозна аденокарцинома різного ступеню диференціювання та 1 випадок муцинозної аденокарциноми. Основою визначення диференціювання неоплазії були ступінь структурної перебудови пухлинної тканини та атипія ядер епітеліальних клітин. У високодиференційованій аденокарциномі ділянки солідної будови спостерігалися рідко і не перевищували 5 %, була слабовиражена атипія ядер пухлинних клітин (рис. 1А). Більш високий вміст ділянок солідної будови (6–50 % пухлинної тканини) ха-

рактерний для помірно диференційованої аденокарциноми, навіть якщо атипія ядер епітеліальних клітин виражена слабо. Разом із тим помірно диференційованою аденокарциномою вважали пухлину з підвищеним ядерно-цитоплазматичним співвідношенням, незважаючи на незначний вміст солідних ділянок (рис. 1Б). Низькодиференційована аденокарцинома являла собою пухлину, в якій у гістологічній картині переважали солідні ділянки з вираженою атипією ядер пухлинних клітин (рис. 1В). Муцинозна аденокарцинома характеризувалася наявністю в атипичних епітеліальних

клітинах значної кількості муцину (рис. 1Г). Однак необхідно зазначити, що ступінь диференціювання пухлини може змінюватися як у процесі прогресування захворювання, так і в результаті проведеного лікування, а також може бути різним в первинній пухлині та її метастазах. Рівень анаплазії пухлини є важливим прогностичним фактором, оскільки впливає на частоту метастазування та чутливість раку до терапії.

При ІГХ-дослідженні встановлено, що патерном експресії стероїдних гормонів є ядро. Так, позитивну реакцію на наявність ER виявлено у 67 % хворих, а PR – у 50 % випадків. Під час дослідження ядерної експресії рецепторів у тканині ПРМТ за методами Remmle (1987), McCarty (1985) та Allred (1998) виявлено усі 4 типи експресії рецепторів (рис. 2). Одержані результати подані в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1 – Експресія рівня рецепторів ER у тканині ПРМТ

Метод оцінювання ступеня вираженості експресії рецепторів ER	Негативна реакція		Слабопозитивна реакція		Помірно позитивна реакція		Сильно позитивна реакція	
	кількість	%	кількість	%	кількість	%	кількість	%
Allred (1998)	10	33,3	2	6,7	12	40	6	20
McCarty (1985)	10	33,3	2	6,7	11	36,7	7	23,3
Remmle (1987)	10	33,3	3	10	10	33,3	7	23,3

Таблиця 2 – Експресія рівня рецепторів PR в тканині ПРМТ

Метод оцінювання ступеня вираженості експресії рецепторів PR	Негативна реакція		Слабопозитивна реакція		Помірно позитивна реакція		Сильно позитивна реакція	
	кількість	%	кількість	%	кількість	%	кількість	%
Allred (1998)	15	50,0	1	3,33	10	33,3	4	13,4
McCarty (1985)	15	50,0	1	3,33	9	30	5	16,7
Remmle (1987)	15	50,0	2	6,7	8	26,6	5	16,7

Обговорення результатів. Аналізуючи одержані результати, можна стверджувати, що значних відмінностей у методиці оцінювання експресії рецепторів не виявлено. Хоча мало місце віднесення одного з випадків помірно позитивної реакції до групи сильно позитивної реакції (за методом McCarty) та віднесення одного з випадків помірно позитивної реакції до групи сильно позитивної реакції та помірно позитивної реакції – до групи слабопозитивної реакції (за методом Remmle). Така сама картина спостерігалася і під час дослідження рівня рецепторів PR.

Порівнюючи показники експресії ER та PR,

виявлено, що 67 % пухлин є естроген-позитивними, а 50 % пухлин – прогестерон-позитивними. Установлено сильний прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,91$) між цими двома показниками ($p < 0,05$). При зіставленні даних гістологічного та ІГХ-дослідження виявлено, що ступінь експресії рецепторів стероїдних гормонів обернено пропорційно ($r = -0,64$) залежав від рівня диференціювання ПРМТ (переважання експресії рецепторів до стероїдних гормонів у пухлинах із високим ступенем диференціювання ($p < 0,05$)). Ці дані свідчать про втрату чутливості пухлинних клітин РМТ до антигормональної терапії при зниженні його диференціювання.

Висновки

1. Одержані результати свідчать про залежність рецепторного статусу раку маткових труб від його гістологічних особливостей. При зниженні диференціювання злоякісного процесу спостерігається зменшення кількості рецепторів

до стероїдних гормонів, що свідчить про агресивність перебігу та прогресування процесів канцерогенезу.

2. Будь-який із вищеперелічених методів може використовуватися для оцінювання експресії рецепторів ER та PR.



3. Одержані результати свідчать про необхідність установлення як гістологічного діагнозу, так і імуногістохімічного профілю ПРМТ під

час дослідження операційного матеріалу раку маткових труб.

Перспективи подальших досліджень

Вивчення імуногістохімічних маркерів апоптозу, проліферативної активності, адгезивної

спроможності, інвазійного потенціалу пухлинних клітин та епігенетичних змін ДНК у тканині ПМТ.

References (список літератури)

1. Krasilenko DN, Vorobyova LI. [Results of application different circuits of adjuvant chemotherapy in complex treatment of patients with primary fallopian tube cancer]. *Onkologiya*. 2003;5(1):46–48.
2. Tavassoli FA, Devilee P. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs*. Lyon: IARC Press, 2003. 206 p.
3. Romanyuk AM, LindIn MS, Moskalenko RA, Zolotarova AV. [Evaluation of the receptors estrogen, progesterone and her-2/neu expression in the breast cancer tissue under the influence of trace elements on the body]. *J.Clin.Exp. Med.Res.* 2014; 2(2):168–175.
4. Babichenko II., Kovyazin VA. *Novyye metodyi immunogistohimicheskoy diagnostiki opuholevogo rosta* [New methods of tumor growth by immunohistochemical diagnostic]. Moskva: RUDN Publ., 2008. pp.12–24.
5. Remmele W, Stegner HE. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue. *Pathologe*: 1987;8(3):138–140.
6. McCarty KS Jr, Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty KS Sr. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med*: 1985;109(8):716–721.
7. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Modern Pathology: an Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology*: 1998;11:155–168.

(received 12.11.2015, published online 28.12.2015)

(отримано 12.11.2015, опубліковано 28.12.2015)

