

# Ekspresja wybranych markerów i modulatorów angiogenezy u chorych na raka jajnika w okresie przed-, około- i pomenopauzalnym

Expression of selected angiogenesis markers and modulators in pre-, peri- and postmenopausal women with ovarian cancer

Bednarek Wiesława<sup>1</sup>, Mazurek Magdalena<sup>1</sup>, Ćwiklińska Alicja<sup>2</sup>, Barczyński Bartłomiej<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie,

<sup>2</sup> Oddział Ginekologii, Okręgowy Szpital Kolejowy SPZOZ w Lublinie, ul. Kruczkowskiego 21, 20-468 Lublin

## Streszczenie

**Wstęp:** Jednym z najczęściej ocenianych markerów angiogenezy jest gęstość mikronaczyń określana na podstawie ekspresji antygenów swoistych dla komórek śródbłonkowych (CD34, CD105). Modulatorami angiogenezy są m.in. czynniki wzrostu i ich receptory (np. EGFR), proteazy i ich inhibitory, onkogeny i geny supresorowe (p53).

**Cel pracy:** Celem pracy była ocena, czy u pacjentek z rakiem jajnika o różnym statusie menopauzalnym występują różnice w ekspresji wybranych markerów i modulatorów angiogenezy.

**Materiał i metody:** Do badania włączono 100 kobiet w wieku 30-70 lat, które zostały poddane leczeniu operacyjnemu z powodu raka jajnika. Chore w zależności od statusu menopauzalnego podzielono na trzy grupy: pacjentki w okresie przed-, około- i pomenopauzalnym. Gęstość mikronaczyń oceniano na podstawie ekspresji antygeny CD34 (MVD<sub>CD34</sub>) oraz antygeny CD105 (MVD<sub>CD105</sub>). Analizowano immunohistochemiczną ekspresję białka p53 i EGFR w tkance guza. W surowicy krwi pobranej od pacjentek przed zabiegiem operacyjnym oceniano stężenie aktywnej formy EGFR.

**Wyniki:** Gęstość mikronaczyń oceniana na podstawie ekspresji CD34 i CD105, a także ekspresja białka p53 oraz EGFR była podobna we wszystkich trzech badanych grupach. Nie stwierdzono również istotnych różnic w stężeniu aktywnej formy EGFR w surowicy krwi chorych na raka jajnika w zależności od ich statusu menopauzalnego.

**Wnioski:** Proces angiogenezy zachodzącej w raku jajnika wydaje się być niezależny od statusu menopauzalnego pacjentek. Jego tempo i nasilenie są prawdopodobnie zbliżone u chorych w okresie przed-, około- i pomenopauzalnym.

Słowa kluczowe: **angiogeneza / rak jajnika / menopauza / EGFR / p53 / CD34 / CD105 /**

## Adres do korespondencji:

Wiesława Bednarek  
Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie,  
PSK nr 1 w Lublinie,  
ul. Staszica 16, 20-081 Lublin,  
e-mail: ginonkol@am.lublin.pl

Otrzymano: 15.11.2008  
Zaakceptowano do druku: 12.01.2009

## Summary

**Introduction:** One of the most commonly assessed angiogenesis markers is microvessel density which is determined on the bases of specific endothelial antigen expression (CD34, CD105). Angiogenesis modulators include growth factors and their receptors (EGFR), proteases and their inhibitors, oncogenes and suppressor genes (p53).

**Objective:** The aim of the study was to evaluate whether there are any differences in selected angiogenesis markers and modulators expressions in ovarian cancer patients with different menopause status.

**Material and methods:** The study included 100 women, age 30-70, who underwent surgical treatment due to ovarian cancer. As far as their menopause status was concerned, the women were divided into three groups: pre-, peri-, and postmenopausal. Microvessel density was assessed on the basis of CD34 (MVD<sub>CD34</sub>) and CD105 (MVD<sub>CD105</sub>) expression. Additionally, tumor tissue p53 protein and EGFR expression were investigated. Active EGFR form in blood serum samples of cancer patients was assessed before the surgery.

**Results:** Microvessel density, assessed on the basis of CD34 and CD105 expression, as well as p53 and EGFR expression were similar in all three groups of patients. Active EGFR serum concentration in women with ovarian cancer did not prove to be significantly different and did not depend on the menopause status.

