

PRACE ORYGINALNE • ORIGINAL PAPERS

Ocena wartości prognostycznej angiogenezy w guzach z grupy neuroblastoma u dzieci

Evaluation of prognostic significance of angiogenesis in neuroblastoma group in children

KATARZYNA TARAN^{1, A, C-F}, ANNA WYSOCKA^{2, A-D, F}, ANNA SITKIEWICZ^{2, B, G}, JÓZEF KOBOS^{3, B, D}¹ Katedra Patomorfologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi² Klinika Chirurgii i Onkologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi³ Zakład Patomorfologii Wieków Rozwojowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

A – przygotowanie projektu badania, B – zbieranie danych, C – analiza statystyczna, D – interpretacja danych, E – przygotowanie maszynopisu, F – opracowanie piśmiennictwa, G – pozyskanie funduszy

Streszczenie **Wstęp.** Neuroblastoma jest najczęstszym guzem litym wieku dziecięcego poza OUN. Wyniki leczenia nie są zadowalające. Angiogeneza jest nowym czynnikiem prognostycznym w tej grupie.

Cel pracy. Ocena wartości rokowniczej angiogenezy przez porównanie jej z typem histologicznym.

Materiał i metody. Badaniami objęto 29 pacjentów w wieku od 14 dni do 13 lat. Zmarło 9 dzieci. W 18 przypadkach rozpoznano histopatologię korzystną, a w 11 – niekorzystną. Skrawki guzów zabarwiono rutynowo oraz wykorzystano do badań immunohistochemicznych z użyciem anti-CD34. Ekspresję CD34 porównano z typem histologicznym guza i przeżyciem pacjentów.

Wyniki. W guzach o niekorzystnej histopatologii ekspresja CD34 (o wzorze typu „hot spots”) była niższa niż w grupie o korzystnej histologii.

Wnioski. Proces angiogenezy jest potencjalnym czynnikiem prognostycznym w neuroblastoma, modyfikowanym przez zróżnicowane i często agresywne metody leczenia.

Słowa kluczowe: angiogeneza, neuroblastoma, dzieci.

Summary **Background.** Neuroblastoma is the most common solid tumor of childhood outside CNS. Treatment results are not satisfactory. Angiogenesis is a new prognostic marker in this group.

Objectives. The aim of the study was to evaluate prognostic value of angiogenesis by comparison with histological type.

Material and methods. 29 patients age from 14 days to 13 years were examined. 9 children died. Favorable histology was diagnosed in 18 cases, unfavorable in 11. Tumor tissue samples were stained routinely and used for immunohistochemical research with anti-CD34. CD34 expression was examined according to histological type of tumor and patients' survival.

Results. In unfavorable tumors CD34 expression (with 'hot spots' pattern) was lower than among favorable ones.

Conclusions. Angiogenesis is a potential prognostic marker in neuroblastoma and is modified by various and usually aggressive treatment methods.

Key words: angiogenesis, neuroblastoma, children.

Wstęp

Pomimo wielu lat badań nad biologią guzów z grupy neuroblastoma oraz znajomości wielu uznanych czynników rokowniczych wyniki leczenia nadal nie są zadowalające. Czynnikiem o największym znaczeniu prognostycznym są amplifikacja N-myc – obligatoryjnie oznaczana w tej grupie rozrostów oraz typ utkania nowotworu, który pozwala podzielić wszystkie przypadki na grupy o korzystnej i niekorzystnej histopatologii. Uważa się, że nasiloną angiogeneza w neuroblastoma łączy się z progresją choroby nowotworowej, dodatnią amplifikacją N-myc, niekorzystną histopatologią i złą odpowiedzią na leczenie [1].

Cel pracy

Celem pracy była ocena wartości prognostycznej angiogenezy w guzach pochodzenia neuroblastycznego przez porównanie jej z uznanym czynnikiem rokowniczym – typem histopatologicznym rozrostu.

