

УДК 618.14-006.6:611.018.21]:57.085.23

<https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-3-10>



Особенности экспрессии маркеров ALDH1A1, CD271, CD133 и ISLR в эндометриоидной аденокарциноме тела матки при различных исходах заболевания

Д. А. Зиновкин¹, Р. В. Зятиков², Ю. И. Тетерская³

¹Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

²Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро, г. Гомель, Беларусь

³ООО «ОМНИЯ Клиник», г. Гомель, Беларусь

Резюме

Цель исследования. Выявить особенности экспрессии маркеров ALDH1A1, CD133, CD271 и ISLR в эндометриоидной аденокарциноме тела матки при благоприятном и неблагоприятном вариантах течения заболевания.

Материалы и методы. В исследовании использовался гистологический архивный материал 188 случаев эндометриоидной аденокарциномы тела матки. Все случаи были разделены на две группы в соответствии с исходом заболевания. В группу с благоприятным исходом вошло 148 случаев без прогрессии опухоли, в группу с неблагоприятным исходом — 40 пациенток, имевших прогрессирование заболевания за время наблюдения. Экспрессия ALDH1A1, CD271, CD133 и ISLR оценивалась как процент позитивных клеток к общему числу клеток в поле зрения. Сравнение групп проводилось с использованием теста Манна – Уитни.

Результаты. Отмечались статистически значимые различия между группами ($p < 0,05$) в экспрессии ALDH1A1, CD271, CD133 и ISLR.

Заключение. Экспрессия маркеров ALDH1A1, CD133 ISLR в группах с различным исходом заболевания может указывать на их предикторную роль в прогнозе эндометриоидной аденокарциномы тела матки.

Ключевые слова: эндометриоидная аденокарцинома, ALDH1A1, CD271, CD133, ISLR

Вклад авторов. Зиновкин Д.А.: разработка дизайна исследования, обзор литературы, иммуногистохимическое исследование, обработка и анализ данных, обсуждение и выводы, статистическая обработка и анализ данных, написание текста статьи, утверждение окончательного варианта статьи; Зятиков Р.В.: разработка дизайна исследования, морфометрический анализ, обсуждение и выводы, утверждение окончательного варианта статьи; Тетерская Ю.И.: обзор литературы, библиография.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Работа была выполнена в рамках гранта БРФФИ-НФЕНК № 20230285 от 10.03.2023 г.: «Васкулогенная мимикрия и проангиогенная активность в опухолевом микроокружении под действием vCAF при раке эндометрия».

Для цитирования: Зиновкин ДА, Зятиков РВ, Тетерская ЮИ. Особенности экспрессии маркеров ALDH1A1, CD271, CD133 и ISLR в эндометриоидной аденокарциноме тела матки при различных исходах заболевания. Проблемы здоровья и экологии. 2024;21(3):75–80. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-3-10>

The specificities of markers ALDH1A1, CD271, CD133 and ISLR expression in endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus at different disease outcomes

Dmitry A. Zinovkin¹, Roman V. Zyatikov², Julia I. Teterskaya³

¹Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

²Gomel Regional Clinical Pathology Bureau, Gomel, Belarus

³"OMNIA Klinik" Ltd., Gomel, Belarus

Abstract

Objective. To identify the expression patterns of ALDH1A1, CD133, CD271 and ISLR in endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus at different outcomes.

Materials and methods. Histological archival material of 188 cases of endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus were used in the study. All cases were divided into 2 groups according to the outcome of the disease. The group with

favourable outcome included 148 cases without tumour progression. The group with unfavourable outcome included 40 patients who had disease progression during follow-up. ALDH1A1, CD271, CD133 and ISLR expression was evaluated as the percentage of positive cells to the total number of cells in the field of view. Comparison of groups was performed using the Mann-Whitney test.

Results. There were statistically significant differences between groups ($p < 0.05$) in ALDH1A1, CD271, CD133 and ISLR expression.

