

С. М. Потапов, канд. мед. наук, доц.,  
О. М. Плітень, канд. мед. наук, доц.,  
Д. І. Галата, канд. мед. наук, доц.,  
О. В. Кривошапка, канд. мед. наук, доц.

## ОСОБЛИВОСТІ АНГІОГЕНЕЗУ В ГЕРМІНОГЕННИХ ПУХЛИНАХ ЯЄЧКА

Харківський національний медичний університет

### Вступ

До герміногенних пухлин яєчка (ГПЯ) належить група новоутворень, що розвиваються з клітин герміногенного епітелію, на частку яких припадає понад 90 % усіх пухлин яєчка [1; 2]. Серед усього різноманіття гістотипів ГПЯ пухлина жовткового мішка постпубертатного типу (ПЖМПТ), тератома постпубертатного типу (ТПТ), сперматоцитна пухлина (СП) і тератома з малігнізацією соматичного типу (ТМСТ) у вигляді однокомпонентних неоплазій трапляються рідко, а в складі змішаних ГПЯ (головним чином, ПЖМПТ і ТПТ) — доволі часто [2].

Одна з найважливіших характеристик пухлинного росту — активація процесів ангіогенезу, спрямованого на задоволення підвищених потреб неопластичних компонентів у оксигенації [3]. Проведені дослідження підтверджують, що ангіогенез у пухлині є незалежним прогностичним маркером прогнозу перебігу захворювання, наявності метастазів і чутливості до протипухлинної терапії [4; 5].

Однак незважаючи на велику кількість публікацій з даної теми, способи утворення нових судин в інвазійних неоплазіях, вплив внутрішньопухлинної щільності судин (ЩС)

на загальну і безрецидивну виживаність залишаються неясними, а роботи з вивчення «васкулогенної мімікрії» та ретракційних щілин у пухлинах взагалі поодинокі [6–8].

Щодо досліджень, які б стосувалися вивчення механізмів утворення кровоносних судин, розробки методів оцінки пухлинного ангіогенезу, а також особливостей застосування імуногістохімічних (ІГХ) маркерів ендотелію судин (CD31 і CD34) для оцінки агресивності та прогнозу ГПЯ, то такі в доступних джерелах літератури відсутні.

**Мета** роботи — вивчити особливості васкуляризації в ПЖМПТ, ТПТ, СП і ТМСТ у динаміці пухлинної прогресії.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконано на матеріалі 9 спостережень ПЖМПТ (із них у 5 випадках ПЖМПТ була складовою змішаної ГПЯ), 16 спостережень ТПТ (із них у 13 випадках ТПТ була складовою змішаної ГПЯ), 1 спостереження СП і 2 спостережень ТМСТ, а також історій хвороби пацієнтів, що проходили обстеження і лікування на базі Харківського обласного клінічного центру урології і нефрології ім. В. І. Шаповала з 1998 по 2017 рр.

Усі досліджені ГПЯ були розподілені за типом гістологічної будови відповідно до класифікації ВООЗ і патологічної рTNM класифікації [2], що є вкрай важливим, тому що точне встановлення діагнозу і стадіювання у відповідності до сучасних уявлень є фундаментальними [9].

Для найбільш наочного порівняння ІГХ характеристик усі спостереження досліджених ГПЯ були розділені за гістотипом і ступенем пухлинної прогресії. Так, керуючись рTNM класифікацією, були сформовані такі групи:

1. Група «0» була представлена виключно «чистими» ТПТ, які складались із добре диференційованих, зрілих тканин. Пухлини даної групи відповідали стадії T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>S<sub>0</sub>.

2. Група «1», при якій пухлина була обмежена яєчком і його придатком, без інвазії в кровоносні або лімфатичні судини; пухлина могла вростати в білкову, але не у вагінальну оболонку, а метастази у регіонарні лімфатичні вузли і віддалені метастази були відсутні; сироваткові пухлинні маркери мали різні значення. Пухлини даної групи відповідали стадіям T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>S<sub>0-2</sub>.

3. Група «2», при якій пухлина була обмежена яєчком і його придатком з інвазією в кровоносні або лімфатичні судини або пухлина проникала через білкову оболонку з ураженням

вагінальної оболонки; при цьому були наявні метастази різного ступеня у регіонарні лімфатичні вузли, проте віддалені метастази були відсутні; сироваткові пухлинні маркери мали різні значення. Пухлини даної групи відповідали стадіям T<sub>2</sub>N<sub>1-3</sub>S<sub>0-2</sub>.

4. Група «4» характеризувалася наявністю у пацієнта віддалених метастазів. При цьому метастази у регіонарні лімфатичні вузли могли бути відсутні; сироваткові пухлинні маркери мали різні значення. Пухлини даної групи відповідали стадіям T<sub>2-3</sub>N<sub>0-3</sub>S<sub>0-2</sub>.

Матеріал для ІГХ дослідження фіксували в 10 % нейтральному формаліні протягом 24 год, заливали в парафін, готували зрізи завтовшки 4·10<sup>-6</sup> м, які наносили на високоадгезивні скельця “SUPER FROST PLUS” фірми “DAKO” (Данія) і висушували при температурі 37 °С протягом 18 год. Демаскування було виконано методом кип’ятіння зрізів у цитратному буфері (рН 6,0). Для візуалізації первинних антитіл була застосована система детекції Ultra Vision Quanto Detection Systems HRP Polymer (“Thermo Fisher Scientific Inc.”, США). Як хромоген використовували DAB (діамінобензидин). Зрізи дозбарвлювали гематоксиліном Майєра і заключали в канадський бальзам. Для кожного маркера з метою виключення хибнопозитивних або помилкових результатів були застосовані контрольні дослідження, у яких використовували зрізи з тканин, що рекомендовані виробником антитіл для позитивного контролю. Крім того, кожне дослідження мало негативний контроль без додавання первинних антитіл.