**Conclusion:** Intensity of the angiogenesis process does not depend on the menopausal status of women and is similar in pre-, peri- and postmenopausal patients.

Key words: **neovascularization – pathologicovarian neoplasms / menopausae /  
/ Receptor – Epidermal Growth Factor / Tumor Suppressor Protein p53 /  
/ antigens – CD34 / antigen-human CD105 /**

## Wstęp

Rak jajnika jest nowotworem o najwyższym wskaźniku umieralności spośród wszystkich nowotworów żeńskich narządów płciowych. Choroba dotyka głównie kobiety starsze, a szczyt zachorowalności przypada po 70 roku życia [1].

Istnieją sprzeczne dane co do tego, czy i w jaki sposób wiek menopauzy wpływa na rozwój raka jajnika. Według niektórych autorów wczesna menopauza może zwiększać jego ryzyko a według innych, bardziej narażone są kobiety, które przeszły menopauzę w wieku późniejszym [2, 3, 4].

Rak jajnika jest chorobą niezwykle heterogenną, której patomechanizm powstawania jest złożony i nie do końca poznany. Ze względu na brak istotnych klinicznie objawów w początkowych stadiach choroby, większość pacjentek zgłasza się do lekarza z zaawansowaną chorobą nowotworową [5, 6]. W chwili obecnej nie ma zaleceń dotyczących badań przesiewowych.

Zgodnie z koncepcją Folkmana, rozwój i wzrost guza zależy od nasilenia procesu neoangiogenezy, czyli powstawania nowych naczyń krwionośnych [7]. Komórki nowotworowe zlokalizowane w zbyt dużej odległości od pierwotnych naczyń są pozbawione składników odżywczych, co wstrzymuje ich proliferację [8, 9]. Neoangiogeneza nowotworowa zachodzi w wyniku powiększania średnicy, wydłużania i podziału istniejących naczyń, lub drogą pączkowania. Ściany nowych naczyń utworzone są z proliferujących komórek śródbłonna, lub mozaikowo przeplatających się komórek śródbłonna z komórkami nowotworowymi. Nowo powstałe naczynia wykazują wiele nieprawidłowości, zarówno strukturalnych jak i czynnościowych [10, 11]. Najistotniejsze z nich to brak uporządkowania, poskręcany przebieg łącznie z rozległymi pętlami, przetokami i ślepych zakończeniami oraz wybitna nierównomierność występowania nowych naczyń w całej tkance guza. Dodatkowo obserwuje się zaburzenia w budowie ścian naczyń.

Połączenia między komórkami budującymi naczynie krwionośne są często nieszczelne a śródbłonek tworzy liczne okienka [12]. Wszystko to implikuje liczne zaburzenia czynnościowe, chaotyczny przepływ krwi w tkance guza i związane z tym lokalne niedokrwienie i zmianę odczynu w niektórych obszarach guza, co nie pozostaje bez wpływu na skuteczność leczenia. Czynniki, które pozwalają poznać przebieg nowotworzenia naczyń są markery angiogenezy, czyli fenotypowe cechy nowotworu, możliwe do ilościowej i jakościowej oceny za pomocą technik histopatologicznych i obrazowych. Czynniki regulujące przebieg procesu powstawania nowych naczyń krwionośnych to modulatory angiogenezy. Czynniki proangiogenne wspomagają powstawanie naczyń a antyangiogenne – hamują ich powstawanie i rozwój.

Najczęściej badany markerem angiogenezy jest gęstość mikronaczyń (MVD, *microvessel density*) [13, 14]. MVD to średnia liczba mikronaczyń, określana przy użyciu mikroskopu wyposażonego w odpowiedni obiektyw o znanej średnicy pola widzenia. MVD obliczana jest jako średnia arytmetyczna z liczby mikronaczyń stwierdzonej w trzech lub czterech polach widzenia wybranych subiektywnie spośród pól o największym unaczynieniu (*hot spots*). Wśród stosowanych przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom występującym na komórkach śródbłonna najczęściej stosuje się przeciwciała panendotelialne skierowane przeciwko czynnikowi VIII, antygenowi CD31 oraz antygenowi CD34. Najbardziej czułe w tej grupie przeciwciał są przeciwciała anti-CD34, które reagują z największą liczbą komórek śródbłonkowych w porównaniu z innymi stosowanymi przeciwciałami. Przeciwciała te łączą się z glikoproteiną CD34, antygenem występującym na powierzchni niedojrzałych komórek hemopoetycznych oraz na wewnętrznej powierzchni komórek śródbłonna [15].