Materiał i metody

Badaniami objęto 29 pacjentów (13 dziewczynek – 45%

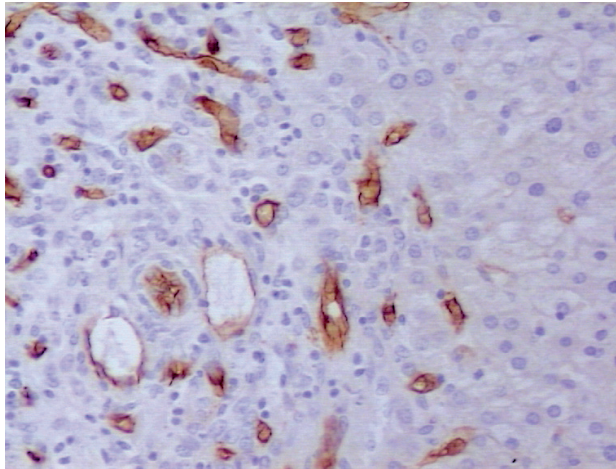
i 16 chłopców – 55%). Wiek w chwili rozpoznania wahał się od 14 dni do 13 lat. U 25 dzieci guz był zlokalizowany w jamie brzusznej (87%), u 10 (35%) – w przestrzeni otrzewnowej, u 3 – w tylnym śródpiersiu (10%), u 1 – w lokalizacji szyjnej (3%). U 14 dzieci (48%) chorobę rozpoznano w IV stadium zaawansowania, u 6 (21%) – w II, u 9 (31%) – w III. Zmarło 9 dzieci (31%).

Rozpoznano w 24 przypadkach neuroblastoma (83%), w 5 – ganglioneuroblastoma (17%), w tym o histopatologii korzystnej – 18 (63,3%) przypadków (ganglioneuroblastoma i neuroblastoma differentiating type), a niekorzystnej – u 11 przypadków (36,7%) (poorly differentiated type). Z utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie wycinków guzów sporządzono skrawki barwione rutynowo oraz wykorzystane do badań immunohistochemicznych z użyciem monoklonalnego mysiego przeciwciała przeciw CD34 (Novocastra). Za pozytywny wynik reakcji przyjęto brązowe zabarwienie cytoplazmy i błony komórkowej komórek śródbłonna. Ekspresję CD34 oznaczano ilościowo zliczając średnią z sumy liczby naczyń policzonych w 10 wybranych losowo, niezachodzących na siebie pól o powierzchni 17,12 μm² każde, przy powiększeniu 400 razy. Obliczeń dokonano za pomocą pakietu STATISTICA 5.0. Za poziom istotności przyjęto $p < 0,05$.

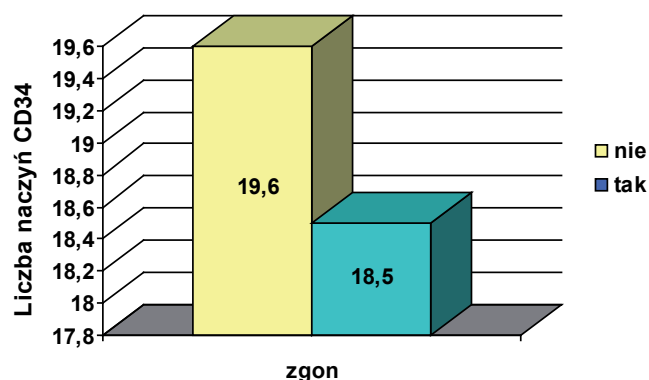
Wyniki

Gęstość naczyń (CD34⁺) wahała się od 8 do 43/17,12 μm^2 . Średnia liczba naczyń w guzie wynosiła 19,0 ($\pm 10,59$), mediana 15,5 (fot. 1).

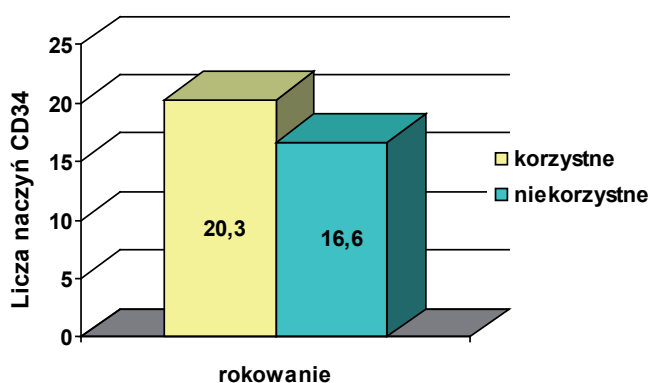
W podgrupie dzieci, które przeżyły, indeks wyniósł 19,6 ($\pm 10,45$), natomiast w podgrupie dzieci, które zmarły – 18,5 ($\pm 11,67$), bez istotności statystycznej (ryc. 1).



Fotografia 1. Ekspresja CD34 w neuroblastoma, pow. 200 x



Rycina 1. Zależność między ekspresją CD34 a przeżyciem



Rycina 2. Zależność między ekspresją CD34 a typem histologicznym

W grupie z korzystnym rokowaniem ekspresja CD34 była równomierna, a indeks CD34 wynosił 20,3 ($\pm 9,75$), przy rokowaniu niekorzystnym w postaci „hot spotów”, indeks wyniósł 16,6 ($\pm 12,04$), bez istotności statystycznej (ryc. 2).

