

Ю.Г. Ткаля¹
Л.И. Воробьева¹
В.С. Свиницкий¹
С.В. Неспрядько¹
И.В. Гончарук¹
Н.Ю. Лукьянова²
В.Ф. Чехун²

¹Национальный институт
рака

²Институт
экспериментальной патологии,
онкологии и радиобиологии
им. Р.Е. Кавецкого
НАН Украины, Киев, Украина

Ключевые слова: серозный
рак яичника, HER-2/neu
статус, рецепторы эстрогенов,
рецепторы прогестерона,
рецепторы тестостерона.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ HER-2/neu У БОЛЬНЫХ СЕРОЗНЫМ РАКОМ ЯИЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАТУСА ГОРМОНАЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ОПУХОЛИ

Цель: исследовать экспрессию HER-2/neu в клетках серозного рака яичника (РЯ), сопоставить результаты со статусом гормональных рецепторов (СГР) опухоли и оценить их прогностическое значение. **Материалы и методы:** проведены ретроспективный анализ историй болезни 104 пациенток с серозным РЯ в III стадии; иммуногистохимическое исследование парафиновых блоков их операционного материала. Изучены экспрессия HER-2/neu и СГР серозного РЯ, их прогностическое значение. Проведен анализ корреляционной связи между экспрессией HER-2/neu в опухоли яичника и клинико-морфологическими показателями. Оценена общая и безрецидивная выживаемость больных РЯ в зависимости от HER-2/neu и СГР опухоли. **Результаты:** положительную экспрессию HER-2/neu (HER-2/neu(+)) в опухоли яичника отмечено у 61,5% больных, из них у 46,1% установлены высокая степень и гиперэкспрессия этого рецептора. Однофакторный анализ показал достоверно низкую общую ($p = 0,00015$) и безрецидивную ($p = 0,00010$) выживаемость больных с HER-2/neu(+) статусом РЯ. Установлена корреляционная связь между экспрессией HER-2/neu и риском возникновения рецидива заболевания ($r = 0,492$; $p = 0,0381$). Кокс-регрессионным анализом определено неблагоприятное прогностическое влияние HER-2/neu(+) статуса опухоли на общую (отношение рисков (ОР) 1,41; 95% доверительный интервал (ДИ) 1,06–1,98) и безрецидивную (ОР 1,75; 95% ДИ 1,12–2,44) выживаемость больных РЯ. Установлено неблагоприятное прогностическое значение экспрессии рецептора тестостерона (РТ) независимо от HER-2/neu статуса опухоли. Многофакторный анализ показал достоверно более низкую общую выживаемость больных РЯ с HER-2/neu(+) опухолью вне зависимости от СГР ($p = 0,00015$). **Выводы:** у большей части больных серозным РЯ выявлен HER-2/neu(+) статус опухоли. Установлено отсутствие корреляционной связи между экспрессией HER-2/neu и клинико-морфологическими показателями. У больных с HER-2/neu(+) опухолью достоверно более низкая выживаемость независимо от СГР РЯ. Экспрессия HER-2/neu, а также выраженная экспрессия РТ, не зависящая от HER-2/neu статуса серозного РЯ, являются предиктивными факторами неблагоприятного течения опухолевого процесса.

Рак яичника (РЯ) занимает одно из первых мест в структуре онкологических заболеваний органов репродуктивной системы у женщин и является основной причиной смерти больных онкогинекологического профиля [1, 2]. Значительная роль в патогенезе РЯ в настоящее время отводится гормональным факторам [3]. В частности, доказана взаимосвязь между особенностями метаболизма эстрогенов, а также неклассических фенолстероидов, образующихся путем конверсии андрогенов, и риском возникновения гормонозависимых опухолей в молочной железе, эндометрии, яичнике [4–6]. Однако эндокринные факторы представляют собой только