Nowe dane wskazują, że znacznie bardziej specyficzne dla obszarów aktywnej neoangiogenezy są przeciwciała

## Ekspresja wybranych markerów i modulatorów angiogenezy u chorych na raka jajnika...

identyfikujące proliferujące komórki śródbłonna. Do takich przeciwciał należy między innymi przeciwciało anti-CD105 rozpoznające integralny alfabeta3.

Jednym z najdokładniej poznanych czynników proangiogennych jest naskórkowy czynnik wzrostu (*epidermal growth factor*, EGF). Ekspresję jego receptora (EGFR) stwierdzono w większości prawidłowych komórek organizmu człowieka. Wzmoczona ekspresja i nadmierna aktywacja EGFR są zaburzeniami sprzyjającymi proliferacji komórek, zahamowaniu apoptozy i nasileniu angiogenezy [16]. Zaburzenia regulacji EGFR stwierdzane są w nowotworach litych, takich jak rak gruczołu piersiowego, rak jelita grubego, rak pęcherza i rak jajnika [17]. W chorobach nowotworowych dochodzi również do mutacji genu p53, której konsekwencją jest wytwarzanie nieprawidłowego białka p53, które ulega akumulacji w jądrze komórkowym, co doprowadza do wtórnego spadku stężenia trombospondyny-1, naturalnie występującego czynnika antyangiogennego [18].

### Cel pracy

Celem pracy było ustalenie, czy istnieją różnice ekspresji wybranych markerów i modulatorów angiogenezy u kobiet chorych na raka jajnika, w zależności od ich statusu menopauzalnego.

Oceniano: gęstości mikronaczyń na podstawie tkankowej ekspresji antygenów CD34 i CD105, tkankową ekspresję receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) i białka p53 oraz stężenia aktywnej formy receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) w surowicy krwi chorych na raka jajnika.

### Materiał i metody

Do badania włączono 100 kobiet w wieku 30-70 lat (mediana 52 lata), w stopniu zaawansowania choroby nowotworowej według FIGO I-IV, które zostały poddane leczeniu operacyjnemu z powodu raka jajnika w I Klinice Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Chore w zależności od statusu menopauzalnego podzielono na trzy grupy:

- I – 22 kobiety w okresie przedmenopauzalnym – pacjentki, u których do chwili zabiegu operacyjnego występowały regularne miesiączki,
- II – 31 kobiet w okresie okołomenopauzalnym – pacjentki, u których od ostatniej, regularnej miesiączki upłynęło od 2 do 12 miesięcy i nie stosowały hormonalnej terapii zastępczej (HTZ),
- III – 47 kobiet w okresie pomenopauzalnym – pacjentki, u których od ostatniej miesiączki upłynęło co najmniej 12 miesięcy i nie stosowały HTZ.

Skrawki pobrane w trakcie zabiegu operacyjnego utrwalano w 10% formalinie zbuforowanej, a następnie zatapiano w parafinie. Przed wykonaniem badań immunohistochemicznych skrawki odparafinowano w ksylenie, uwadniano przeprowadzając do wody destylowanej przez ciąg roztworów alkoholu etylowego o malejącym stężeniu, zanurzono w buforze cytrynianowym o pH 6,0 w celu odmaskowania antygenów, ogrzano i inkubowano z 3% wodą utlenioną w celu zablokowania aktywności endogennej peroksydazy. Oceniono gęstość mikronaczyń w raku jajnika na podstawie ekspresji

antygeny CD34 (MVD<sub>CD34</sub>) oraz antygeny CD105 (MVD<sub>CD105</sub>) używając monoklonalnych mysich przeciwciał skierowanych przeciwko CD34 (DakoCytomation) i przeciwko CD105 (Novocastra Laboratories). Liczbę mikronaczyń oceniano pod powiększeniem 400x w 3 polach widzenia o największej gęstości mikronaczyń. Pola o największej gęstości mikronaczyń (*hot spots*) wybierane były uprzednio, podczas oceny całego preparatu pod powiększeniem 100x. Średnia gęstość mikronaczyń (MVD) wyrażana była jako liczba mikronaczyń na 1 pole o dużej gęstości przy powiększeniu 400x (*high power field*, HPF).

