

## ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНИХ МАРКЕРІВ У ПУХЛИНІ ХВОРИХ НА РАК ЕНДОМЕТРІЮ I–IV СТАДІЙ ІЗ МЕТОЮ ПРОГНОЗУВАННЯ РЕЦИДИВУ ЗАХВОРЮВАННЯ

Проф. О. А. МІХАНОВСЬКИЙ<sup>1</sup>, канд. мед. наук Ю. В. ХАРЧЕНКО<sup>1</sup>,  
М. А. ТЕПЛОВА<sup>1</sup>, канд. мед. наук І. М. КРУГОВА<sup>1</sup>, Ю. А. МОІСЕЄНКО<sup>1</sup>,  
Н. М. ЩИТ<sup>1</sup>, проф. О. В. ПІОНІТКОВСЬКА<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України», Харків,

<sup>2</sup> Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

**Досліджено експресію молекулярно-біологічних маркерів (VEGF, Bcl-2, Ki67, p53) у пухлинах пацієнток із раком ендометрію I–IV стадій із метою визначення їх прогностичного значення у розвитку рецидиву захворювання.**

*Ключові слова:* рак ендометрію, молекулярно-біологічні маркери, рецидив, експресія.

В Україні протягом останніх двох десятиріч відзначається зростання захворюваності на рак ендометрію (РЕ), який, за даними Бюлетня Національного канцер-реєстру, нині становить 28 випадків на 100 000 жіночого населення (у 2007 р. – 26,4), а показник смертності – 6,6 на 100 000 жінок [1, 2].

РЕ є пухлиною зі складним механізмом злоякісної трансформації, у виникненні якого важливу роль відіграють ендокринно-обмінні порушення, зумовлені ураженням нейрогуморальних систем, відповідальних за кореляцію між різними органами репродуктивної і ендокринної систем. У межах однієї клінічної стадії захворювання результати лікування можуть варіювати у широких межах залежно від чинників ризику [3].

Факторами несприятливого прогнозу, які статистично вірогідно впливають на віддалені результати лікування хворих, вважають стадію, вік, глибину інвазії у міометрій, ступінь диференційовання та розмір пухлини [4]. У зв'язку із цим показники виживання при РЕ варіюють, і загальна п'ятирічна виживаність пацієнток, які лікувалися комбінованим методом, становить від 73,0 до 96,0%.

Одним із найактуальніших і перспективних напрямків в усьому світі, який дає змогу глибше зрозуміти етіологію і патогенез злоякісного росту, вивчити процеси, що відбуваються в організмі хворого, є дослідження молекулярно-біологічних маркерів (МБМ), що характеризують апоптоз, проліферацію клітини і ангиогенез [5]. Найчастіше для вивчення пухлини досліджують

Таблиця 1

## Розподіл хворих на рак ендометрію залежно від гістологічної форми пухлини

Гістологічна форма пухлини	Хворі	
	абс. ч.	%
Високодиференційована аденокарцинома	7	11,3
Помірnodиференційована аденокарцинома	41	66,1
Низькодиференційована аденокарцинома	12	19,4
Рідкі форми	2	3,2

білок Ki67 – ядерний протеїн, маркер її проліферативної активності. Експресія mt p53 відіграє важливу роль у розвитку агресивності раку та може бути прогностичним чинником. Разом із mt p53 найбільш послідовно вивчається в апоптозі роль гена Bcl-2. У свою чергу, білок p53 знижує активність Bcl-2, що, можливо, запускає апоптоз у клітинах із пошкодженою ДНК. Вважається, що гіперекспресія Bcl-2 призводить до неопластичного процесу. У той же час показано, що низький рівень цього білка корелює з поганим прогнозом при раку молочної залози і лейоміосаркомах матки, а його гіперекспресія є сприятливою прогностичною ознакою при раку яєчників. Фактор росту ендотелію судин (VEGF) – головний чинник, який індукуює утворення нових судин у пухлині, його експресія поєднується з посиленням метастатичної активності, зменшенням безрецидивного періоду [6].

Мета цієї роботи – вивчити МБМ пухлини у хворих на РЕ та встановити їх прогностичне значення.