Для оцінки неоангіогенезу і ступеня васкуляризації в ПЖМПТ, ТПТ, СП і ТМСТ

досліджували експресію CD31 і CD34 з використанням моноклональних антитіл Мо а-Hu CD31 Monoclonal Antibody, Clone JC/70A (“Thermo Fisher Scientific Inc.”, США) і Мо а-Hu CD34 Monoclonal Antibody, Clone QBEND/10 (“Thermo Fisher Scientific Inc.”, США).

Для реалізації якісного й об’єктивного аналізу цифрових зображень була розроблена методика, яка дозволила з максимальною ефективністю проводити обробку зображень і отримувати більш точні та інформативні кількісні дані і тим самим поліпшити якість інтерпретації отриманих результатів (Патент України на винахід № 119922) [10]. Дана методика дозволила отримувати значення відносної площі (S, %), яку займають імунопозитивні структури, а також світлість (L), значення якої можуть коливатись у межах від 0 до 100. При цьому L=0–40 відповідає сильному рівню інтенсивності експресії маркера, L=40–50 — середньому, L=50–100 — слабкому. Вивчали S та L експресії маркерів у 30 випадково обраних полях зору мікроскопа Olympus BX-41TF при збільшенні × 200 (3,12·10<sup>-7</sup> м<sup>2</sup>) у кожному спостереженні.

Щільність судин як відображення ступеня васкуляризації визначали шляхом підрахунку кількості мікросудин у стандартизованому полі зору (СПЗ) мікроскопа Olympus BX-41TF (Японія) при збільшенні × 200 (3,12·10<sup>-7</sup> м<sup>2</sup>). Для виявлення мікросудин використовували маркер ендотеліальних клітин Мо а-Hu CD34 Monoclonal Antibody, Clone QBEND/10, “Thermo Fisher Scientific Inc.”, США. У кожному спостереженні аналізували по 20 полів зору.

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакета статистичного аналізу тріал-

версії STATISTICA 13.3 EN. Для порівняння центральних тенденцій у групах використовували непараметричний критерій Манна — Уїтні [11; 12], оскільки обсяг вибірки в групах не перевищував 5 спостережень. Однак описові статистики представлені традиційно як середнє ± похибка середнього (M±m), оскільки для вибірки з 4–5 спостережень важко визначити медіану і квартилі. Усі статистичні гіпотези, у тому числі про значущість відмінностей центральних тенденцій у групах, перевірялися при довірчій ймовірності 95 % (p<0,05). Для оцінки зв’язків між показниками використовували непараметричний коефіцієнт кореляції Спірмена [11].

#### Результати дослідження та їх обговорення

Як відомо, CD34 являє собою сіаломуцин, який експресується на прогеніторних та ендотеліальних клітинах (ЕК) дрібних судин і капілярів та є високочутливим біомаркером, що широко вивчається в пухлинному ангіогенезі [13]. CD34 можна використовувати як маркер для ЕК судин, що дозволяє проводити кількісний аналіз ЩС [14], збільшення якої вважається несприятливим фактором для багатьох пухлин [15–17] за рахунок здатності утворювати у віддалених органах ангіогенні клони, які за сприятливих умов формують метастази [18].

У ПЖМПТ групи «1» (n=4) середня S CD34-позитивного забарвлення була значною, а L — помірною. В одному зі спостережень визначалася дифузна гіперекспресія CD34: значення S експресії даного маркера ((34,68±0,21) %) суттєво перевищувало не тільки середньогруповий показник, а було найбільшим серед усіх досліджених пух-

Показники васкуляризації в пухлинах жовткового мішка постпубертатного типу

Показник	Група «1» (n <sub>1</sub> =4)	Група «2» (n <sub>2</sub> =3)	Група «2» і «4» (n <sub>2+4</sub> =5)	Р
CD34, S, %	11,13±7,85	4,48±0,26	5,18±0,46	p <sub>1-2</sub> >0,05 p <sub>1(2+4)</sub> >0,05
CD34, L, од.	42,64±1,00	44,16±0,55	42,64±0,98	p <sub>1-2</sub> >0,05 p <sub>1(2+4)</sub> >0,05
CD31, S, %	0,48±0,03	0,69±0,06	0,74±0,05	p <sub>1-2</sub> =0,034 p <sub>1(2+4)</sub> =0,014
CD31, L, од.	41,12±1,28	40,36±0,12	40,00±0,24	p <sub>1-2</sub> >0,05 p <sub>1(2+4)</sub> >0,05
ЩС, шт. у СПЗ	93,9±22,0	96,12±4,11	104,54±6,10	p <sub>1-2</sub> >0,05 p <sub>1(2+4)</sub> >0,05

лин даного гістотипу (p<0,05) (табл. 1). У решті випадків групи «1» середня S експресії CD34 становила (3,27±0,25) %.

