

О.А. Савченко

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Надійшла: 12.08.2019

Прийнята: 14.09.2019

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.120-125>

УДК: 618.11:611.018.7]-006-07:616-091.8

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ НОВОУТВОРЕНЬ ЯЄЧНИКІВ РІЗНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЗЛОЯКІСНОСТІ

Savchenko O.A. ✉ **Histological and immunohistochemical features of the ovarian malignant tumors with different histogenesis.**

SI «Dnipropetrovsk medical academy of the Ministry of Health of Ukraine», Dnipro, Ukraine

ABSTRACT. Background. Among neoplastic gynecologic diseases, ovarian cancer is in the top five in mortality, ranking fourth. These facts are explained, on the one hand, by the lack of specific clinical manifestations, which causes the diagnosis of the process in its later stages with often metastatic lesions. On the other hand, there is the problem of reliable verification of the diagnosis. The division of ovarian cancer into type 1 and type 2 indicates different patterns of ontogeny. The **objective** of the study is to improve the complex of differential diagnostic morphological criteria for the verification of benign, borderline and malignant ovarian tumors, based on the latest international classifications. **Methods.** A retrospective analysis of 169 ovarian epithelial tumors, including 37 cases of benign tumors, 120 cases of borderline tumors and 12 highly differentiated carcinomas of various histological types, included the evaluation of immunohistochemical features with subsequent statistical processing of the results obtained. **Results.** In all groups of epithelial tumors of the ovary, certain groups and differences of different histological features (changes in the structure of the cover epithelium, polymorphism of tumor cells) and features of immunophenotypes of the investigated tumors were revealed. These data make it possible to speak about the diagnostic value of each indicator for the investigated epithelial tumors of the ovaries. **Conclusion.** Among the histological characteristics of importance were: epithelium cover, the degree of expression of polymorphism, the indicator of mitotic activity. Among the panel of immunohistochemical antibodies are the cytokeratin fractions (cytokeratin 7, cytokeratin 20), the nature of staining on Ki-67, p53, WT-1, EMA and CA-125.

Key words: serous tumors, mucinous tumors, light cell tumors, serous-mucinous tumors, Brenner tumors, benign and borderline tumors, highly differentiated ovarian carcinomas, immunohistochemical profile.

Citation:

Savchenko OA. [Histological and immunohistochemical features of the ovarian malignant tumors with different histogenesis]. *Morphologia*. 2019;13(3):120-5. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.120-125>

✉ savchenko.oksana21@gmail.com

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Вступ

Рак яєчників (РЯ) є поширеною у всьому світі причиною смерті від раку серед жінок з гінекологічними неоплазіями, 5-ти річна виживаність досягає 45-50% [1-3]. Гетерогенну групу РЯ за морфологічною будовою та дослідженням генів поділяють на два підтипи - I та II тип: I тип включає високодиференційовані серозну, муцинозну, ендометриоїдну, світлоклітинну карциноми; II тип - низькодиференційовані серозну, ендометриоїдну, недиференційовану карциному та злоякісні змішані мезодермальні пухлини. Зазначені підтипи мають унікальну біологічну поведінку та відповідь на проведену терапію. Розвиток молекулярної генетики, імуногістохімії

(ІГХ) та сучасної морфології дозволили повному розглянути процеси канцерогенезу злоякісних епітеліальних пухлин яєчників, зокрема вивчаються процеси онкогенеза серозних карцином. Високодиференційовані серозні карциноми (ВСК) можуть бути утворені з серозних цистаденом, які переростають в пограничну серозну пухлину, далі в неінвазивну карциному, потім до інвазивної карциноми. Раніше вважалося, що у виникненні низькодиференційованих серозних карцином відіграє прогресування ВСК, але визнано, що зазначені пухлини розвиваються за різними молекулярними шляхами [4-9].

Мета

Удосконалити диференційно-діагностичні морфологічні та ІГХ критерії верифікації ново-

утворень яєчників епітеліального гістогенезу, базуючись на новітні міжнародні класифікаційні дані.