Нами вивчено МБМ пухлини у 62 хворих на РЕ I–IV стадій, яким проводилося комбіноване лікування у відділенні онкологічної гінекології ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України». Вік пацієнток варіював від 31 до 77 років, 46 (74,0%) з них були віком від 51 до 70 років.

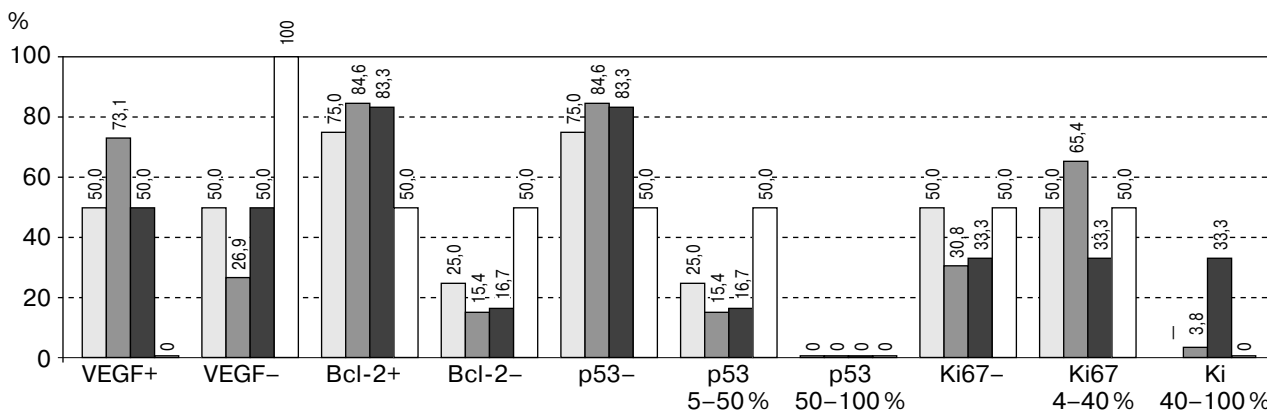


Рис. 1. Експресії молекулярно-біологічних маркерів у хворих на рак ендометрію залежно від гістологічної форми пухлини: □ – аденокарцинома G-1; ■ – аденокарцинома G-2; ■ – аденокарцинома G-3; □ – рідкі форми

Таблиця 2

## Розподіл хворих на рак ендометрію з рецидивом та без нього залежно від стадії захворювання

Стадія	Хворі			
	з рецидивом, n = 12		без рецидиву, n = 50	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%
I (T <sub>1a</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> )	2	16,7	12	24,0
I (T <sub>1b</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> )	5	41,7	14	28,0
II (T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> )	—	—	9	18,0
III (T <sub>1-3</sub> N <sub>0-1</sub> M <sub>0</sub> )	1	8,3	12	24,0
IV (T <sub>1-3</sub> N <sup>0-1</sup> M <sub>1</sub> )	4	33,3	3	6,0

Критерії прогнозу біологічної агресивності новоутворень визначалися за допомогою маркера проліферативної активності Ki67 (Mib-1), маркерів апоптозу Bcl-2 (124) та mt p53 з використанням первинних моноклональних антитіл (МКАТ), Rady-to-Use. Оцінку неоангіогенезу пухлинної стромы проводили при використанні VEGF.

У більшості хворих (53,3%) діагностовано I (T<sub>1a-b</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) стадію РЕ, у 20,9% – III (T<sub>1-3</sub>N<sub>0-1</sub>M<sub>0</sub>). Помірnodиференційована аденокарцинома ендометрію траплялася у 41 (66,1%) пацієнтки (табл. 1).

Нами проведено аналіз рівня МБМ у хворих на РЕ із рецидивом захворювання та без нього. З них із I (T<sub>1a-b</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) стадією РЕ було 7 (58,4%) пацієнток, з III (T<sub>1-3</sub>N<sub>0-1</sub>M<sub>0</sub>) – одна, з IV (T<sub>1-3</sub>N<sub>0-1</sub>M<sub>1</sub>) – 4 (33,3%). Рецидив захворювання спостерігався у 12 (19,4%) випадках.