Серед новоутворених судин переважали капіляри, у яких візуалізувалися тонкі базальні мембрани і ЕК з мембранно-цитоплазматичним CD34-позитивним забарвленням. З урахуванням зазначеного вище спостереження з надвисоким показником S експресії CD34, ЩС була доволі значною (див. табл. 1), але при його виключенні з вибірки дорівнювала (71,93±0,63) шт. у СПЗ. Навколо судин виявлялися поодинокі або групами по 2–3 CD34-позитивні прогеніторні ЕК. Також експресія CD34 визначалась у клітинах фібробластичного диферону.

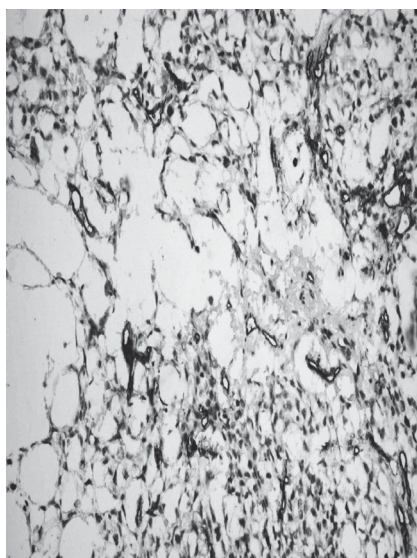
У групі «2» (n=3) показники S та L CD34-позитивного забарвлення, а також ЩС у СПЗ достовірно не відрізнялися від аналогічних показників попередньої групи, що пояснюється наявністю в групі «1» описаного раніше спостереження з високою S експресії CD34 (див. табл. 1). Як і в попередній групі, переважали судини дрібного і середнього калібру. Візуалізувалися, хоча і більш рідко, ніж у групі «1», CD34-позитивні прогеніторні ЕК, а також ніжні сплетення або лінійні структури, що верифікувались як примітивний варіант майбутніх судин. Спостерігався процес переходу таких структур у тонкі трубчасті утворення — молоді капіляри з наявністю в них просвітів (рис. 1, а). Як і в групі «1», CD34-імунопозитивне забарвлення визначалось і в окремих клітинах фібробластичного диферону.

Оскільки група «4» була представлена лише двома спостереженнями, для коректного статистичного дослідження було вирішено об'єднати її з групою «2», яка також характеризувалася наявністю судинної інвазії та розвитком метастатич-

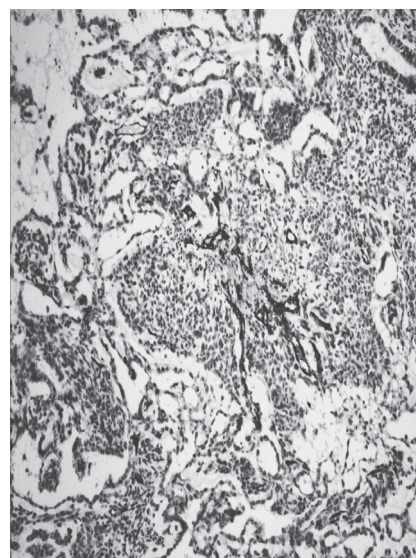
ного процесу. Так, у спостереженнях об'єднаних груп «2» і «4» (n=5) середня S та L експресії CD34, а також ЩС достовірно не відрізнялися від аналогічних показників групи «1» (див. табл. 1). Однак при виключенні з вибірки досліджених пухлин групи «1» випадку з гіперекспресією CD34, виявилось, що середня S експресії вказаного маркера, а також ЩС у спостереженнях об'єднаних груп «2» і «4» були достовірно вищими за такі в групі «1» (p<0,01).

Тривалий час неоангіогенез розглядався як єдина можливість доставки в пухлину поживних речовин і кисню. В останні роки були ідентифіковані альтернативні механізми кровопостачання пухлини у вигляді формування васкулярних каналів, обмежених базальною мембраною і вистелених пухлинними клітинами за відсутності ЕК і фіброblastів. Дане явище дістало назву васкулогенної мімікрії [7; 8].

У нашому дослідженні в пухлинній тканині ПЖМПТ спо-



а



б

Рис. 1. Помірна експресія CD34 в новоутворених судинах ПЖМПТ групи «2» (а), ×200. Інтенсивна реакція з CD31 в нерівномірно розподілених новоутворених капілярах пухлини жовткового мішка постпубертатного типу групи «4» (б), ×100. Імуногістохімічний метод, додатково забарвлення гематоксиліном Майєра



стерігалось утворення численних васкулярних каналів і рефракційних щілин, реакція з судинними маркерами (CD31 і CD34) у яких була негативною.

Різка зростання кількості ретракційних щілин — порожнин без ендотеліальної вистілки навколо пухлинних комплексів — установлено за наявності метастазів. У зв'язку з цим висунуто гіпотезу, що ретракційні щілини — ланка лімфоваскулярної інвазії [6]. Ретракційні щілини досить часто спостерігались у досліджених ГПЯ.

Маркер CD31 бере участь у ангиогенезі [19], сприяє цілісності судинного бар'єру за рахунок його адгезивних властивостей [20; 21], а також регулює судинну проникність і міграцію лейкоцитів [22].

Середня S CD31-позитивного забарвлення у спостереженнях групи «1» була вкрай незначною, а L експресії вказаного маркера відповідала помірному рівню. У пухлинній тканині CD31-позитивне забарвлення визначалось у новоутворених капілярах, при цьому візуально ЩС була невисокою. Траплялися численні васкулярні канали і ретракційні щілини без ЕК, що демонструвало наявність згаданої вище васкулогенної мімікрії.