Conclusion. Expression of ALDH1A1, CD133 ISLR markers in groups with different disease outcome may indicate their predictive role in the prognosis of endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus.

Keywords: *endometrioid adenocarcinoma, ALDH1A1, CD271, CD133, ISLR*

Author contributions. Zinovkin D.A.: research design development, literature review, immunohistochemical study, data processing and analysis, writing the text of the article; Zyatikov R.V.: research design development, morphometric analysis, discussion and conclusions, approval of the final version of the article; Teterskaya J.I.: literature review, bibliography; Zinovkin D.A.: statistical processing and data analysis, discussion and conclusions, approval of the final version of the article.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was performed within the grant BRFFR-NNSFC №20230285 dated 10.03.2023: "Vasculogenic mimicry and proangiogenic activity in the tumour microenvironment under the action of vCAF in endometrial cancer".

For citation: Zinovkin DA, Zyatikov RV, Teterskaya JI. The specificities of markers ALDH1A1, CD271, CD133 and ISLR expression in endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus at different disease outcomes. *Health and Ecology Issues*. 2024;21(3):75–80. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-3-10>

Введение

По данным проекта Международного агентства по исследованию рака «Global cancer observatory», злокачественные новообразования тела матки по числу новых случаев и смертей от рака среди женщин во всем мире занимают 6-е и 13-е место соответственно [1]. Основной гистологической формой рака тела матки является эндометриоидная аденокарцинома [2].

Маркер ALDH1A1 является ключевой формой ALDH, связанной с популяциями стволовых клеток. ALDH1A1 также играет важную роль в качестве маркера стволовых и раковых стволовых клеток (PCK). Несмотря на накапливающиеся данные о функциональной роли ALDH1A1 в PCK, конкретные механизмы, участвующие в регуляции ALDH1A1 в PCK, остаются неясными [3, 4].

Ген CD271, также называемый рецептором фактора роста нервов, является ключевым фактором в развитии клеточной смерти, выживания и дифференцировки нейронов. Помимо вклада в работу нервной системы имеются данные, что CD271 играет определенную роль в регуляции прогениторных эндотелиальных клеток (ПЭК) и PCK. В клетках меланомы CD271 идентифицирован как маркер стволовых клеток рака [5]. Экспрессия CD271 положительно коррелирует со степенью дифференцировки плоскоклеточного рака легких и пищевода. В раке желудка CD271 ингибирует инвазию и метастазирование путем подавления NFκB-сигнального пути. [6].

Маркер ISLR, также известный как meflin, — недавно обнаруженный маркер мезенхимальных стволовых клеток, который участвует в об-

разовании стромы при фиброзе и в опухолевом микроокружении [7]. В частности, недавно было показано, что отсутствие или низкая экспрессия ISLR может вызывать выпрямление стромальных коллагеновых волокон в тканях протоковой аденокарциномы поджелудочной железы мыши и человека, такое выпрямление является отличительной чертой высокого агрессивного потенциала опухолей [8]. Кроме того, экспрессия ISLR повышена в строме колоректального рака и аденокарциномы желудка. Высокая экспрессия ISLR считается независимым прогностическим показателем безрецидивной выживаемости [9].

Маркер CD133, или проминин-1, является пентаспановым трансмембранным гликопротеином, выполняет функции модулятора эффектов цитокинов, оказывает влияние на активность мембранных рецепторов. CD133 участвует в росте клеток и онкогенезе, эпителиально-мезенхимальном переходе и является маркером нейральных стволовых клеток человека. Некоторые авторы связывают повышенную представленность CD133 в опухоли с неблагоприятным прогнозом, другие исследователи считают это недостаточно обоснованным [10].

Таким образом, специфические изменения параметров стромы в ряде опухолей зависят от изменения экспрессии маркеров прогениторных эндотелиальных клеток и стволовых клеток. В этой связи изучение вышеуказанных молекулярных параметров может быть использовано для определения клинических исходов эндометриоидной аденокарциномы.