Ekspresję białka p53 określono używając monoklonalnych mysich przeciwciał skierowanych przeciwko ludzkiemu białku p53- Clone DO-7 (*DakoCytomation*). Stopień nasilenia odczynu określano w zależności od liczby komórek wykazujących jądrowy odczyn immunohistochemiczny według następującej zasady: brak ekspresji, brak odczynu lub odczyn obecny w <10% jąder komórek nowotworowych, obecna ekspresja – odczyn obecny w 10% lub większym odsetku jąder komórek nowotworowych.

Ocenę receptora EGF (EGFR) w tkance guza przeprowadzono używając zestawu EGFR pharmDx kit system do automatycznego barwienia (*DakoCytomation*). Nasilenie ekspresji EGFR w błonach komórek nowotworowych oceniano według następującej skali czterostopniowej od 0 do 3+: (0) brak odczynu; (1+) dodatni odczyn o słabej intensywności zabarwienia; (2+) dodatni odczyn o umiarkowanej intensywności zabarwienia; (3+) dodatni intensywny odczyn błonowy.

Stężenie aktywnej formy EGFR oceniano przy użyciu zestawu *Human Active EGF Receptor ELISA* (Bender MedSystems) w surowicy krwi pacjentek przed zabiegiem operacyjnym.

### Wyniki

Wartości MVD<sub>CD34</sub> obserwowane w całej badanej grupie mieściły się w zakresie od 10,3/HPF do 163,4/HPF (mediana 48,0/HPF). Medianę MVD<sub>CD34</sub> wykorzystano do podziału badanej grupy chorych na chore wykazujące niską (MVD<sub>CD34</sub> <48,0/HPF) lub wysoką (MVD<sub>CD34</sub> ≥48,0/HPF) gęstość mikronaczyń w raku jajnika. Niska i wysoka gęstość mikronaczyń występowała z porównywalną częstością w grupach I-III (p>0,05). (Tabela I).

Wartości MVD<sub>CD105</sub> mieściły się w zakresie od 10,3/HPF do ponad 100,0/HPF (mediana 31,4/HPF).

Medianę MVD<sub>CD105</sub> wykorzystano do podziału badanej grupy chorych na chore wykazujące niską (MVD<sub>CD105</sub> <31,4/HPF) lub wysoką (MVD<sub>CD105</sub> ≥31,4/HPF) gęstość mikronaczyń w raku jajnika. W przypadku MVD<sub>CD105</sub> również nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami I-III (p>0,05). (Tabela II).

Obecność ekspresji białka p53 w jądrach komórek raka jajnika stwierdzono w 41 przypadkach, zaś jej brak w 59 przypadkach. Częstość występowania ekspresji białka p53 była porównywalna w grupach I-III (p>0,05). (Tabela III).

Brak lub słabą ekspresję EGFR (0/1+) stwierdzono w 56 przypadkach, zaś ekspresję umiarkowaną lub intensywną (2+/3+) w 44 przypadkach raka jajnika. Częstość występowania ekspresji EGFR była porównywalna w grupach I-III (p>0,05). (Tabela IV).

Bednarek W, et al.

**Tabela I.** Gęstość mikronaczyń oceniana na podstawie ekspresji CD34 (MVD<sub>CD34</sub>) w odniesieniu do statusu menopauzalnego chorych na raka jajnika.

Okres	MVD <sub>CD34</sub>		p
	Niska	Wysoka	
Przedmenopauzalny	14 (63,6%)	8 (36,4%)	0,33
Okolomenopauzalny	15 (48,4%)	16 (51,6%)	
Pomenopauzalny	21 (44,7%)	26 (55,3%)	

**Tabela II.** Gęstość mikronaczyń oceniana na podstawie ekspresji CD105 (MVD<sub>CD105</sub>) w odniesieniu do statusu menopauzalnego chorych na raka jajnika.