Порівняно з показниками групи «1», S експресії CD31 у спостереженнях групи «2» і об'єднаних груп «2» і «4» була достовірно більшою, а L забарвлення не мала відмінностей (див. табл. 1). Візуально ЩС була дещо більшою в порівнянні з попередньою групою, а їхній розподіл характеризувався нерівномірністю (рис. 1, б).

Оцінка кількісних показників експресії досліджених маркерів з використанням непараметричного коефіцієнта кореляції Спірмена встановила, що в ПЖМПТ у міру зростання стадії пухлинної прогресії зв'язки

між S та L експресії CD31, CD34, а також ЩС були відсутні.

Також було встановлено, що у пацієнтів із судинною інвазією, а також лімфогенними метастазами S експресії CD31 була достовірно вищою за аналогічний показник у хворих без зазначених характеристик (табл. 2).

Відсутність подібних закономірностей стосовно експресії CD34, а також ЩС пояснюється наявністю описаного вище випадку групи «1» з гіперекспресією даного маркера. Водночас при вилученні з вибірки даного спостереження ситуація змінювалася — S експресії CD34 і ЩС у пацієнтів із судинною інвазією та лімфогенними метастазами були вищими, ніж у пацієнтів без них ( $p < 0,05$ ).

Ангиогенез є важливим процесом, що бере участь у розповсюдженні пухлинних клітин і розвитку метастазів, а також асоційований з поганим прогнозом [23], а взаємозв'язок ЩС і наявності метастазів виявлена при багатьох злоякісних новоутвореннях, у тому числі при раку підшлункової залози і плоскоклітинній карциномі голови та шиї [24; 25].

У ТПТ групи «0» ( $n=3$ ) переважали судини дрібного калібру, у яких візуалізувались ЕК з мембранно-цитоплазматичним CD34-позитивним забарвленням. Щільність судин, а також S та L забарвлення з антитілами до CD34 були помірними (табл. 3). При цьому значна S імунопозитивного забарвлення

Таблиця 2

**Зв'язок показників імуногістохімічних маркерів з агресивністю пухлини жовткового мішка постпубертатного типу (U критерій Манна — Уїтні)**

Показник		CD31		CD34		ЩС, шт. у СПЗ
		S, %	L, од.	S, %	L, од.	
Лімфогенні метастази	«+»	5	5	5	5	5
	«-»	4	4	4	4	4
	p	0,01	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Судинна інвазія	«+»	5	5	5	5	5
	«-»	4	4	4	4	4
	p	0,01	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Таблиця 3

**Показники васкуляризації в тератомі постпубертатного типу**

Показник	Група «0» ( $n_0=3$ )	Група «1» ( $n_1=6$ )	Група «2» ( $n_2=7$ )	p
CD34, S, %	6,66±0,29	3,00±1,14	1,30±0,02	$p_{0-1}=0,02$ $p_{0-2}=0,017$ $p_{1-2}>0,05$
CD34, L, од.	48,0±0,4	45,16±2,41	34,20±0,13	$p_{0-1}>0,05$ $p_{0-2}=0,017$ $p_{1-2}=0,026$
CD31, S, %	0,65±0,03	0,49±0,10	0,95±0,03	$p_{0-1}>0,05$ $p_{0-2}=0,016$ $p_{1-2}=0,003$
CD31, L, од.	44,12±0,38	41,19±0,27	35,23±0,17	$p_{0-1}=0,02$ $p_{0-2}=0,016$ $p_{1-2}=0,003$
ЩС, шт. у полі зору	63,00±5,49	39,64±6,81	25,28±1,32	$p_{0-1}=0,045$ $p_{0-2}=0,017$ $p_{1-2}>0,05$

припадала на прогеніторні ЕК і клітини фібробластичного диферону.

Середня S CD34-позитивного забарвлення в групі «1», порівняно з попередньою групою, була достовірно меншою, а L експресії зберігалася на помірному рівні (див. табл. 3). Проте слід зазначити, що у 50 % досліджених ТПТ, які склалися зі зрілих тканинних елементів, показники S та L експресії CD34 не відрізнялися від таких у групі «0». У решті ТПТ, які склалися із незрілих ембріональних тканин, у кожному окремому випадку S CD34 була дуже невеликою і значно меншою за таку в спостереженнях ТПТ групи «1» з виключно зрілими тканинними складовими ( $p < 0,001$ ). У тих самих випадках L експресії CD34, навпаки, зростала і сягала сильного рівня.

У ТПТ групи «1» ( $n=6$ ) середня ЩС була достовірно меншою за аналогічний показник групи «0» (див. табл. 3). При цьому в кожному окремому спостереженні ТПТ, у складі якої виявлялися незрілі ембріональні тканини, ЩС була невеликою і достовірно меншою за таку в кожному спостереженні ТПТ групи «1» з виключно зрілими тканинними складовими ( $p < 0,01$ ). Водночас у незрілих ембріональних тканинах ТПТ доволі часто виявлялись інтра-туморальні васкулярні канали як прояв васкулогенної мімікрії і ретракційні щілини.

Таким чином, у ТПТ, що мали в складі зрілі тканини, показники S експресії CD34 і ЩС перевищували такі в спостереженнях, де ТПТ склалися з незрілих ембріональних тканин.