Матеріали і методи

В роботі проведено ретроспективний аналіз 169 випадків епітеліальних пухлин яєчників (ЕПЯ) післяопераційного матеріалу жінок, що звернулися в морфологічний відділ діагностичного центру ООО «Аптеки медичної академії» м. Дніпра за період з 2014 по 2017 рр. з метою проведення ІГХ дослідження для верифікації діагнозу. Проведено аналіз морфологічних (гістологічних та імуногістохімічних) характеристик доброякісних, пограничних та злоякісних

(високодиференційованих карцином) новоутворень яєчників епітеліального гістогенезу згідно до класифікації ВООЗ новоутворень жіночої репродуктивної системи, 2014р.

Всі досліджені випадки були первинними пухлинами яєчників. За потенціалом злоякісності вони були диференційовані на доброякісні, пограничні та високодиференційовані карциноми (ВК) - РЯ I типу; за гістологічної будовою серед них було виявлено: серозні, муцинозні, ендометриїдні, світлоклітинні, серозно-муцинозні та пухлини Бреннера (ПБ)]. Розподіл пухлин за гістологічною будовою зображений на діаграмі:



До нашого дослідження увійшло: 37 доброякісних ПЯ (21,9%), 120 випадків пограничних ПЯ (70,83%) та 12 випадків (7,1%) злоякісних ВК. До нашого дослідження не увійшло жодного випадку пограничних та злоякісних пухлин Бренера, неінвазивної ВК яєчників.

Вік пацієнок із діагнозом ЕПЯ знаходився у діапазоні від 18 до 76 років із середнім значенням $45,30 \pm 11,89$ років, медіана 44 рік.

Для проведення ІГХ дослідження ми використовували формалін-фіксовані і парафін-залиті примірники післяопераційного матеріалу. Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження проводи-

лось згідно протоколів компанії ThermoScientific (TS), США. У зрізах, завтовшки 4 мкм, за допомогою системи візуалізації Lab Vision Quanto (TS, США) та DAB Quanto Chromogen (TS, США) виявляли антигени та фіксовані на них білкові ланцюги [10].

Первинна діагностична ІГХ панель включала антитіла до cytokeratin 7 (CK7), cytokeratin 20 (CK20), CA-125, Ki-67, p53, WT-1 (TS, США). Титр антитіл підбирався індивідуально для кожного маркера із використанням спеціального розчину Antibody diluent, TS, США. Характеристики антитіл занесені до таблиці 1.

Таблиця 1

Панель первинних антитіл

Первинні антитіла	Клон	Розведення	Локалізація реакції
CK7	клон RCK105	1:100	Мембрана та цитоплазма
CK20	клон Ks 20.8	1:100	Мембрана та цитоплазма
CA-125	клон Ab1	1:100	Мембрана та цитоплазма
WT-1	клон 6F-H2	1:100	Ядро
p53	клон sp5	1:200	Ядро
Ki-67	клон sp6	1:200	Ядро

Реакції було оцінено напівкількісним методом у не менш, ніж 10 п/зр. Як позитивна реакція розцінювалося наявність коричневого забарвлення у більше 10% пухлинних клітин із вираженою та помірно вираженою специфічною реакцією для кожного маркеру. Діагнози було встановлено двома досвідченими морфологами незалежно один від одного, використовуючи сучасні класифікації ВООЗ [1].

В програмі Microsoft Excel було проведено статистичну обробку даних дослідження з визначення середньої арифметичної, дисперсії, серед-

нього квадратичного відхилення, коефіцієнту варіації, помилки середнього квадратичного відхилення.

Результати та їх обговорення

В проведеному дослідженні всі ЕПЯ за сукупністю гістологічних характеристик були класифіковані в групи серозних, серозно-муцинозних, муцинозних, ендометриоїдних, світло клітинних пухлин та ПБ; за рівнем диференціювання – були поділені на доброякісні, пограничні та злоякісні (ВК), зазначений розподіл представили у таблиці 2.