Цель исследования

Выявить особенности экспрессии маркеров ALDH1A1, CD133, CD271 и ISLR в эндометриоидной аденокарциноме тела матки при различных клинических исходах.

Материалы и методы

Данное ретроспективное, обсервационное исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации и одобрено этическим комитетом Гомельского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 26.01.2024).

Для проведения исследования был использован архивный гистологический материал и медицинская документация У «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» пациенток, проходивших лечение в период с 1 января 2020 г. по 1 января 2021 г. Критерии включения в исследование:

1. Случаи, в которых была патогистологически верифицирована эндометриоидная аденокарцинома эндометрия.

2. Пациентки, прожившие больше одного месяца после лечения; пациентки, которые не были из наблюдения.

3. Случаи эндометриоидной аденокарциномы тела матки T₁–T₃ (pTNM).

Критерии исключения из исследования:

1. Случаи без гистологически верифицированного диагноза эндометриоидной аденокарциномы тела матки.

2. Пациентки, смерть которых наступила от осложнений лечения.

3. Случаи рака эндометрия T₄ (pTNM).

Таким образом, в исследовании использовался гистологический архивный материал 188 случаев эндометриоидной аденокарциномы тела матки. Все случаи были разделены на две группы в соответствии с исходом заболевания. В группу с благоприятным исходом вошло 148 случаев без прогрессии опухоли, в группу с неблагоприятным исходом — 40 пациенток, имевших прогрессирование заболевания за время наблюдения.

Все пациентки получали лечение в соответствии с алгоритмами диагностики и лечения злокачественных новообразований Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

Из парафиновых блоков на микротоме Thermo Scientific Microm HM 450 (Thermo Scientific, Германия) готовили серии срезов толщиной 4 мкм. Иммуногистохимическое исследование проводилось одномоментно для каждого иммуногистохимического маркера. Гистологические срезы монтировали на предметные стекла с силанизированным покрытием Минимед («Минимед», РФ). Гистологические препараты после

высыхания помещали в термостат на 1 ч при температуре 60 °С. Затем проводили депарафинизацию в двух порциях орто-ксилола. Гидратацию срезов проводили в трех порциях этилового спирта нисходящей концентрации (96 %, 80 %, 70 %), после чего промывали в дистиллированной воде в течение 3 минут. Восстановление антигенов проводилось в 1 мМ буферном растворе Tris-EDTA (pH 9,0). Нагревание гистологических препаратов в буферном растворе проводили в бытовой микроволновой печи при мощности 800 W в течение 5 минут, дальнейшая демаскировка антигенов проходила на мощности 600 W на протяжении 10 минут.

После этого гистологические препараты доставали из микроволновой печи и оставляли остывать в растворе при комнатной температуре. Остывшие срезы промывали в двух порциях буферного раствора Tris-EDTA (pH 9,0) на протяжении 5 минут и подсушивали. Эндогенные пероксидазы блокировали инкубацией гистологических срезов в 3 % растворе пероксида водорода в течение 15 минут. Для предотвращения фонового окрашивания проводилась инкубация на протяжении 10 минут в 0,5 % растворе бычьего сывороточного альбумина (протеиновый блок). Гистологические срезы промывали в двух порциях буферного раствора Tris-EDTA (pH 9,0) в течение 5 минут. Наносили первичные антитела к ALDH1A1, CD271, CD133 и ISLR и инкубировали во влажной камере на протяжении 60–120 минут.

Затем гистологические срезы промывали в двух порциях буферного раствора Tris-EDTA (pH 9,0) в течение 5 минут. Наносили на них вторичные антитела системы визуализации 2-step plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System и инкубировали во влажной камере в течение 30 минут. После этого гистологические срезы промывали в двух порциях буферного раствора Tris-EDTA (pH 9,0) в течение 5 минут. Срезы заключали под покровные стекла с использованием монтирующей среды Biomount («BioOptica», Италия). Проводился негативный контроль иммуногистохимического исследования.