У групі «2» ( $n=7$ ) S експресії CD34 була достовірно меншою, а L експресії, навпаки, більшою у порівнянні з відповідними показниками групи «0». При зі-

ставленні між собою показників груп «2» і «1» різниця полягала тільки в L експресії CD34, яка в групі «2» була сильнішою (див. табл. 3). Відмінностей між показниками S та L експресії маркера в ТПТ зі зрілими або незрілими тканинними складовими не визначалося. Спостерігались інтенсивна експресія

CD34 в ЕК новоутворених судин і цитоплазмі прогеніторних ЕК, з яких зростали капіляри (рис. 2, а). Середня ЩС була достовірно меншою, ніж у групі «0», і не відрізнялася від аналогічного показника групи «1» (див. табл. 3).

У спостереженнях групи «0» середня S CD31-позитивного за-

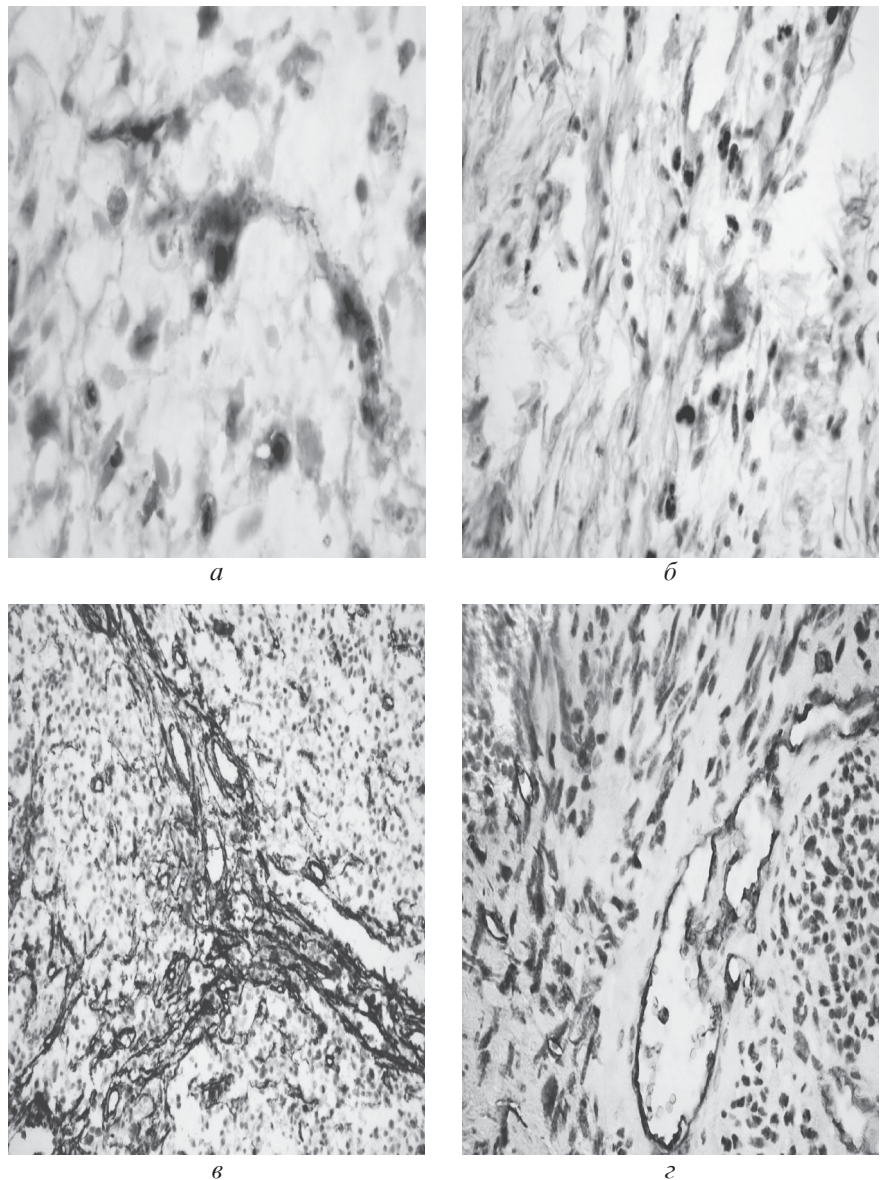


Рис. 2. Інтенсивна експресія CD34 в ендотеліальних клітинах новоутворених судин і цитоплазмі прогеніторних ендотеліальних клітин, з яких ростуть капіляри, у незрілому міксоїдному компоненті тератоми постпубертатного типу групи «2»,  $\times 1000$  (а). Інтенсивна експресія CD31 у клітинах незрілого міксоїдного компонента тератоми постпубертатного типу групи «2»,  $\times 400$  (б). Інтенсивна реакція з CD34 в новоутворених судинах сперматоцитної пухлини групи «2»,  $\times 200$  (в). Помірна реакція з CD34 в деформованих судинах фібросаркоматозного компонента тератоми з малігнізацією соматичного типу групи «1»,  $\times 400$  (г). Імуногістохімічний метод, додаткове забарвлення гематоксином Майєра

барвлення в порівнянні з CD34 була незначною, а L — помірною (див. табл. 3). CD31-позитивне забарвлення виявлялось у новоутворених капілярах, при цьому ЩС візуально була низькою. Траплялися судини, де ЕК характеризувалися вкрай слабкою імунопозитивністю або навіть були CD31-імунонегативними.