Без рецидиву захворювання було 50 (80,6%) хворих на РЕ, більшість з яких мала I та III стадії (табл. 2).

Дослідження рівня експресії МБМ у хворих на РЕ I–IV стадій залежно від гістологічної форми пухлини відображено на рис. 1. У пацієнток із високо- і низькодиференційованою аденокарциномою ендометрію значення як позитивного, так і негативного VEGF спостерігалось у 50% на фоні високої експресії Bcl-2 (75,0 та 83,3% відповідно),

Рівні експресії естрогену та прогестерону у хворих на рак ендометрію I–IV стадій залежно від гістологічної форми пухлини

Рецепторний статус	Гістологічна форма							
	високодиференційована аденокарцинома, n = 7		помірнодиференційована аденокарцинома, n = 41		низькодиференційована аденокарцинома, n = 12		рідкі форми, n = 2	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
ER-PR-	1	14,3	8	19,5	5	41,7	1	50,0
ER+PR+	4	57,1	20	48,8	5	41,7	1	50,0
ER-PR+	1	14,3	3	7,3	1	8,3	—	—
ER+PR-	1	14,3	10	24,3	1	8,3	—	—

за відсутності mt p53 (75,0 та 83,3% відповідно). Хворі з високодиференційованою аденокарциномою не мали проліферативної активності або наявності помірної реакції у рівній кількості спостережень (50%). Маркер проліферативної активності у хворих із низькодиференційованою аденокарциномою був як негативним, так і мав або помірну, або високу експресію — 33,3%. У хворих із помірнодиференційованою аденокарциномою VEGF та маркер апоптозу Bcl-2 мали позитивну експресію (73,1 та 84,6% відповідно), за відсутності mt p53 (84,6%) та помірної експресії Ki67 (65,4%).

Дані щодо розподілу МБМ у хворих на РЕ з рецидивом та без нього показано на рис. 2. Дослідження свідчить, що хворі на РЕ незалежно від наявності рецидиву захворювання мали позитивний VEGF (60,0 та 63,3% відповідно) на фоні високої експресії Bcl-2 (60,0 та 81,8%), негативної експресії mt p53 у 100% випадків із рецидивом захворювання та 87,9% — без рецидиву, а також помірної проліферативної активності (Ki67) (80,0 та 54,5% відповідно).

Показники рівня експресії естрогену та прогестерону у хворих на РЕ залежно від гістологічної форми пухлини наведено у табл. 3.

Дослідження рівнів експресії естрогену та прогестерону у пацієток із РЕ залежно від гістологічної форми пухлини показало, що у більшості з них і з високо диференційованою, і з помірнодиференційованою аденокарциномою відзначається позитивний статус ER та PR (57,1 та 48,8% відповідно) і, навпаки, у хворих із низькодиференційованою аденокарциномою ендометрію частіше був негативний статус ER та PR (41,0%). Форми РЕ, що рідко трапляються, мали як позитивний, так і негативний статус ER та PR — по 50%.

Рівні експресії естрогену та прогестерону у пацієток із РЕ з рецидивом захворювання та без нього наведено у табл. 4.

Аналіз рівнів експресії ER та PR у пацієток із РЕ засвідчив, що у більшості з них із захворюванням без рецидиву (52,0%) статус ER та PR позитивний. Хворі з рецидивом захворювання у більшості випадків мали або негативний статус ER та PR (25,0%), або позитивний — 33,3% спостережень. Але

кількість жінок із статусом ER-PR+ та рецидивом захворювання була майже втричі більшою, ніж серед хворих без рецидиву (16,7 та 6,0% відповідно).

Таким чином, на підставі аналізу літератури та результатів проведеного дослідження можна констатувати: якщо у здоровій тканині існує баланс між процесами проліферації й загибелі клітини, то у тканині пухлини спостерігається автономна і необмежена проліферація клітин. У трансформованих клітинах у результаті генетичних мутацій знижується здатність активувати програму апоптозу, що, з одного боку, сприяє прогресу пухлинного процесу, а з іншого — може стати причиною множинної лікарської стійкості.