часть общего механизма молекулярно-генетических взаимодействий, которые лежат в основе сложного патогенеза этого заболевания [5]. РЯ характеризуется выраженной гетерогенностью молекулярно-биологических маркеров, в том числе рецепторов ростовых факторов, которые связаны с биологическими и клиническими особенностями опухолей [7]. Большая часть карцином яичника экспрессирует избыточное количество рецепторов семейства эпидермального фактора роста (EGFR — epidermal growth factor receptor), среди которых наиболее изучен EGFR-2 (HER-2/neu [8, 9]). Под действием стероидных гормонов в клетках-мишенях изменяется

скорость синтеза отдельных белков, в том числе EGFR, что ведет к модуляции сигнальных путей, изменению метаболических процессов в клетке и ее пролиферации [3]. Экспрессия HER-2/neu и статус гормональных рецепторов (СГР) опухоли являются важными прогностическими факторами и диагностическим стандартом при планировании лечения больных РМЖ. С амплификацией HER-2/neu связывают агрессивное течение и неблагоприятный прогноз заболевания, а также устойчивость опухоли к гормонотерапии [9, 10]. Доказана обратная корреляционная связь между СГР и гиперэкспрессией HER-2/neu, вариабельностью СГР и амплификацией HER-2/neu в клетках опухолей молочной железы, а также зависимость экспрессии этих маркеров от возраста больных [11–16].

В некоторых работах, посвященных РЯ, показано, что амплификация HER-2/neu указывает на неблагоприятный прогноз течения заболевания [17, 18]. Однако существуют и противоположные данные, поэтому практическая значимость HER-2/neu-тестирования остается на сегодня дискуссионной [19–23]. Результаты многих исследований свидетельствуют, что положительный СГР у больных серозным РЯ, в частности выраженная экспрессия РЭ, является фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса [5, 24, 25]. Поскольку до настоящего времени не получено полного представления о значении экспрессии HER-2/neu и его связи с СГР в опухолевых клетках (ОК) яичника, уточнение таких связей будет иметь значение как для прогноза, так и для планирования тактики индивидуального лечения больных.

Цель работы — исследовать экспрессию HER-2/neu в клетках серозного РЯ, сопоставить результаты с СГР опухоли и оценить их прогностическое значение.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования послужили результаты ретроспективного анализа историй болезни 104 пациенток с серозным РЯ в III стадии и парафиновые блоки их операционного материала. Больные находились на стационарном лечении в Национальном институте рака в период 2001–2009 гг. Всем пациенткам проведено комбинированное лечение (согласно стандартам диагностики и лечения онкологических больных, утвержденным приказами Министерства здравоохранения Украины от 27.07.1998 г. № 140 и от 17.09.2007 г. № 554), которое заключалось в проведении циторедуктивной операции с последующей химиотерапией (ХТ) в адьювантном режиме. Поскольку в исследовании включены пациентки, получавшие лечение на протяжении большого интервала времени, в адьювантном режиме были применены различные схемы ХТ. Поэтому мы не изучали влияния последней на выживаемость больных с HER-2/neu-положительным (+) серозным РЯ. У всех больных получено согласие на использование операционного материала с исследовательской

целью. Диагноз РЯ был верифицирован с помощью морфологического исследования операционного материала согласно гистологической классификации опухолей яичника ВОЗ (2002), клиническое стадирование РЯ проведено по международной классификации FIGO (2009) [26].