У групі «1» середня S CD31-імунопозитивного забарвлення достовірно не відрізнялася від такої в групі «0», а L маркера, хоча і залишалася помірною, але ставала дещо сильнішою (див. табл. 3). При цьому в кожній окремій ТПТ, яка складалася зі зрілих тканинних елементів, S та L експресії CD31 майже повністю збігалися з такими в групі «0», а в кожному окремому випадку ТПТ з незрілими ембріональними тканинними складовими S експресії даного маркера була меншою в порівнянні з кожним випадком груп «0» і «1», які склалися зі зрілих тканинних елементів ( $p < 0,01$ ).

У спостереженнях групи «2» показники середньої S та L експресії CD31 збільшувались і були вищими за такі в групах «0» і «1» (див. табл. 3). Відмінностей між показниками S та L експресії CD31 в ТПТ зі зрілими або незрілими тканинними складовими не виявлено. Як і в попередніх групах, візуальна ЩС була невисокою (рис. 2, б).

Оцінка кількісних показників експресії досліджених маркерів з використанням непараметричного коефіцієнта кореляції Спірмена встановила, що в ТПТ у міру зростання стадії пухлинної прогресії спостерігався достовірний високий позитивний зв'язок між S експресії CD34 і ЩС ( $r = +0,88$ ;  $p < 0,05$ ). Також було встановлено достовірні високі зворотні зв'язки між ЩС та L експресії CD31 і

CD34 ( $r = -0,71$ ;  $r = -0,71$ ;  $p < 0,05$ ), тобто ЩС знижувалася, а L, навпаки, зростала. При цьому між L експресії CD31 та L експресії CD34 було встановлено високий позитивний зв'язок ( $r = +0,81$ ;  $p < 0,05$ ).

Одночасно у пацієнтів із судинною інвазією і лімфогенними метастазами S та L експресії CD31 були достовірно вищими, а L експресії CD34 і ЩС, навпаки, меншими за аналогічні показники у хворих без зазначених характеристик (табл. 4). Даний факт можна пояснити превалюванням експресії CD34 в зрілих тканинних складових над такою в ембріональних тканинах ТПТ групи «1» і відсутністю описаної картини в ТПТ групи «2». Водночас зазначене свідчить про обґрунтованість об'єднання «зрілих» і «незрілих» тератом в один гістотип ГПЯ у новій класифікації ВООЗ 2016 р. [2].

Сперматоцитна пухлина є рідкісною, що не метастазує і ніколи не поєднується з іншими видами новоутворень. В єдиному спостереженні СП середня S CD34-позитивного забарвлення становила  $(8,71 \pm 0,62)$  %, а L експресії маркера відповідала сильному рівню —  $(37,98 \pm 0,41)$  од. У пухлині переважали судини дрібного калібру, у яких добре візуалізувалися ЕК з мембранним і цитоплазматичним CD34-позитивним забарвлен-

ням. Крім ЕК, CD34-позитивне забарвлення визначалося також у прогеніторних ЕК і клітинах фібробластичного диферону. Процес утворення нових капілярів був інтенсивним і відбувався як за рахунок ангио-, так і васкулогенезу (рис. 2, в). Середня ЩС становила  $134,50 \pm 2,00$ .

Що стосується експресії CD31, то в даному дослідженні вкрай слабке імунопозитивне забарвлення визначалося лише в поодиноких ЕК новоутворених капілярів, а його S не піддавалася підрахунку.

У ТМСТ, яка містила фібросаркоматозний компонент, S CD34-позитивного забарвлення становила  $(2,99 \pm 0,10)$  %, а L експресії маркера знаходилася на помірному рівні —  $(42,06 \pm 0,19)$  од. У пухлинній тканині переважали судини капілярного типу, у яких добре візуалізувалися ЕК з мембранним і цитоплазматичним CD34-позитивним забарвленням. У безпосередній близькості судин визначалися поодинокі, а іноді у вигляді скупчень по кілька клітин або ланцюжків, прогеніторні ЕК і клітини фібробластичного диферону з CD34-імунопозитивним забарвленням їхньої цитоплазми. Новоутворені мікросудини формували хаотичну сітку з тонких ліній, які подекуди переходили в трубчасті структури. Для судин були

Таблиця 4

**Зв'язок показників імуногістохімічних маркерів з агресивністю тератоми постпубертатного типу (U критерій Манна — Уїтні)**

Показник		CD31		CD34		ЩС, шт. у СПЗ
		S, %	L, од.	S, %	L, од.	
Лімфогенні метастази	«+»	7	7	7	7	7
	«-»	9	9	9	9	9
	p	0,001	0,001	> 0,05	0,001	0,03
Судинна інвазія	«+»	7	7	7	7	7
	«-»	9	9	9	9	9
	p	0,001	0,001	> 0,05	0,001	0,03



притаманними «спрутинг», зігнутість та інші деформації (рис. 2, з). Щільність судин становила  $27,05 \pm 0,94$ .

У спостереженні ТМСТ, злоякісний компонент якої був представлений помірнодиференційованою аденокарциномою, S CD34-позитивного забарвлення була вищою ( $p < 0,001$ ) порівняно з такою в попередньому випадку і становила ( $12,69 \pm 0,15$ ) %, а L експресії маркера CD34 ( $(39,88 \pm 0,36)$  од.) відповідала сильному рівню. Розподіл судин був досить рівномірним: у великій кількості вони визначались як у стромальному компоненті аденокарциноми, так і в фіброзній складовій даної ТМСТ. Щільність судин дорівнювала  $94,00 \pm 1,46$ .

Поблизу судин у сполучній тканині виявлялися CD34-позитивно забарвлені прогеніторні ЕК, від яких відходили численні тонкі лінії, що формували густу сітку майбутніх капілярів.