Экспрессия ALDH1A1, CD271, CD133 и ISLR оценивалась как процент позитивных клеток к общему числу клеток в поле зрения. Оценка проводилась на увеличении ×200 в трех неперекрывающихся полях зрения.

Статистический анализ проводился с использованием пакета программ GraphPad Prism, 8.0 (GraphPad, США). Данные были представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей. Сравнение групп проводилось с использованием теста Манна – Уитни. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

При микроскопии цитоплазматическая экспрессия ALDH1A1 отмечалась преимущественно в паренхиматозном компоненте (рисунок 1А). В

группе с благоприятным исходом определялась слабо выраженная экспрессия. В группе неблагоприятного исхода степень выраженности экспрессии варьировала от слабой до умеренной.

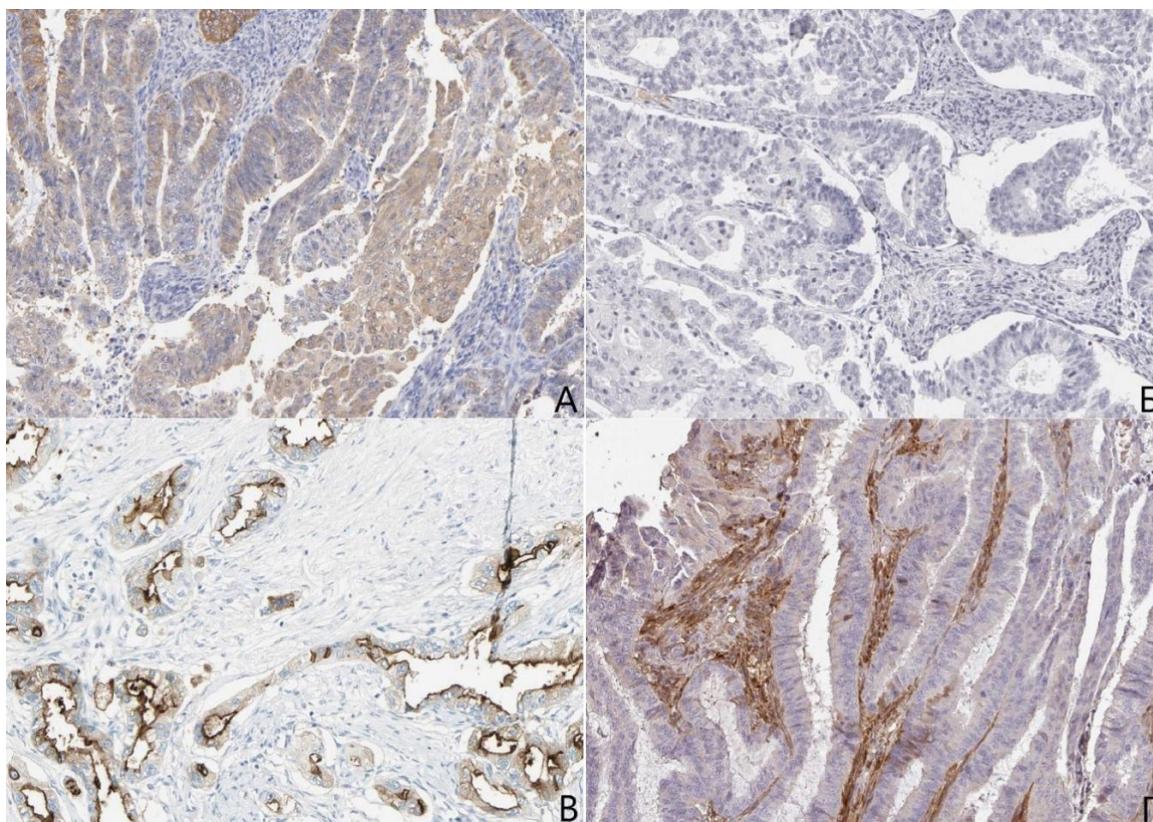


Рисунок 1. Иммуногистохимическая экспрессия: А — умеренная экспрессия ALDH1A1 преимущественно в паренхиматозном компоненте; Б — отсутствие экспрессии CD271 эндометриоидной аденокарциномой тела матки; В — выраженная экспрессия CD133 преимущественно апикальной частью желез; Г — выраженная стромальная экспрессия ISLR.