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование рецепторов эстрогенов (РЭ), прогестерона (РП), тестостерона (РТ) и HER-2/neu в ОК яичника проводили на парафиновых срезах толщиной 4–5 мк, которые помещали на стекла, обработанные поли-L-лиозином. В качестве первичных использовали МкАТ, специфичные к РЭ (anti-Human Estrogen Receptor alfa Clone 1D5, «DakoCytomation», Дания), РП (anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636, «DakoCytomation», Дания), РТ (testosterone antibody Clone GTX72779, «GeneTex», США) и HER-2/neu (anti-c-erbB2 Clone SP3, «Thermo Scientific», США). Для визуализации результатов реакции использовали набор реактивов EnVision system («DakoLSAB2system», Дания) в соответствии с рекомендациями производителя, срезы окрашивали гематоксилином Майера. Для оценки ИГХ экспрессии РЭ, РП, РТ и HER-2/neu применяли полуколичественный метод. При наличии специфического ядерного окрашивания для стероидных рецепторов и мембранно-цитоплазматического окрашивания для HER-2/neu определяли количество иммуноположительных и иммуноотрицательных ОК в процентах. В каждом гистологическом препарате анализировали экспрессию стероидных рецепторов и HER-2/neu в 1000 ОК. Для суммарной оценки СГР серозного РЯ использовали метод, применяемый нами ранее [5]. Степень экспрессии рецептора HER-2/neu оценивали в баллах: 0/1+ — отсутствие или слабое окрашивание цитоплазмы и мембраны; 2+ — умеренная степень равномерного окрашивания; 3+ — высокая степень; 4+ — гиперэкспрессия [27]. Экспрессию HER-2/neu считали положительной при наличии > 10% ОК с умеренной и высокой степенью равномерно окрашенной мембраны и цитоплазмы. В качестве положительного контроля применяли МкАТ против панцитокератинов, а отрицательного — забуференный физиологический раствор хлорида натрия, который вместо МкАТ наносили на гистологические срезы.

Результаты исследований оценивали в зависимости от возрастного периода женщин — репродуктивного (до 45 лет), перименопаузы (46–55 лет), ранней постменопаузы (56–60 лет) и поздней постменопаузы (61 год и больше) согласно классификации ВОЗ (1980) [28]. Определяли общую и безрецидивную выживаемость (ОВ, БРВ) больных серозным РЯ в зависимости от СГР и HER-2/neu статуса опухоли. Оценивали корреляционную связь HER-2/neu с экспрессией РЭ, РП, РТ, гормонально-рецепторным фенотипом, степенью дифференциации опухоли, возрастным периодом больных.

Статистический анализ включал использование *t*-критерия Стьюдента, критериев χ^2 и Краскела — Уоллиса; корреляционную зависимость оценивали с помощью ранговых корреляций Гамма. Выживаемость больных анализировали по методу Каплана — Мейера, для парных сравнений использовали *log-rank* критерий, для множественных межгрупповых различий — критерий χ^2 . Анализ прогностического фактора проводили с использованием Кокс-регрессионной модели. Статистически достоверными считали данные при $p < 0,05$. Обработку результатов исследования проводили с использованием пакета программы STATISTICA 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам ИГХ определение экспрессии HER-2/neu исследованные опухоли распределяли на HER-2/neu-отрицательные (HER-2/neu(-)) — 40 (38,5%) и HER-2/neu-положительные (HER-2/neu(+)) — 64 (61,5%) (табл. 1). В случаях HER-2/neu(+) выделили разную степень экспрессии маркера: HER-2/neu 2+ РЯ отмечен у 15,4%, HER-2/neu 3+ — у 21,1%, HER-2/neu 4+ — у 25,0% больных (рис. 1). Возраст больных серозным РЯ колебался от 19 до 72 лет, в среднем — $51,7 \pm 0,8$ года (см. табл. 1). Достоверные различия по возрасту зарегистрированы только между больными с HER-2/neu 2+ статусом и HER-2/neu(-) РЯ ($p = 0,02$).