Таблиця 2

Розподіл кількості випадків епітеліальних пухлин яєчників за гістологічною будовою та потенціалом злоякісності

Фенотипи пухлин	Доброякісні пухлини		Пограничні пухлини		Злоякісні пухлини		p
	n	вік (роки)	n	вік (роки)	n	вік (роки)	
-серозні	27	49,39	83	44,30	5	40,20	p<0,05
-серозно-муцинозні	1	63,00	-	-	1	61,00	
-муцинозні	5	47,58	36	46,05	3	40,00	
-ендометриоїдні	-	-	-	-	1	47,00	
-пухлини Бреннера	4	51,25	-	-	-	-	
-світлоклітинні	-	-	1	63,00	2	34,40	
Всього	37	52,80	120	51,11	12	44,52	

Примітки: різниця вважається достовірною при $p < 0,05$; n – кількість випадків; вік (роки) – середнє значення віку пацієнток; «-» - відсутні випадки в дослідженні.

Визначалась позитивна реакція із СК7 в серозних, серозно-муцинозних, ПБ та ендометриоїдних пухлинах незалежно від рівня їх диференціювання; тоді як у всіх досліджуваних муцинозних та світлоклітинних пухлинах - була негативною. У всіх випадках серозних (n=115), серозно-муцинозних (n=2) ПЯ було виявлено позитивне мембранне забарвлення у всіх пухлинних клітинах, та у всіх клітинах епітеліального компоненту доброякісних ПБ (n=4).

Тоді як, забарвлення на СК20 мало цілком протилежний характер: «позитивне» - у всіх спостереженнях муцинозних та світлоклітинних ПЯ, та «негативне» - у всіх вищезазначених СК7 «позитивних» випадках.

Експресія маркеру СА-125 виявлена у всіх спостереженнях ЕПЯ, але у частині клітин досліджуваних ВСК визначалась негативна реакція з зазначеним маркером: що займали від 3 до 7% тканини пухлини та мала осередкову поширеність.

Дослідження експресії маркеру WT-1 визначило наявність забарвлення на нього у всіх випадках серозних ПЯ (n=115), а в інших досліджуваних групах ЕПЯ - відсутня реакція у всіх випадках незалежно від рівня їх диференціювання.

Характер забарвлення на p53 та Ki67

потребує особливої уваги. Отримана суттєва різниця між зазначеними маркерами. У жодному спостереженні незалежно від потенціалу злоякісності досліджуваних пухлин яєчника мутантний тип експресії p53 не було помічено. Тоді як експресія Ki67 була виявлена в кожному випадку досліджуваних неоплазій, а інтенсивність забарвлення пов'язана зі ступенем диференціювання пухлин. Ki67 більш виражений у групі злоякісних пухлин – ВК порівняно з доброякісними, а у групі пограничних пухлин було виявлено співпадіння показників у діапазоні 14-31%.

Середній показник Ki67 станів: для доброякісних пухлин - 3,4% (min=2%, max=6%); для пограничних пухлин - 13,7% (min= 9%, max=27%), для групи злоякісних пухлин - 17,6% (min=14%, max=31%). Ядерна реакція Ki67 у серозно-муцинозній аденомі - 2% , а в муцинозній пограничній пухлині - 16% (на рис. 1Б,1Г).

Знову звертає увагу розбіжність у епідеміологічних даних ЕПЯ, але вже не за гістологічною будовою, а за рівнем диференціювання. Значний відсоток випадків припадає на групу серозних неоплазій - 68%, менший відсоток випадків на муцинозні пухлини - 26%; поодинокі спостереження доброякісних ПБ та ендометриоїдних - по 2%, серозно-муцинозних та світлоклітинних - по 1%. Порівнюючи із даними ВОЗ, тенденції

щодо зазначеного розподілу співпадають. Проте, домінування відсоткової частки групи пограничних пухлин – 71%, проти доброякісних – 21,9%, не співпадає із даними ВОЗ, поодинокі випадки

РЯ І типу - 7,1%. Таке «неспівпадіння» можна пояснити тим, що, в морфологічний відділ діагностичного центру потрапляли більш складні в діагностичному сенсі випадки.