Okres	MVD <sub>CD105</sub>		p
	Niska	Wysoka	
Przedmenopauzalny	14 (63,6%)	8 (36,4%)	0,33
Okolomenopauzalny	15 (48,4%)	16 (51,6%)	
Pomenopauzalny	21 (44,7%)	26 (55,3%)	

**Tabela III.** Ekspresja białka p53 w odniesieniu do statusu menopauzalnego chorych na raka jajnika.

Okres	Ekspresja p53		p
	Brak	Obecna	
Przedmenopauzalny	15 (68,2%)	7 (31,8%)	0,31
Okolomenopauzalny	15 (48,4%)	16 (51,6%)	
Pomenopauzalny	29 (61,7%)	18 (38,3%)	

**Tabela IV.** Ekspresja EGFR w odniesieniu do statusu menopauzalnego chorych na raka jajnika.

Okres	Ekspresja EGFR		p
	0/1+	2+/3+	
Przedmenopauzalny	9 (40,9%)	13 (59,1%)	0,22
Okolomenopauzalny	20 (64,5%)	11 (35,5%)	
Pomenopauzalny	27 (57,4%)	20 (42,6%)	

**Tabela V.** Stężenie aktywnej formy EGFR w odniesieniu do statusu menopauzalnego chorych na raka jajnika.

Okres	Stężenie aktywnej formy EGFR		p
	Mediana	Min-Max	
Przedmenopauzalny	0,102	0,093-0,160	0,83
Okolomenopauzalny	0,104	0,093-0,475	
Pomenopauzalny	0,106	0,093-0,421	

Stężenie aktywnej formy EGFR w surowicy krwi mieściło się w zakresie od 0,093 do 0,475fmol/ml (mediana 0,105fmol/ml). Stężenie to było porównywalne w grupach I-III ( $p>0,05$ ). (Tabela V).

## Dyskusja

O szybkości podziału komórek, zdolności do naciekania sąsiednich tkanek oraz skłonności do tworzenia przerzutów nowotworowych decyduje wiele cech fenotypowych nowotworu. Unaczynienie guza jest jednym z najważniejszych czynników, którego znaczenie udowodniono w licznych pracach [19, 20, 21]. Kluczowym czynnikiem wpływającym na przebieg choroby nowotworowej jest nasilenie neoangiogenezy. Zwiększenie jej nasilenia powodowane przez liczne czynniki stymulujące nowotworzenie naczyń powoduje wzrost ilości dostarczanych czynników odżywczych i tlenu, co skutkuje rozwojem nowotworu.

Istnieją doniesienia sugerujące możliwość wpływania na przebieg neoangiogenezy w celu zahamowania rozwoju guza, które to działania można by było zastosować terapeutycznie [22]. Badania te pokazują, iż szersze i bardziej szczegółowe poznanie procesu tworzenia nowych naczyń może stać się źródłem bardzo wartościowych informacji decydujących o przebiegu choroby i zastosowanym leczeniu. Zagadnienie różnic w przebiegu procesu neoangiogenezy u kobiet o różnym statusie menopauzalnym było przedmiotem naszych badań.

Najczęściej badany marker angiogenezy w chwili obecnej jest gęstość mikronaczyń (MVD) [13, 14]. W przeprowadzonych badaniach do tej oceny wykorzystano przeciwciała anti-CD34 i anti-CD105. Ekspresja antygenu CD34 jest widoczna we wszystkich komórkach śródbłonna, zarówno proliferujących, jak i tych w fazie G0. Natomiast ekspresja antygenu CD105 zachodzi wyłącznie w proliferujących komórkach śródbłonna naczyń.

Wyniki naszych porównań nie wykazały istotnych różnic w gęstości mikronaczyń, mierzonych zarówno nasileniem ekspresji antygenu CD34 jak i antygenu CD105, pomiędzy grupami kobiet o różnym statusie menopauzalnym. Nie zaobserwowano zależności statystycznej pomiędzy porównywanymi grupami. Istnieją sprzeczne doniesienia odnośnie gęstości mikronaczyń u kobiet w różnym wieku i statusie menopauzalnym. Rossochacka-Rostalska i wsp. zauważyli istotnie statystycznie większą ekspresję antygenu CD105 u pacjentek, u których menopauza wystąpiła przed 46 rokiem życia [23]. Z kolei w pracy Barresi i wsp. (2007) autorzy nie wykazali korelacji między gęstością mikronaczyń mierzoną ekspresją antygenów CD34, CD105 a wiekiem pacjentów z oponiakiem [24]. Natomiast Chan i wsp., analizujący grupę chorych z zaawansowanym rakiem jajnika, stwierdzili niższe wartości  $MVD_{CD34}$  u kobiet powyżej 45 roku życia [25]. Trudno jest jednak dokonywać bezpośrednich porównań wyników we wszystkich badanych grupach, gdyż mediana wieku pacjentek w mojej grupie badanej różni się znacznie od wieku pacjentek, które brały udział w wyżej cytowanych badaniach. Warto jednak zaznaczyć, że jest to grupa bardziej reprezentatywna dla średniego wieku menopauzy kobiet w Polsce, który wynosi 51,25 roku [26].