Найчастіше для вивчення проліферативної активності пухлини досліджують білок Ki67 — ядерний протеїн, що визначається в усіх фазах клітинного циклу, окрім G0. Є повідомлення, що частота рецидивів у групі з індексом проліферації > 50% була достовірно вищою. Але в результаті проведених нами досліджень, навпаки, було встановлено, що у більшості хворих на РЕ з рецидивом захворювання відзначалася помірною експресією Ki67 — 80,0%.

У хворих із високо- та помірнодиференційованою аденокарциномою ендометрію спостерігалися або відсутність, або у більшості випадків помірною проліферативна активність (Ki67) — 50,0 та 65,4% відповідно. У пацієток із низькодиференційова-

Таблиця 4

Рівні експресії естрогену та прогестерону у хворих на рак ендометрію з рецидивом захворювання і без нього

Рецепторний статус	Пацієнтки			
	з рецидивом, n = 12		без рецидиву, n = 50	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%
ER-PR-	3	25,0	12	24,0
ER+PR+	4	33,3	26	52,0
ER-PR+	2	16,7	3	6,0
ER+PR-	3	25,0	9	18,0

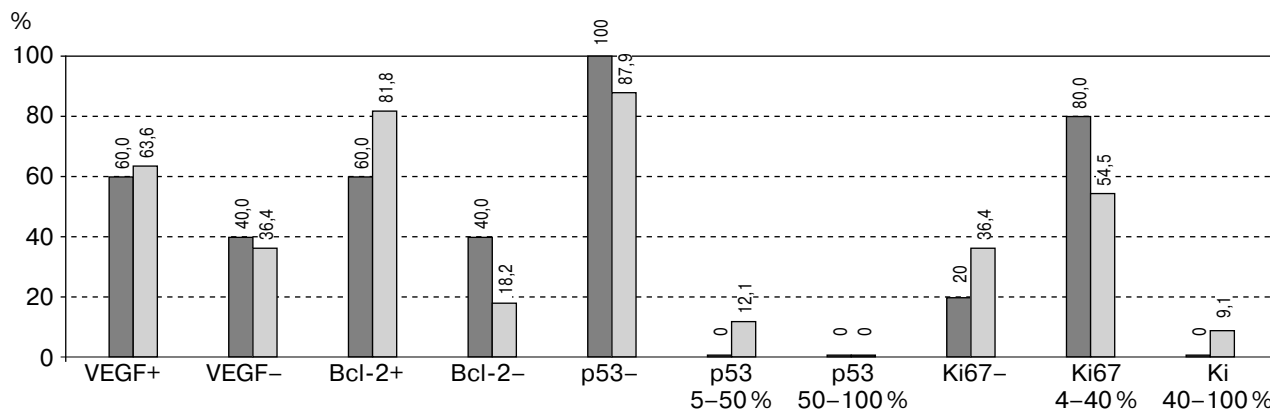


Рис. 2. Молекулярно-біологічні маркери у хворих на рак ендометрію з рецидивом та без нього: ■ — з рецидивом; □ — без рецидиву

ною аденокарциномою ендометрію або відсутня, або є помірна експресія у рівній кількості спостережень — 33,3% та з'являється висока проліферативна активність (Ki67) — 33,3%.

Ген p53 — поліфункціональний білок, основна функція якого реалізується в ядрі. Він постійно транскрибується і транслюється, проте швидко деградує у протеосомах і в клітинах більшості тканин знаходиться на порозі детекції. Мутантний тип mt p53 — довгоживучий протеїн, його період напіврозпаду становить до 24 год. Вважається, що імуногістохімічна позитивна реакція гена p53 повністю залежить від наявності мутантного типу mt 53. Мутантна форма білка p53 вже не виконує своїх функцій, і ділення клітин стає некерованим процесом. Вважають, що мутації гена p53 можуть як ініціювати канцерогенез або визначати його початкові етапи, так і виникати у процесі зростання пухлини, забезпечуючи її нові агресивні властивості [7]. Мутантний p53 визначається при багатьох злоякісних утвореннях, а саме — пухлинах легень (70,0%), молочної залози (20,0%), шлунка (60,0%). У злоякісних епітеліальних пухлинах яєчника експресія p53 може досягати 80,0%. За даними С. В. Неспрядько та співавт. [8] підвищена експресія мутантного mt p53 у пухлинних клітинах аденокарциноми асоціюється з високою агресивністю перебігу захворювання.