Контр-окрашивание: гематоксилин-эозин. Увеличение: $\times 200$

Figure 1. Immunohistochemical expression: A — Moderate expression of ALDH1A1 predominantly in the parenchymatous component; B — Absence of CD271 expression by endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus; C — Prominent expression of CD133 predominantly in the apical part of the gland; D — Prominent stromal expression of ISLR.

Counter-staining: haematoxylin-eosin. Magnification: $\times 200$

Медиана экспрессии ALDH1A1 в группе с благоприятным исходом составила 14,2 (10,1; 23,3) %, в группе с неблагоприятным исходом — 34,1 (29,2; 46,2) %. При сравнении групп определялись статистически значимые различия ($p < 0,0001$). Характеристика групп представлена на рисунке 2А.

Во всех случаях эндометриоидной аденокарциномы тела матки экспрессия CD271 отсутствовала (рисунок 1Б).

Цитоплазматическая экспрессия CD133 была представлена преимущественно в апикальной части железистого компонента (рисунок 1В). В группе с неблагоприятным исходом отмечалась более выраженная экспрессия, чем в группе с благоприятным исходом.

Медиана экспрессии CD133 в группе с благоприятным исходом составила 35,1 (23,2; 43,1) %,

в группе с неблагоприятным исходом — 56,2 (48,3; 65,0) %. При сравнении групп определялись статистически значимые различия ($p = 0,0004$). Характеристика групп представлена на рисунке 2Б.

При микроскопии экспрессия ISLR наблюдалась преимущественно в фибробластах стромы опухоли (рисунок 1Г). Степень экспрессии ISLR была более выраженной в группе с благоприятным исходом.

Медиана экспрессии ISLR в группе с благоприятным исходом составила 81,0 (65,5; 87,0) %, в группе с неблагоприятным исходом — 45,4 (43,0; 63,2) %. При сравнении групп определялись статистически значимые различия ($p < 0,0001$). Характеристика групп представлена на рисунке 2В.

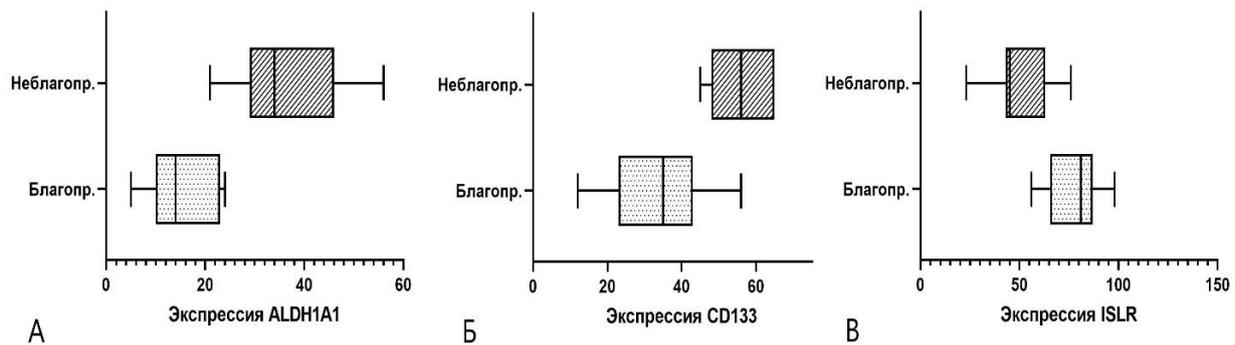


Рисунок 2. Статистическая характеристика групп по уровню экспрессии: А — ALDH1A1; Б — CD133; В — ISLR
Figure 2. Statistical characteristics of groups by expression level: A — ALDH1A1; B — CD133; C — ISLR.