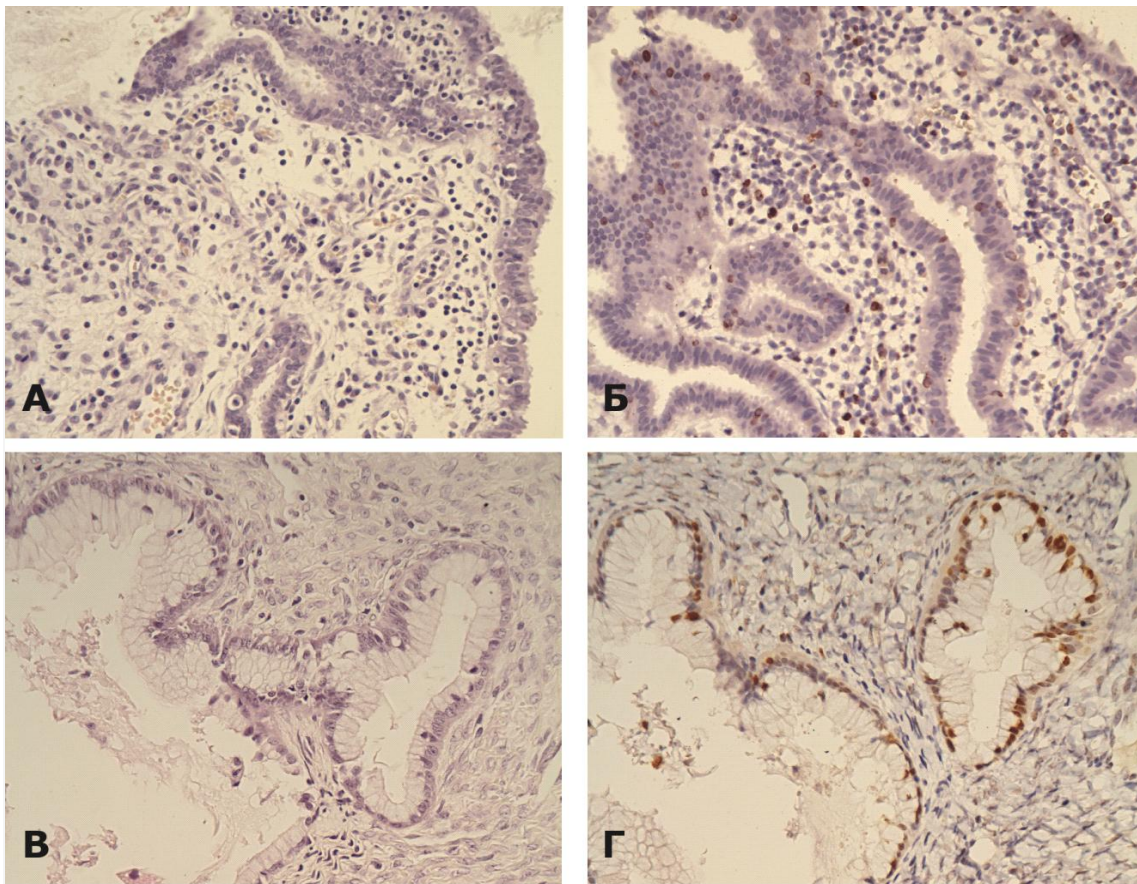


Рис.1. А. Серозно-муциноза аденома яєчника, забарвлення гематоксиліном і еозином. Б. Серозно-муциноза аденома яєчника, забарвлення Кі-67. В. Муцинозна погранична пухлина яєчника, забарвлення гематоксиліном і еозином. Г. Муцинозна погранична пухлина яєчника, забарвлення Кі-67. $\times 400$.

Гістологічні особливості кожної групи мали велике діагностичне значення, особливо розповсюдженість певного паттерну серед тканини пухлини; структури всіх морфологічних форм варіабельні, відзначалися суттєві відмінності серед доброякісних пухлин та РЯ.

Здебільшого співпадає ІГХ профіль епітеліальних пухлин, незалежно від рівня їх диференціювання, що можна використовувати у панелі антитіл під час диференційно-діагностичного пошуку різних типів новоутворень яєчників.

Експресія СА-125 та WT-1 є одночасно високоспецифічним та високочутливим критерієм для встановлення діагнозу ЕПЯ - враховуючи характер забарвлення, їх також можна рекомендувати до використання у панелі діагностичних антитіл неоплазій яєчника.

Експресія маркерів p53 та Ki67 має більш прогностичне значення: може бути використана для верифікації рівня диференціювання ЕПЯ та може бути застосована для розмежування між

карциномами, пограничними та доброякісними пухлинами. Виражена експресія p53 також може бути корисна для прогнозу клінічного перебігу пухлини – частіше відзначається в РЯ.