Таблица 1

Характеристика больных серозным РЯ по HER-2/neu статусу и возрасту (n = 104)

HER-2/neu статус опухоли	Количество больных		Средний возраст/колебания, лет
	n	%	
HER-2/neu(-)	40	38,5	$48,0 \pm 2,2/19-72$
HER-2/neu(+)	64	61,5	$53,3 \pm 1,5/21-71$
HER-2/neu 2+	16	15,4	$57,1 \pm 3,1/24-71$
HER-2/neu 3+	22	21,1	$50,2 \pm 2,5/22-71$
HER-2/neu 4+	26	25,0	$53,7 \pm 2,4/21-70$
Всего	104	100,0	$51,7 \pm 0,8/19-72$

Анализируя HER-2/neu статус РЯ в зависимости от возрастного периода больных, мы отметили, что в репродуктивном и перименопаузальном возрасте частота HER-2/neu(+) и HER-2/neu(-) опухолей была практически одинакова (табл. 2). В постменопаузальный период зарегистрирована наивысшая частота HER-2/neu(+) РЯ (73,3%), более половины — у пациенток в поздней постменопаузе (19/57,6%). При этом у 42,4% больных выявлена HER-2/neu 4+ опухоль. Как установлено ранее, пациентки с серозным РЯ именно в постменопаузальный период имеют более агрессивное течение и неблагоприятный прогноз заболевания [4, 5, 29]. Однако статистический анализ показал отсутствие достоверных различий между экспрессией HER-2/neu в РЯ и возрастным периодом больных ($p = 0,898$), а также ранговой корреляционной связи между ними ($r = -0,018$; $p = 0,837$) (табл. 3).

Одним из показателей, имеющих значение для клинического течения опухолевого процесса, является степень дифференциации опухоли. Как свиде-

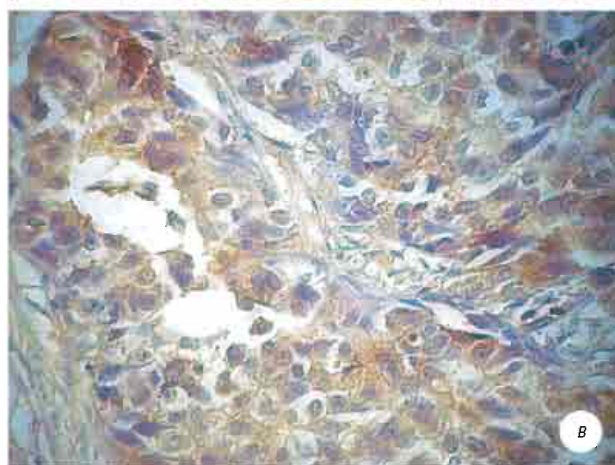
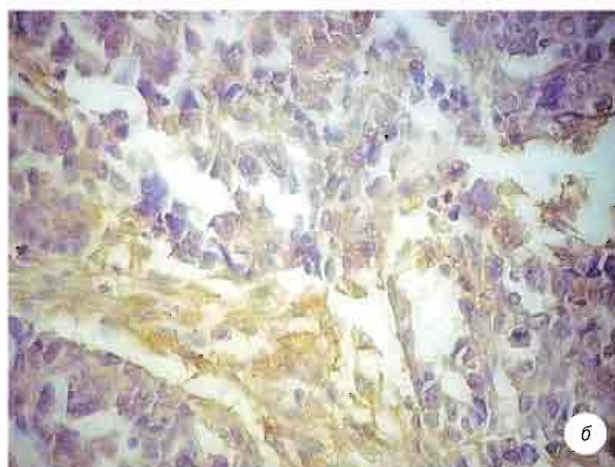
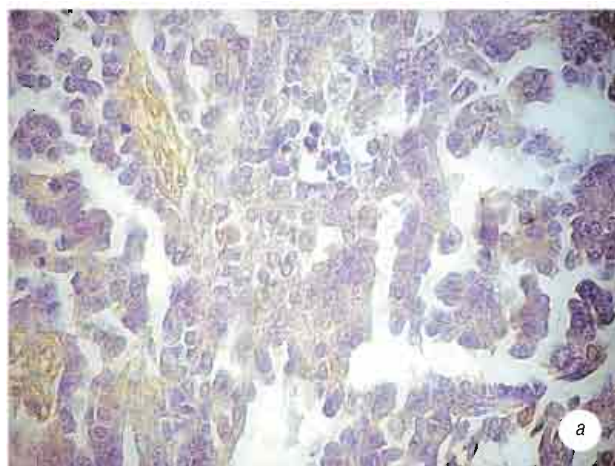