Dyskusja

Ekspresja CD34 jest typowa przede wszystkim dla nowotworów pochodzenia naczyniowego, ale wykazują ją także białaczki szpikowe i limfoblastyczne, guzy zarodkowe oraz mięsaki. Wykorzystując przeciwciało anti-CD34, możemy również ocenić angiogenezę w guzach litych. Udowodniono, że nasiloną angiogenezę w nowotworach wiąże się z gorszym rokowaniem [2]. W momencie rozpoczęcia procesu angiogenezy w guzie progresja choroby nowotworowej jest nieodwracalna. Natura angiogenezy w neuroblastoma jest złożona i zależna od licznych czynników, tj.: VEGF, b-FGF oraz metaloproteinaz [3].

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono ekspresję CD34 we wszystkich przypadkach. Liczba naczyń w guzach pochodzących od pacjentów, którzy przeżyli, i od pacjentów, którzy zmarli, była zbliżona. W guzach o korzystnej histopatologii średnie unaczynienie było wyższe niż w grupie o niekorzystnej histopatologii, bez istotności statystycznej. Jednakże w grupie guzów o korzystnym utkaniu unaczynienie było średniego stopnia i równomierne, natomiast w guzach o niekorzystnym utkaniu zaobserwowano ogniskowo zachowanie naczyń o bardzo wysokiej gęstości, co może wskazywać, że pierwotnie liczba naczyń w tych przypadkach była znacznie większa.

Strategia leczenia w neuroblastoma jest różnorodna i zwykle agresywna, obejmuje wiele cytotatyków oraz leczenie radiologiczne (konwencjonalna oraz megachemioterapia z TBI – *total body irradiation*). Doniesienia o skutkach zastosowania połączenia topotekanu z przeciwciałem anti-VEGF w badaniu na transgenicznym myszach sugerują, że terapia kombinowana sprzyja hamowaniu neoangiogenezy [3, 4]. Można więc zasugerować, że obserwowana w naszych badaniach liczba naczyń uległa zmniejszeniu na skutek zastosowania chemioterapii wstępnej, co zatarło różnice między grupami o korzystnej i niekorzystnej histopatologii. Obecne w literaturze liczne rozbieżności na temat angiogenezy w neuroblastoma [3, 4], a także wyniki naszych badań potwierdzają, że biologia nowotworów ulega znacznej zmianie na skutek terapii, co utrudnia właściwą interpretację rezultatów prac badawczych.

Wiemy, że zarówno obecnie, jak i w przyszłości choroby nowotworowe będą coraz powszechniejsze [5]. Należy sobie zdawać sprawę z tego, że co 20 dorosły to osoba wyleczona z choroby nowotworowej w dzieciństwie. Niestety odległe skutki prowadzonych wciąż nowych terapii nie są w pełni poznane. Zmierzenie się z nimi na pierwszej linii spadnie na barki lekarzy medycyny rodzinnej, których głównym zadaniem będzie wysunięcie podejrzenia, iż obserwowany obraz kliniczny może łączyć się z często już zapomnianą przez pacjenta historią choroby nowotworowej w dzieciństwie.

Wnioski

Proces angiogenezy jest potencjalnym czynnikiem prognostycznym w neuroblastoma, modyfikowanym przez różnicowane i często agresywne metody leczenia.

Piśmiennictwo

1. Erdener O, Oguz A, Mehta U, et al. Association of MYCN amplification and 1p deletion in neuroblastomas with high tumor vascularity. *Apel Immunohistochem Mol Morphol* 2007; 15: 181–186.
2. Van de Rijn M, Mouse RV CD34; a review. *Appl Immunohistochem* 1994; 2: 71–80.
3. Ribatti D, Marimpietri D, Pastorino F, et al. Angiogenesis in neuroblastoma. *Ann NY Acad Sci* 2004; 1028: 133–142.

4. Canete A, Navarro S, Bermúdez J, et al. Angiogenesis in neuroblastoma: relationship to survival and other prognostic factors in a cohort of neuroblastoma patients. *J Clin Oncol* 2000; 18: 27–34.
5. Hudziec P, Kornafel J, Łacko A. Choroby nowotworowe – czy będą epidemią XXI wieku? *Fam Med Prim Care Rev* 2005; 7(2): 279–282.

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Katarzyna Taran

Katedra Patomorfologii UM

ul. Pomorska 251

92- 213 Łódź

Tel.: 42 675-76-35

E-mail: dr.taran.patho@gmail.com

Praca wpłynęła do Redakcji: 28.02.2013 r.

Po recenzji: 25.03.2013 r.

Zaakceptowano do druku: 10.04.2013 r.