У досліджених пухлинах даного гістотипу ГПЯ вкрай слабке CD31-імунопозитивне забарвлення визначалося лише в поодиноких ЕК новоутворених капілярів і його S була настільки малою, що не піддавалася підрахунку.

В обох спостереженнях ТМСТ доволі часто виявлялись інтра-туморальні васкулярні канали як прояв васкулогенної мімікрії та ретракційні щилини.

### Висновки

1. У ПЖМПТ при переході від початкових до більш пізніх стадій пухлинної прогресії, для яких є типовим агресивний характер перебігу, відмічене зростання S експресії CD31, CD34 і збільшення ЩС.

2. Пухлинам жовткового мішка постпубертатного типу притаманна васкулогенна мімікрія у вигляді утворення інтра-туморальних васкулярних каналів, які не мають ендотеліальної вистілки.

3. У ТПТ груп «0» і «1», що були представлені виключно зрілими тканинами і характери-

зувалися відсутністю метастазів (незалежно від того, належали вони до змішаних ГПЯ або були однокомпонентними), показники васкуляризації (S та L експресії CD31 і CD34, а також ЩС) не мали між собою достовірних відмінностей.

4. При переході від початкових до більш пізніх стадій пухлинної прогресії в ТПТ відбувалося зменшення ЩС і S експресії CD34 та зростання S експресії CD31, що свідчить про інтенсифікацію процесів ангиогенезу з одночасним послабленням васкулогенезу у міру прогресування даної неоплазії. Паралельно з процесами неангиогенезу в ТПТ визначались явища васкулогенної мімікрії, яка, вочевидь, компенсувала зменшення щільності CD34-позитивних судин на пізніх стадіях пухлинної прогресії.

5. Розвиток клініко-морфологічних ознак агресивного перебігу пухлин, таких як судинна інвазія і розвиток метастатичної хвороби, у ПЖМПТ опосередковані підвищенням S експресії CD31 і CD34, а також збільшенням ЩС, а в ТПТ — збільшенням S та L експресії CD31.

6. Показники експресії CD31, CD34, а також ЩС можуть бути незалежними факторами прогнозу метастазування і прогресії ПЖМПТ і ТПТ.

**Ключові слова:** герміногенні пухлини яєчка, неангиогенез, васкулогенна мімікрія, імуногістохімічне дослідження.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Возіанов О. Ф., Романенко А. М., Клименко І. О. Онкоурологія сьогодні: досягнення, проблеми, перспективи. *Онкологія*. 2006. Т. 8, № 2. С. 152–158.
2. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours / Н. Moch et al. *Eur Urol*. 2016. Vol. 70 (1). P. 93–105.
3. Фактор роста эндотелия сосудов и его рецепторы при раке яичников / Д. Н. Кушлинский и др. *Молекулярная медицина*. 2013. № 1. С. 3–11.
4. Бабиченко И. И., Ковязин В. А. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста: учеб. пособие. Москва: РУДН, 2008. 109 с.

5. Хлебникова А. Н., Новоселова Н. В. Особенности ангиогенеза в очагах базально-клеточного рака кожи. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2014. № 3. С. 60–64.

6. Маркеры ангиогенеза при опухолевом росте / Н. А. Нефедова и др. *Архив патологии*. 2016. Т. 78, № 2. С. 55–62.

7. Григорьева И. Н., Соломко Е. Ш., Степанова Е. В., Харатишвили Т. К. Ингибирование васкулогенной мимикрии — новый подход к противоопухолевой антиангиогенной терапии с использованием нанопрепаратов. *Российский биотерапевтический журнал*. 2010. № 9 (3). С. 9.

8. Вартанян А. А. Молекулярные механизмы васкулогенной мимикрии при злокачественных заболеваниях: автореф. дис. ... д. биол. н.: 14.01.12 — онкология. Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина. Москва, 2012. 39 с.

9. Testicular germ cell tumors: revisiting a series in light of the new WHO classification and AJCC staging systems, focusing on challenges for pathologist / J. Lobo et al. *Hum Pathol*. 2018. Vol. 82. P. 113–124.

10. Потапов С. М., Марковский В. Д., Кулішова Н. Є. Пат. 119922 Україна, МПК G01N21/00. Спосіб кількісної оцінки рівня світлості та відносної площі експресії маркерів при імуногістохімічному дослідженні тканин (Україна); Харків. нац. мед. ун-т. № 119922; заявл. 06.11.2017; опубл. 27.08.2019, Бюл. № 16.

11. Кобзарь А. И. Прикладная математическая статистика. Москва: ФИЗМАТЛИТ, 2012. 816 с.

12. Runyon R. P. Nonparametric Statistics: A Contemporary Approach (Addison-Wesley series in statistics). Addison-Wesley Publishing Co, 1977. 218 p.

13. Interaction between inflammation and angiogenesis during different stages of cervical carcinogenesis / J. Mazibrada et al. *Gynecol. Oncol*. 2008. Vol. 108 (1). P. 112–120.

14. Ancuța C., Ancuța E., Zugun-Eloae F., Carasevici E. Neovascularization in cervical cancer: focus on CD34 assessment. *Rom J Morphol Embryol*. 2010. Vol. 51 (2). P. 289–294.

15. El-Gendi S., Abdel-Hadi M. Lymphatic vessel density as prognostic factor in breast carcinoma: relation to clinicopathologic parameters. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2009. Vol. 21 (2). P. 139–149.