Рис. 1. Серозный РЯ. ИГХ экспрессия HER-2/neu в ОК: а — экспрессия HER-2/neu 2+; б — экспрессия HER-2/neu 3+; в — экспрессия HER-2/neu 4+. $\times 400$

тельствуют данные табл. 4, независимо от HER-2/neu статуса РЯ преобладала низкая степень дифференциации опухоли. Частота высокой и умеренной степени дифференциации серозного РЯ была несколько выше в подгруппе больных с HER-2/neu(-) опухолями соответственно (22,5 и 32,5% против 18,8 и 26,6%). Однако статистический анализ не выявил достоверной корреляционной связи между экспрессией HER-2/neu и степенью дифференциации опухоли ($r = -0,015$; $p = 0,877$) (см. табл. 3).

Таблица 2

Распределение больных серозным РЯ по HER-2/neu статусу в зависимости от возрастного периода (n = 104)

Возрастной период	Общее количество больных		HER-2/neu (-) статус опухоли		HER-2/neu (+) статус опухоли	
	n	Доля от общего числа больных, % / Распределение по возрастным периодам, %	n	%	n	%
Репродуктивный	32	30,8/100,0	16	50,0	16	50,0
Перименопауза	27	26,0/100,0	12	44,5	15	55,5
Постменопауза	45	43,3/100,0	12	26,7	33	73,3
Ранняя постменопауза	18	17,3/100,0	4	22,2	14	77,8
Поздняя постменопауза	27	26,0/100,0	8	29,6	19	70,4

Таблица 3

Ранговые корреляции Гамма между экспрессией HER-2/neu, рецепторами стероидных гормонов (РСТ), фенотипом опухоли, степенью ее дифференциации, возрастным периодом больных, наличием рецидива РЯ (n = 104)

Показатель	Коэффициент корреляции	p-уровень
HER-2/neu и РЭ	-0,154	0,1750
HER-2/neu и РП	0,186	0,1100
HER-2/neu и РТ	0,115	0,3052
HER-2/neu и фенотип опухоли по СГР	-0,101	0,2584
HER-2/neu и степень дифференциации опухоли	-0,015	0,8767
HER-2/neu и возрастной период	-0,018	0,8371
HER-2/neu и рецидив заболевания	0,162*	0,0381

*Коэффициент корреляции, значимый на уровне p < 0,05.

Таблица 4

Распределение больных серозным РЯ по HER-2/neu статусу и степени дифференциации опухоли (n = 104)

HER-2/neu статус опухоли	Количество больных		Степень дифференциации опухоли					
			высокая		умеренная		низкая	
	n	Доля от общего числа больных, % / Распределение по степени дифференциации РЯ	n	%	n	%	n	%
HER-2/neu(-)	40	38,5/100,0	9	22,5	13	32,5	18	45,0
HER-2/neu(+)	64	61,5/100,0	12	18,8	17	26,6	35	54,6
HER-2/neu 2+	16	15,4/100,0	4	25,0	4	25,0	8	50,0
HER-2/neu 3+	22	21,1/100,0	4	18,2	4	18,2	14	63,6
HER-2/neu 4+	26	25,0/100,0	4	15,4	9	34,6	13	50,0
Всего	104	100,0/100,0	21	20,2	30	28,8	53	51,0

Средняя длительность наблюдения исследуемых больных составила 33,3 ± 0,2 мес. Достоверно выше данный показатель был у пациенток с HER-2/neu(-) опухолью (38,6 ± 3,7 мес) по сравнению с больными, имеющими HER-2/neu(+) РЯ (29,9 ± 2,6 мес; p = 0,0073). У 70 (67,3%) лиц установлен рецидив заболевания, среди них преобладали пациентки с HER-2/neu(+) РЯ (53/75,7%), что свидетельствует об агрессивном течении и неблагоприятном прогнозе таких опухолей. Как видно из табл. 5, средний безрецидивный период