Gen p53 znany jest ze swojej kluczowej funkcji w hamowaniu angiogenezy i pobudzaniu apoptozy komórek zawierających uszkodzony materiał genetyczny. Mutacja genu hamuje

apoptozę i indukuje proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych. Białko p53 powstałe na skutek mutacji tego genu, zmienia swoje właściwości biologiczne, akumuluje się w jądrach komórek nowotworowych, co jest podstawą jego immunohistochemicznej identyfikacji. W przeprowadzonych badaniach ekspresję białka p53 stwierdzono w 41 przypadkach. Nie zauważono statystycznej zależności w występowaniu jego ekspresji w badanych grupach pacjentek. Talley i wsp. (2008) porównując jądrową ekspresję białka p53 u 200 pacjentek z rakiem gruczołu piersiowego w wieku przed i pomenopauzalnym, stwierdzili że status menopauzalny kobiet nie ma wpływu na poziom jego ekspresji [27].

Ciekawe wyniki przedstawili Zavagno i wsp. (2000). Badaną populację 1226 kobiet operowanych z powodu raka gruczołu piersiowego podzielili na 4 grupy: pacjentki poniżej 40 lat, pacjentki przedmenopauzalne w wieku powyżej 40 lat, pomenopauzalne w wieku poniżej 75 lat i pacjentki powyżej 75 roku życia. Wykazano, że o ile ekspresja białka p53 różni się w poszczególnych grupach wiekowych i u pacjentek młodszych występuje częściej, o tyle nie ma związku ze statusem menopauzalnym badanych kobiet [28]. W piśmiennictwie znaleźć można również doniesienia, w których autorzy wykazują dodatnią korelację między ekspresją białka p53 a statusem menopauzalnym pacjentek z chorobą nowotworową. Koshiyama i wsp. (1993) donoszą, że u pacjentek z rakiem *endometrium* ekspresja białka p53 występuje częściej u kobiet w wieku pomenopauzalnym [29]. Należy jednak zwrócić uwagę na niewielką liczbę pacjentek włączonych do badania. W przypadku raka *endometrium*, którego zdecydowany szczyt zachorowań występuje w wieku pomenopauzalnym, trudno jest dobrać reprezentatywną grupę kobiet, które nie przeżyły jeszcze menopauzy.

Na podstawie danych z piśmiennictwa i moich wyników można wysnuć wniosek, że proces nowotworzenia naczyń związany z mutacją genu p53 występuje w podobnym nasileniu u chorych w okresie przed-, około- i pomenopauzalnym.

Kolejnym badany czynnikiem modelującym proces angiogenezy jest receptor naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR). Ekspresję tego modulatora oceniano w skali dychotomicznej, dzieląc przypadki nowotworów na te, które wykazują niską (0/1+) lub wysoką (2+/3+) jego ekspresję. Z kolei obecność aktywnej formy EGFR w tkankach i płynach ustrojowych jest dowodem obecności aktywowanego receptora naskórkowego czynnika wzrostu. Wzmoczoną ekspresję stwierdzono w 44% przypadków raka jajnika, co stanowi odsetek porównywalny z odsetkiem dodatnich wyników uzyskanych przez innych autorów badających ten modulator angiogenezy [30, 31, 32], natomiast obecność aktywnej formy EGFR stwierdzono we wszystkich próbkach surowicy krwi chorych. W przeprowadzonych badaniach wykazano brak statystycznie istotnych różnic w występowaniu ekspresji receptora naskórkowego czynnika wzrostu w grupach kobiet o różnym statusie menopauzalnym. Podobnie, porównanie stężenia aktywnej formy EGFR nie wykazało różnic statystycznych w zależności od statusu menopauzalnego kobiet z rakiem jajnika. Wyniki moich badań również i w tym przypadku pozostają zgodne z wynikami innych autorów oceniających ekspresję tego receptora. Pomimo, że dostępne piśmiennictwo w tym temacie jest bardzo nieliczne, to istniejące doniesienia

