ANALÝZA ANGIOGENEZE V KOSTNÍ DŘENI U PLAZMOCYTÁRNÍHO MYELOMU

Tichý M.[1], Tichá V.[1], Ščudla V.[2], Šváchová M.[1], Zapletalová J.[3]

[1]Ústav patologie LF UP a FNOl
[2]III. interní klinika LF UP a FNOl
[3]Ústav lékařské biofyziky LF UP, Olomouc

Souhrn

Autoři sledovali angiogenezi v trepanobioptických vzorcích z lopaty kosti kyčelní celkem u 51 pacientů s dosud neléčeným plazmocytárním myelomem (MM). Mikrovazální hustota s přepočtem na 1 mm^2 byla znázorněna monoklonálními protilátkami proti CD34 a nestinu. Bylo zjištěno, že proliferující cévy značené protilátkou proti nestinu se téměř nevyskytují u intersticiálního typu infiltrace. Množství proliferujících cév v nodulárních infiltrátech je výrazně menší ve srovnání s kapilární sítí značenou protilátkou proti CD34. Hustota proliferujících cév v nodulárních infiltrátech významně koreluje s proliferačním indexem Ki67 myelomových buněk, nikoliv však se stupněm diferenciace MM.

Klíčová slova: plazmocytární myelom – angiogeneze – kostní dřeň – CD34 – nestin

Summary

Analysis of Bone Marrow Angiogenesis in Multiple Myeloma

The authors studied angiogenesis in trephine biopsy samples taken from the hip bone from a total of 51 patients with an as yet untreated plasma cell myeloma / multiple myeloma (MM). Microvessel density calculated to 1 mm^2 was represented by monoclonal antibodies against CD34 and nestin. It was discovered that proliferating vessels labeled with anti-nestin antibody nearly never occur in the interstitial type of infiltration. The amount of proliferating vessels in nodular infiltrates is significantly lower compared to the capillary network labeled with antibodies against CD34. The density of proliferating vessels in nodular infiltrates significantly correlates with the proliferation index Ki67 of myeloma cells, not, however, with the degree of MM differentiation.

Key words: plasma cell myeloma – angiogenesis – bone marrow – CD34 – nestin

Čes.-slov. Patol., 46, 2010, No. 1, p. 15–19

Angiogeneze, tedy novotvorba cév, se fyziologicky vyskytuje při embryogenezi. V dospělosti pak za různých patologických stavů, zejména při reparaci. Angiogeneze má velký význam při nádorových onemocněních. Je prokázáno, že nádor od určité velikosti (asi 1 mm^3) nemůže bez aktivace angiogeneze dále proliferovat. Aktivace angiogeneze s následnou progresí tumoru závisí na schopnosti stimulovat hlavně prostřednictvím angiogenních faktorů cévy v okolní tkáni k proliferaci. Dnes je známo více než 20 endogenních promotorů a poněkud menší počet inhibitorů angiogeneze. Jsou produkovány nádorovými, stromálními a zánětlivými buňkami (2, 7, 8, 21). Mezi prvními hematologickými malignitami, kde byla angiogeneze ve vztahu k progresi onemocnění sledována, byl plazmocytární myelom/mnohotný myelom (MM) (6, 12–14, 17–20, 22). Bylo prokázáno, že i u MM dochází k význačné novotvorbě krevních cév v kostní dřeni ve srovnání s normálními poměry a byl shledán určitý vztah k aktivitě a prognóze nemoci. Mezi prvními byl u MM prokázán terapeutický efekt antiangiogenní léčby thalidomidem. Zdá se, že podobně jako v případech solidních tumorů, jsou jedním ze zdrojů uvolňovaných angiogenních cytokinů nádorové buňky, tedy proliferující neoplasticky transformované plazmocyty. Jedním z běžně používaných markerů označujících endotelie krevních cév je antigen CD34. Neodliší však proliferující cévy od stávající vaskulární sítě. Je prokázáno, že výhradně proliferující endotelie exprimují nestin (10, 11). Nestin je protein intermediárních filament objevený v roce 1985 (4). Je považován za marker neuronálních kmenových a progenitorových buněk, buněk svalové diferenciační řady a v současnosti je zkoumána jeho exprese i u jiných buněčných typů včetně buněk nádorových (3, 5).

Ve své práci jsme v infiltrátech plazmocytárního myelomu v kostní dřeni sledovali hustotu proliferujících cév značených protilátkou proti nestinu ve vztahu k typu nádorové infiltrace, stupni její diferenciace a proliferační aktivity a celkové mikrovazální hustotě značené protilátkou proti CD34. Domníváme se, že stanovení hustoty proliferující vaskulární sítě se může stát jedním z důležitých faktorů cílené léčby.

MATERIÁL A METODIKA

Vyšetřili jsme soubor 51 pacientů s nově diagnostikovaným MM. Použili jsme materiál z našeho registru získaný v rozmezí 12 let (1998–2009). Šlo o trepanobioptické vzorky z lopaty kosti kyčelní. Část vzorků z dřívějších let byla fixována 10% formalinem, dekalcifikována 10% chelatonem a zalita do parafinu. Část vzorků z posledních let byla fixována a dekalcifikována v Löwyho roztoku. Řezy tloušťky 2–3 μm byly barveny HE a standardní sadou speciálních barvení (Giemsa, PAS, Fe, Gomory, naftol-ASD-chloracetátesteráza). V imunohistochemickém vyšetření jsme použili monoklonální protilátky CD 138 (DakoCytomation, klon MI-15), lehké řetězce Ig kappa (IMMUNOTECH, klon KP-33) a lambda (IMMUNOTECH, klon HP-6054) ke stanovení typu, kvantity