16. The prediction of lymph node metastasis in ductal carcinoma in situ with microinvasion by assessing lymphangiogenesis / S. K. Lee et al. *J Surg Oncol*. 2010. Vol. 102 (3). P. 225–229.

17. Evaluation of microvascular density in tumors: pro and contra / B. Nico et al. *Histol Histopathol*. 2008. Vol. 23 (5). P. 601–607.

18. Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma.

ma and other solid tumors. *Breast Cancer Res Treat.* 1995. Vol. 36 (2). P. 169–180.

19. De Jong J. S., van Diest P. J., Baak J. P. Heterogeneity and reproducibility of microvessel counts in breast cancer. *Lab Invest.* 1995. Vol. 73 (6). P. 922–926.

20. PECAM-1 affects GSK-3beta-mediated beta-catenin phosphorylation and degradation / P. Biswas et al. *Am J Pathol.* 2006. Vol. 169 (1). P. 314–324.

21. Enhanced susceptibility to endotoxic shock and impaired STAT3 signal-

ing in CD31-deficient mice / M. Carrithers et al. *Am J Pathol.* 2005. Vol. 166 (1). P. 185–196.

22. Endothelial functions of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31) / P. Lertkiatmongkol et al. *Curr Opin Hematol.* 2016. Vol. 23 (3). P. 253–259.

23. Paduch R. The role of lymphangiogenesis and angiogenesis in tumor metastasis. *Cell Oncol (Dordr).* 2016. Vol. 39 (5). P. 397–410.

24. Microvessel Density and Impact of Angiogenesis on Survival of Resected Pan-

creatic Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-analysis / P. Ntellas et al. *Pancreas.* 2019. Vol. 48 (2). P. 233–241.

25. Prediction of Occult Lymph Node Metastasis in Head and Neck Cancer with CD31 Vessel Quantification / M. Mermod et al. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2019. Vol. 160 (2). P. 277–283.

Надійшла до редакції 06.12.2019

Рецензент канд. мед. наук,  
доц. О. І. Тірон,  
дата рецензії 09.12.2019

УДК 616.681-006.2-091.8-092.18

С. М. Потапов, О. М. Плітень, Д. І. Галата, О. В. Кривошапка

## ОСОБЛИВОСТІ АНГІОГЕНЕЗУ В ГЕРМІНОГЕННИХ ПУХЛИНАХ ЯЄЧКА

Метою роботи було вивчення васкуляризації в пухлині жовткового мішка постпубертатного типу (ПЖМПТ), тератомі постпубертатного типу (ТПТ), сперматоцитній пухлині та тератомі з малігнізацією соматичного типу яєчка. Досліджували площу (S) та інтенсивність (L) експресії CD31 і CD34, а також щільність судин (ЩС). У міру прогресування ПЖМПТ зростали S експресії CD31, CD34 і ЩС. У ТПТ в динаміці пухлинної прогресії зменшувалися ЩС і S експресії CD34 та зростала S експресії CD31. Судинна інвазія і метастазування в ПЖМПТ опосередковані підвищенням S експресії CD31 і CD34, а також збільшенням ЩС, а в ТПТ — збільшенням S та L експресії CD31.

**Ключові слова:** герміногенні пухлини яєчка, неоангіогенез, васкулогенна мімікрія, імуногістохімічне дослідження.

UDC 616.681-006.2-091.8-092.18

S. M. Potapov, O. M. Pliten, D. I. Halata, O. V. Kryvoshapka

## PECULIARITIES OF ANGIOGENESIS IN TESTICULAR GERM CELL TUMORS

The purpose of the work was to study vascularization in the testicular postpubertal-type yolk sac tumor (YSTPT), postpubertal-type teratoma (TPT), spermatocytic tumor (ST) and teratoma with somatic-type malignancy (TSTM). The relative area (S) and intensity (L) of CD31 and CD34 expression, as well as the density of blood vessels (DBV) were investigated. At progression of YSTPT S of CD31, CD34 expression and DBV have been increasing. In TPT, in the dynamics of tumor progression, DBV and S of CD34 expression have been decreasing and S of CD31 expression increasing. Vascular invasion and metastasis in YSTPT are mediated by an increase of S of CD31 and CD34 expression, as well as an increase of DBV, and in TPT, by an increase of S and L of CD31 expression.

**Key words:** testicular germ cell tumors, neoangiogenesis, vasculogenous mimicry, immunohistochemical investigation.

УДК 616.12-008.331

Є. І. Шоріков, д-р мед. наук, доц.,  
Д. В. Шорікова, канд. мед. наук, доц.

## АСОЦІАЦІЯ НОСІЙСТВА АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА АДФ-РЕЦЕПТОРА *P2RY12 T-744C* У ХВОРИХ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ТА ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ ЗІ ЗМІНАМИ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТРОМБОЦИТІВ І ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПЛАЗМИ КРОВІ

Вищий державний навчальний заклад України  
«Буковинський державний медичний університет», Чернівці

### Вступ

Поліморфізм генів людини визначає ймовірність виникнення та перебіг багатьох хво-

роб, включаючи артеріальну гіпертензію [3; 4; 6]. За даними Quinn et al., внесок генетичних факторів у варіабельність реактивності тромбоцитів стано-

вить близько 30 % [5]. Значення генетично детермінованих варіантів будови білків-рецепторів і варіабельність ферментних систем тромбоцитів активно вивчається, залишаючись актуальною проблемою кардіо-

© Є. І. Шоріков, Д. В. Шорікова, 2019