Примечание. Неблагопр. — группа с неблагоприятным исходом; Благопр. — группа с благоприятным исходом

Заключение

Полученные нами данные указывают на то, что имеются статистически значимые различия между экспрессией маркеров ALDH1A1, CD133

ISLR в группах с различным исходом заболевания, что может указывать на их предикторную роль в прогнозе эндометриоидной аленокарциномы тела матки.

Список литературы / References

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021 Feb 4;71(3):209-249. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Watkins JC, Downing MJ, Crous-Bou M, Busch EL, Chen MM, De Vivo I, et al. Endometrial tumor classification by histomorphology and biomarkers in the nurses' Health Study. *Journal of Cancer Epidemiology*. 2021 Mar 12;2021:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/8884364>
- Xia Y, Wang S, Sun Y, Wang W, Chang S, Zhang Z, et al. FZD5 induces chemoresistance through ALDH1A1 in ovarian cancer. 2024 Jan 29; DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3875162/v1>
- DeLeo AB. Targeting cancer stem cells with ALDH1A1-based immunotherapy. *Oncology*. 2012 May;1(3):385-387. DOI: <https://doi.org/10.4161/onc.18826>
- Vidal A, Redmer T. Decoding the role of CD271 in melanoma. *Cancers*. 2020 Aug 31;12(9):2460. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers12092460>
- Shen W. Downregulation of KCTD12 contributes to melanoma stemness by modulating CD271. *Cancer Biology & Medicine*. 2019 Aug 1;16(3):498-513. DOI: <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0073>
- Takahashi M, Kobayashi H, Mizutani Y, Hara A, Iida T, Miyai Y, et al. Roles of the mesenchymal stromal/stem cell marker Meflin/ISLR in cancer fibrosis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021 Oct 5;9. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.749924>
- Li S, Zhao W, Sun M. An analysis regarding the association between the ISLR gene and gastric carcinogenesis. *Frontiers in Genetics*. 2020 Jun 16;11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00620>
- Yondem E, Pesen-Okvur D. Cancer cell-derived extracellular matrix promotes differentiation of fibroblasts into cancer-associated fibroblasts. *BioRxiv*. 2024 Apr 20. DOI: <https://doi.org/10.1101/2024.04.15.589578>
- Glumac PM, LeBeau AM. The role of CD133 in cancer: a concise review. *Clinical and Translational Medicine*. 2018 July 09. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40169-018-0198-1>

Информация об авторах / Information about the authors

Зиновкин Дмитрий Александрович, к.б.н., доцент, доцент кафедры патологической анатомии, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3808-8832>
e-mail: zinovkin_da@gsmu.by

Зятиков Роман Викторович, врач-патологоанатом отделения общей патологии, ГУЗ «Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6859-1693>
e-mail: zinych007@yandex.ru

Тетерская Юлия Ивановна, врач-хирург, ООО «ОМНИА Клиник», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1519-7850>
e-mail: yuliamuchina@rambler.ru

Dmitry A. Zinovkin, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor at the Department of Pathology, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3808-8832>
e-mail: zinovkin_da@gsmu.by

Roman V. Zyatikov, Pathologist at the General Pathology Department, Gomel Regional Clinical Pathology Bureau, Gomel, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6859-1693>
e-mail: zinych007@yandex.ru

Julia I. Teterskaya, Surgeon, OMNIA Clinic (Ltd), Gomel, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1519-7850>
e-mail: yuliamuchina@rambler.ru

Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Зиновкин Дмитрий Александрович
e-mail: zinovkin_da@gsmu.by

Dmitry A. Zinovkin
e-mail: zinovkin_da@gsmu.by

Поступила в редакцию / Received 08.07.2024

Поступила после рецензирования / Accepted 23.07.2024

Принята к публикации / Revised 12.08.2024