За результатами проведеного нами дослідження було встановлено, що при рецидиві РЕ негативна експресія mt p53 траплялася у 100% хворих. У пацієток із високо-, помірно- та низькодиференційованою аденокарциномою ендометрію у більшості випадків спостерігалася негативна експресія mt p53 (75,0; 84,6 та 83,3% відповідно), його висока експресія не траплялася.

Разом із mt p53 найбільш послідовно вивчається в апоптозі роль гена Bcl-2. У свою чергу білок mt p53 знижує активність Bcl-2, що, можливо, запускає апоптоз у клітинах із пошкодженою ДНК. Дані відносно рівня експресії білка Bcl-2 і можливостей використання його як прогностичного чинника у хворих на РЕ досить суперечливі [9], за результатами проведеного нами дослідження

було встановлено, що у хворих на поширений РЕ та з рецидивом захворювання відзначається висока експресія Bcl-2 (60,0%). У хворих із високо-, помірно- та низькодиференційованою аденокарциномою ендометрію встановлено високу експресію Bcl-2 (75,0; 84,6 та 83,3% відповідно).

Експресія VEGF у злоякісних пухлинах поєднується з посиленням її метастатичної активності та вкороченням безрецидивної виживаності. У ході дослідження рівня експресії МБМ у хворих на РЕ з рецидивом захворювання встановлено тенденцію до зростання позитивного значення VEGF (60%) і зниження його негативного значення (40,0%). У хворих із високо- і низькодиференційованою аденокарциномою значення як позитивного, так негативного VEGF спостерігалася в рівних відсотках (50,0 та 50,0% відповідно). Але отримані на цьому етапі результати виявилися неоднозначними і не дають змогу виділити жоден із маркерів як прогностичний.

За даними зарубіжних авторів навіть серед хворих із високо- та помірнодиференційованою аденокарциномою у 5,6% випадків рецептори ER та PR негативні, у 21,1% — відсутні рецептори PR, у 53,3% — позитивні рецептори ER та PR, тоді як у 58,3% випадків із низькодиференційованими пухлинами відсутні рецептори ER та PR, а у 37,5% хворих — рецептори PR [10].

Вивчення рівня експресії ER та PR у хворих на поширений РЕ показало, що у більшості пацієток із рецидивом захворювання є або негативний статус ER та PR (25,0%), або позитивний (33,3%). У хворих без рецидиву захворювання позитивний статус ER та PR траплявся у 1,5 разу частіше, ніж у групі з рецидивом (52,0 та 33,3% відповідно). При цьому кількість хворих зі статусом ER-PR+ та рецидивом захворювання була майже втричі більша, ніж у групі без рецидиву (16,7 та 6,0% відповідно).

Проведене дослідження рівня експресії ER та PR у хворих на РЕ залежно від гістологічної форми пухлини встановило, що у більшості пацієток як із високо-, так і помірнодиференційованою аденокарциномою статус ER та PR позитивний (57,1 та 48,8% відповідно). Навпаки, у хворих із

низькодиференційованою аденокарциномою негативний статус ER та PR траплявся у тричі частіше, ніж у пацієнток з високодиференційованою і вдвічі частіше — з помірnodиференційованою аденокарциномою ендометрією (14,3; 19,5 та 41,0% відповідно). У хворих із формами PE, що рідко трапляються, був як позитивний, так і негативний статус ER та PR — по 50%.