wykazują brak powiązania ekspresji EGFR z wiekiem pacjentek [33, 34], chociaż w żadnej z nich nie kwalifikowano kobiet względem ich statusu menopauzalnego. Hachisuga i wsp. (1999) oceniali ekspresję EGFR w tkance *endometrium* 34 pacjentek chorych na raka gruczołu piersiowego leczonych tamoksifenem i stwierdzili jej nasilenie jedynie u kobiet w wieku pomenopauzalnym [35]. Przeciwnie, Talley i wsp. (2008) nie stwierdzili różnicy występowania cytoplazmatycznej ekspresji EGFR u pacjentek z rakiem gruczołu piersiowego względem statusu menopauzalnego [27]. Obserwacje te prowadzone były na 200 pacjentkach z rozpoznanym naciekałym rakiem przewodowym. Baron i wsp. (2003) badali obecność rozpuszczalnej formy EGFR jako potencjalnego markera raka jajnika [36]. Według autorów, ocena stężenia EGFR w surowicy krwi przynosi najwięcej korzyści u młodych pacjentek w wieku przedmenopauzalnym. Zwiększone stężenia markera, przekraczające próg czułości pacjentek z grupy kontrolnej, obserwuje się w grupie kobiet w przedziale 20-40 lat, a ogółem dla pacjentek w wieku przedmenopauzalnym czułość oznaczenia wynosi 72,7%. Dla porównania, czułość markera dla pacjentek po menopauzie wynosi jedynie 49,7%.

Na podstawie niniejszych badań trudno jest jednoznacznie stwierdzić, czy nasilenie angiogenezy w raku jajnika zależy od statusu menopauzalnego kobiety. Bardzo niewielka liczba pozycji piśmiennictwa nie pozwala skonfrontować uzyskanych wyników z wynikami innych autorów. Trudności niesie za sobą również przyjęcie kryterium podziału pacjentek na przed, około i pomenopauzalne. Większość autorów dokonuje porównań pacjentek pod względem ich wieku, niezależnie od ich statusu menopauzalnego, co stanowi jasne i czytelne kryterium podziału.

## Wnioski

Proces angiogenezy zachodzącej w raku jajnika, określanej poprzez ekspresję jej markerów oraz aktywność modulatorów, wydaje się być niezależny od statusu menopauzalnego pacjentek.