Висновки

За результатами проведеного дослідження можна зробити наступні висновки:

- Імунофенотип серозних пухлин, незалежно від рівня диференціювання та доброякісних пухлин Бреннера, включав експресію СК7, WT-1 та СА-125; та відсутність забарвлення на СК20, p53.
- Імунофенотип муцинозних пухлин, незалежно від рівня їх диференціювання: «+» - реакція із СК20 та СА-125, «-» - реакція із СК7, WT-1, p53.
- Рівень експресії Ki67 в групі доброякісних пухлин не перевищував 9%, в групі пограничних пухлин коливання не перевищували 27%, але можуть співпадати з показниками серед РЯ.

Перспективи подальших досліджень по-

лягають у вивченні діагностичних критеріїв патогістологічних характеристик епітеліальних пухлин яєчників на підставі визначення рівнів експресії різних маркерів та проведення генотипування.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент

публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Розробка діагностичних та прогностичних критеріїв новоутворень різних локалізацій з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу» (номер державної реєстрації 0116U002827).

Літературні джерела References

1. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH WHO Classification of tumors of female reproductive organs. Revised 4th ed. Lyon: IARC; 2014. p.307.
2. Shepherd-Littlejohn AL, Hanft WJ, Kennedy VA, Alvarez EA. Afatinib use in recurrent epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol Rep.* 2019;29:70-72. doi: 10.1016/j.gore.2019.07.001.
3. Fletcher CDM. Diagnostic histopathology of tumors. Vol 1. PA: Elsevier. 2013. p.658-688.
4. Jones S, Wang TL, Kurman RJ, Nakayama K, Velculescu VE, Vogelstein B, Kinzler KW, Papadopoulos N, Shih IeM. Low-grade serous carcinomas of the ovary contain very few point mutations. *J Pathol.* 2012;226(3):413-20. doi: 10.1002/path.3967.
5. Pozharisskii, KM, Raskin HA, Vinokurov VL, Yurkova LE, Mukhina MS. Immunohistikhimicheskie osobennosti kletok seroznoi adenokarzinomy yaichnikov, opredel'aiushchie klinicheskoe techenie zabolevaniia i vyzhivaemost bolnykh [Immunohistochemical features of ovarian serous adenocarcinoma cells that determine the clinical course of the disease and patient survival]. *Pathology Archive,* 2015;77(1):38-40. Russian. DOI:10.17116/patol201577138-
6. Ahn G, Folkins AK, McKenney JK, Longacre TA. Low-grade Serous Carcinoma of the Ovary: Clinicopathologic Analysis of 52 Invasive Cases and Identification of a Possible Noninvasive Intermediate Lesion. *The American Journal of Surgical Pathology.* 2016;40(9):1165–1176. doi: 10.1097/PAS.0000000000000693.
7. Bennett JA, Dong F, Young RH, Oliva E. Clear cell carcinoma of the ovary: evaluation of prognostic parameters based on a clinicopathological analysis of 100 cases. *Histopathology.* 2015;66(6):808-15. doi: 10.1111/his.12514.
8. Okoye E, Euscher ED, Malpica A. Ovarian Low-grade Serous Carcinoma: A Clinicopathologic Study of 33 Cases With Primary Surgery Performed at a Single Institution. *The American Journal of Surgical Pathology.* 2016;40(5):627–635. doi: 10.1097/PAS.0000000000000615.
9. Miyamoto M, Takano M, Aoyama T, Soyama , Yoshikawa T, Tsuda H, Furuya K. Seromucinous component in endometrioid endometrial carcinoma as a histological predictor of prognosis. *Journal of Gynecologic Oncology.* 2018;29(2):20-27. doi: 10.3802/jgo.2018.29.e20
10. Kumar GL, Rudbeck L.: DAKO Transl. Frank GA, Malkova PG [Immunohistochemical methods: Manual]. Moscow. 2011. p.224. Russian.
11. Hannibal CG, Vang R, Junge J, Frederiksen K, Kurman RJ, Kjaer SK. A nationwide study of ovarian serous borderline tumors in Denmark 1978-2002. Risk of recurrence, and development of ovarian serous carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2017;144(1):174-180. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.11.007.