## Список літератури

1. Рак в Україні, 2016–2017. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / уклад.: З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович [та ін.] // Бюл. нац. канцер-реєстру України.— К., 2018.— № 19.— 136 с.
2. Рак в Україні, 2007–2008. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / уклад.: З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Є. Л. Горюх [та ін.] // Бюл. нац. канцер-реєстру України.— К., 2009.— № 10.— 105 с.
3. Воробьева Л. И. Факторы прогноза и особенности рецидивирования начального рака эндометрия / Л. И. Воробьева, С. В. Неспрядько, М. П. Безнасенко // Онкология.— 2007.— Т. 9, № 3.— С. 198–200.
4. Чепец А. В. Сравнительная иммуногистохимическая характеристика экспрессии прогностических маркеров и неметастатической и метастатической инвазивной аденокарциномы тела матки / А. В. Чепец // Запорожский мед. журн.— 2016.— № 5.— С. 58–63.
5. Молекулярно-биологические аспекты рака эндометрия: современное состояние проблемы / Д. О. Уткин, Н. М. Попова, О. В. Выборнова [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium).— 2018.— Т. 6, № 1.— С. 144–156.— doi: <https://doi.org/10.23888/hmj20181144-156>
6. Зиновкин Д. А. Роль сосудистого компонента и экспрессии VEGF в исходах эндометриоидной аденокарциномы тела матки / Д. А. Зиновкин // Журн. Гродневского гос. мед. ун-та.— 2015.— № 3.— С. 60–63.
7. Prognostic implication of programmed cell death 1 protein and its ligand expressions in endometrial cancer / J. Kim, S. Kim, H. S. Lee [et al.] // Gynecol. Oncol.— 2018.— Vol. 149, № 2.— P. 381–387.— doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2018.02.013>
8. The Complementary Role of Imaging and Tumor Biomarkers in Gynecological Cancers: An Update of the Literature / E. Anastasi, S. Gigli, L. Balesio [et al.] // Asian Pac. J. Cancer Prev.— 2018.— Vol. 19, № 2.— P. 309–317.
9. Immunolocalization of corticotropin-releasing hormone (CRH) and its receptors (CRHR1 and CRHR2) in human endometrial carcinoma: CRHR1 as a potent prognostic factor / N. Sato, T. Shimamoto, S. Amada [et al.] // Int. J. Gynecol. Cancer.— 2014.— Vol. 24, № 9.— P. 1549–1557.— doi: <https://doi.org/10.1097/igc.0000000000000269>
10. Molecular profiling of circulating tumor cells links plasticity to the metastatic process in endometrial cancer / L. Alonso-Alconada, L. Muinelo-Romay, K. Madisoo [et al.] // Mol. Cancer.— 2014.— Vol. 13.— P. 223.— doi: <https://doi.org/10.1186/1476-4598-13-223>

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ОПУХОЛИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ I–IV СТАДИЙ С ЦЕЛЬЮ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЦИДИВА ЗАБОЛЕВАНИЯ

А. А. МИХАНОВСКИЙ, Ю. В. ХАРЧЕНКО, М. А. ТЕПЛОВА, И. Н. КРУГОВАЯ,  
Ю. А. МОЙСЕЕНКО, Н. Н. ЩИТ, О. В. ПИОНИТКОВСКАЯ

**Изучена экспрессия молекулярно-биологических маркеров (VEGF, Bcl-2, Ki67, p53) в опухолях пациенток с раком эндометрия I–IV стадий с целью определения их прогностического значения в развитии рецидива заболевания.**

*Ключевые слова:* рак эндометрия, молекулярно-биологические маркеры, рецидив, экспрессия.

### DETERMINATION OF EXPRESSION RATE OF MOLECULAR BIOLOGICAL MARKERS IN TUMOR OF PATIENTS WITH STAGE I–IV ENDOMETRIAL CANCER TO PREDICT THE DISEASE RELAPSE

O. A. MIKHANOVSKII, Yu. V. KHARCHENKO, M. A. TEPLOVA, I. M. KRUGOVA,  
Yu. A. MOISEYENKO, N. M. SHCHYT, O. V. PIONITKOVSKA

**The expression of molecular biological markers (VEGF, Bcl-2, Ki67, p53) in tumors of the patients with stage I–II cancers has been investigated to determine their prognostic value in the development of disease relapse.**

*Key words:* endometrial cancer, molecular biological markers, relapse, expression.

Надійшла 24.07.2019