## Piśmiennictwo

- Vasey P. Ovarian cancer: front-line standard treatment in 2008. *Ann Oncol.* 2008, 19, Suppl 7, 61-66.
- Cramer D, Hutchison G, Welch W, [et al.]. Determinants of ovarian cancer risk. I. Reproductive experiences and family history. *J Natl Cancer Inst.* 1983, 71, 711-716.
- Fathalla M. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet.* 1971, 17, 163.
- Preston-Martin S, Pike M, Ross R, [et al.]. Increased cell division as a cause of human cancer. *Cancer Res.* 1990, 50, 7415-7421.
- Prat J, Ribe A, Gallardo A. Hereditary ovarian cancer. *Hum Pathol.* 2005, 36, 861-870.
- Junor E, Hole D, Gillis C. Management of ovarian cancer: referral to a multidisciplinary team matters. *Br J Cancer.* 1994, 70, 363-370.
- Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med.* 1971, 285, 1182-1186.
- Fidell I, Ellis L. Neoplastic angiogenesis- not all blood vessels are created equal. *N Engl J Med.* 2004, 351, 215-216.
- Giatromanolaki A, Sivridis E, Koukourakis M. Tumor angiogenesis: vascular growth and survival. *APMIS.* 2004, 112, 431-440.
- Bednarek W. Markers and modulators of angiogenesis in ovarian cancer. *Ginekol Pol.* 2007, 78, 754-763.
- Maly Z, Riss P, Deutinger J. Localisation of blood vessels and qualitative assessment of blood flow in ovarian tumors. *Obstet Gynecol.* 1995, 85, 33-36.
- Hashizume H, Baluk P, Morikawa S. Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness. *Am J Pathol.* 2000, 156, 1363-1380.
- Weidner M, Carroll P, Flax J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol.* 1993, 43, 401-409.
- Szymański W, Fórmaniak J, Szymański M, [et al.]. Microvessel density index as a prognostic factor in a low histological differentiation stage of endometrial carcinoma. *Ginekol Pol.* 2002, 73, 951-955.
- Blok R, Blok K, Jeleń M [et al.]. Analysis of prognostic factors for the extent of vascularity of serous ovarian cancer on the basis of CD34 antigen expression. *Ginekol Pol.* 2004, 75, 91-98.
- Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. Signaling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer.* 2001, 37, Suppl 4, S3-S8.
- Ellis L. Epidermal growth factor receptor in tumor angiogenesis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2004, 18, 1007-1021.
- Stellmach V, Volpert O, Crawford S, [et al.]. Tumour suppressor genes and angiogenesis: the role of TP53 in fibroblasts. *Eur J Cancer.* 1996, 32A, 2394-2400.
- Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Onkology.* 2005, 69, Suppl 3, 4-10.
- Cianchi F, Palomba A, Messerini L, [et al.]. Tumor angiogenesis in lymph node-negative rectal cancer: correlation with clinicopathological parameters and prognosis. *Ann Surg Oncol.* 2002, 9, 20-26.
- Dales J, Garcia S, Andrac L, [et al.]. Prognostic significance of angiogenesis evaluated by CD105 expression compared to CD31 in 905 breast carcinomas: correlation with long-term patient outcome. *Int J Oncol.* 2004, 24, 1197-1204.
- Ramakrishnan S, Subramanian I, Yokoyama Y, [et al.]. Angiogenesis in normal and neoplastic ovaries. *Angiogenesis.* 2005, 8, 169-182.
- Rossochacka-Rostalska B, Gisterek I, Suder E, [et al.]. Prognostic significance of microvessel density in ovarian cancer. *Wiad Lek.* 2007, 60, 129-137.
- Barresi V, Cerasoli S, Vitarelli E, [et al.]. Density of microvessels positive for CD105 (endoglin) is related to prognosis in meningiomas. *Acta Neuropathol.* 2007, 114, 147-156.
- Chan J, Loizzi V, Magistris A, [et al.]. Differences in prognostic molecular markers between women over and under 45 year of age with advanced ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2004, 10, 8538-8543.
- Kaczmarek M. Określenie wieku menopauzy naturalnej w populacji polskich kobiet. *Przeгляд Menopauzalny.* 2007, 2, 77-82.
- Talley L, Chhieng D, Bell W, [et al.]. Immunohistochemical detection of EGFR, p185(erbB-2), Bcl-2 and p53 in breast carcinomas in pre-menopausal and post-menopausal women. *Biotech Histochem.* 2008, 83, 5-14.
- Zavagno G, Meggiolaro F, Pluchinotta A, [et al.]. Influence of age and menopausal status on pathologic and biologic features of breast cancer. *Breast.* 2000, 9, 320-328.
- Koshiyama M, Konishi I, Wang D, [et al.]. Immunohistochemical analysis of p53 protein over-expression in endometrial carcinomas: inverse correlation with sex steroid receptor status. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1993, 423, 265-271.
- Nielsen J, Jakobsen E, Holund B, [et al.]. Prognostic significance of p53, Her-2, and EGFR overexpression in borderline and epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2004, 14, 1086-1096.
- Elie C, Geay J, Morcos M, [et al.]. Lack of relationship between EGFR-1 immunohistochemical expression and prognosis in a multicentre clinical trial of 93 patients with advanced primary ovarian epithelial cancer (GYNECO group). *Br J Cancer.* 2004, 91, 470-475.
- Katso R, Manek S, O'Byrne K, [et al.]. Molecular approaches to diagnosis and management of ovarian cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 1997, 16, 81-107.
- Skimisidottir I, Seidal T, Sorbe B. A new prognostic model comparing p53, EGFR, and tumor grade in early stage epithelial ovarian carcinoma and avoidign the problem of inaccurate surgical staging. *Int J Gynecol Cancer.* 2004, 14, 259-270.
- Goff B, Ries J, Els L, [et al.]. Immunophenotype of ovarian cancer as predictor of clinical outcome: evaluation at primary surgery and second-look procedure. *Gynecol Oncol.* 1998, 70, 378-385.
- Hachisuga T, Hideshima T, Kawarabayashi T, [et al.]. Expression of steroid receptors, Ki-67, and epidermal growth factor receptor in tamoxifen-treated endometrium. *Int J Gynecol Pathol.* 1999, 18, 297-303.
- Baron A, Cora E, Lafky J, [et al.]. Soluble epidermal growth factor receptor (sEGFR/SerbB1) as a potential risk, screening, and diagnostic serum biomarker of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003, 12, 103-113