Савченко О.А. Імуногістохімічні особливості епітеліальних новоутворень яєчників різного потенціалу злоякісності.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Серед неопластичних гінекологічних захворювань рак яєчників входить у першу п'ятірку за летальністю, посідаючи 4-те місце. Ці факти пояснюються, з одного боку, відсутністю специфічних клінічних проявів, що обумовлює діагностування процесу на пізніх його стадіях із часто метастатичним ураженням. З іншого боку, має місце проблема достовірної верифікації діагнозу. Поділ раку яєчників на тип 1 і тип 2 свідчить про різні шляхи онтогенезу. **Мета дослідження** полягає в удосконаленні комплексу диференційно-діагностичних морфологічних критеріїв верифікації доброякісних, пограничних та злоякісних новоутворень яєчників, спираючись на останні міжнародні класифікації. **Методи.** Ретроспективний аналіз 169 епітеліальних новоутворень яєчників, серед яких 37 випадків доброякісних пухлин, 120 випадків пограничних пухлин та 12 високодиференційованих карцином різних гістологічних видів, включав оцінку імуногістохімічних особливостей із наступною статистичною обробкою отриманих результатів. **Результати.** У всіх групах епітеліальних пухлин яєчників виявлені певні сукупності та відмінності різних гістологічних ознак (зміни у будові покривного епітелію, поліморфізм клітин пухлини) та особливості імунофенотипів досліджених новоутворень. Ці дані дали

зможу говорити про діагностичне значення кожного показчика для досліджених епітеліальних пухлин яєчників. **Підсумок.** Серед гістологічних характеристик значення мали: покривний епітелій, ступінь виразності поліморфізму, показник мітотичної активності. Серед панелі імуногістохімічних антитіл - фракції цитокератинів (цитокератин 7, цитокератин 20), характер забарвлення на Ki-67, p53, WT-1, ЕМА та СА-125.

Ключові слова: серозні пухлини, муцинозні пухлини, світлоклітинні пухлини, серозно-муцинозні пухлини, пухлини Бреннера, доброякісні та пограничні пухлини, високодиференційовані карциноми яєчника, імуногістохімічний профіль.

Савченко О.А. Иммуногистохимические особенности эпителиальных новообразований яичников различного потенциала злокачественности.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Среди неопластических гинекологических заболеваний раком яичников входит в первую пятерку по летальности, занимая 4-е место. Эти факты объясняются, с одной стороны, отсутствием специфических клинических проявлений, обуславливает диагностирования процесса на поздних его стадиях с часто метастатическим поражением. С другой стороны, имеет место проблема достоверной верификации диагноза. Разделение рака яичников на тип 1 и тип 2 свидетельствует о различных путях онтогенеза. **Цель** исследования заключается в совершенствовании комплекса дифференциально-диагностических морфологических критериев верификации доброкачественных, пограничных и злокачественных новообразований яичников, опираясь на последние международные классификации. **Методы.** Ретроспективный анализ 169 эпителиальных новообразований яичников, среди которых 37 случаев доброкачественных опухолей, 120 случаев пограничных опухолей и 12 высокодифференцированных карцином различных гистологических видов, включал оценку иммуногистохимических особенностей с последующей статистической обработкой полученных результатов. **Результаты.** Во всех группах эпителиальных опухолей яичников выявлены определенные совокупности и различия разных гистологических признаков (изменения в строении покровного эпителия, полиморфизм клеток опухоли) и особенности иммунофенотипа исследованных новообразований. Эти данные позволили говорить о диагностическом значении каждого указателя для исследованных эпителиальных опухолей яичников. **Выводы.** Среди гистологических характеристик значение имели: покровный эпителий, степень выраженности полиморфизма, показатель митотической активности. Среди панели иммуногистохимических антител - фракции цитокератинов (цитокератин 7, цитокератин 20), характер окраски на Ki-67, p53, WT-1, ЕМА и СА-125.

Ключевые слова: серозные опухоли, муцинозные опухоли, светлоклеточный опухоли, серозно-муцинозные опухоли, опухоли Бреннера, доброкачественные и пограничные опухоли, высокодифференцированные карциномы яичника, иммуногистохимический профіль.