у больных с HER-2/neu(+) опухолью (25,3 ± 1,0 мес) был достоверно меньше, чем у пациенток с HER-2/neu(-) РЯ (35,5 ± 0,6 мес; p = 0,011). Аналогичное отличие установлено и при оценке медианы ОБ и БРВ в сравниваемых группах больных (соответственно 27,5 и 23,9 мес против 38,9 и 34,1 мес; p = 0,011). Межгрупповые различия показателей медианы ОБ и БРВ больных с HER-2/neu(+) опухолью с разной степенью экспрессии этого маркера были статистически недостоверными (p > 0,05).

Таблица 5

Характеристика больных серозным РЯ по HER-2/neu статусу, длительности среднего безрецидивного периода, медиане ОБ и БРВ (n = 104)

HER-2/neu статус опухоли	Количество больных		Средний безрецидивный период, мес	Медиана ОБ, мес	Медиана БРВ, мес
	n	%			
HER-2/neu(-)	40	38,5	35,5 ± 0,6*	38,9 ± 0,6*	34,1 ± 0,6*
HER-2/neu(+)	64	61,5	25,3 ± 1,0	27,5 ± 0,3	23,9 ± 0,3
HER-2/neu 2+	16	15,4	25,6 ± 1,1	24,8 ± 1,1	24,8 ± 1,1
HER-2/neu 3+	22	21,1	25,4 ± 1,2	23,2 ± 0,9	19,5 ± 1,2
HER-2/neu 4+	26	25,0	25,0 ± 0,7	35,1 ± 0,8	24,7 ± 0,7
Всего	104	100,0	29,2 ± 0,2	30,1 ± 0,2	29,2 ± 0,2

*p < 0,05 по сравнению с HER-2/neu(+) статусом РЯ.

В связи с полученными данными важны результаты однофакторного анализа ОБ и БРВ больных РЯ в зависимости от экспрессии HER-2/neu (табл. 6; рис. 2–5). Трех- и пятилетняя ОБ больных с HER-2/neu(-) статусом РЯ достоверно выше, чем у пациенток с HER-2/neu(+) опухолью (см. рис. 2), что подтверждено и при оценке выживаемости пациенток с различной степенью экспрессии HER-2/neu (см. рис. 3). Аналогичную разницу отмечали и при сравнении 3- и 5-летней БРВ больных с отрицательным и положительным HER-2/neu статусом опухоли, при этом достоверно более низкие показатели выживаемости (см. рис. 4) также выявлены независимо от степени экспрессии HER-2/neu (см. рис. 5). Сопоставление показателей выживаемости больных РЯ, имеющих разную степень экспрессии HER-2/neu (2+, 3+, 4+), показало, что различия между этими подгруппами недостоверны (p = 0,492; p = 0,707; p = 0,261 соответственно). Заключение этого фрагмента исследований явились результаты статистического анализа — выявлена ранговая корреляционная связь между экспрессией HER-2/neu в РЯ и риском возникновения рецидива заболевания (r = 0,162; p = 0,0381) (см. табл. 3). Оценка прогностического значения HER-2/neu статуса у больных серозным РЯ методом Кокс-регрессионного анализа также показала, что ОБ (отношение рисков — ОР — 1,41; 95% доверительный интервал — ДИ — 1,06–1,98) и БРВ (ОР 1,75; 95% ДИ 1,12–2,44) достоверно выше у больных с HER-2/neu(-) опухолью (табл. 7).

Таким образом, у большей части (61,5%) больных серозным РЯ опухоль имела HER-2/neu(+) статус, из них у 46,1% — высокую степень и гиперэкспрессию этого маркера. У таких пациенток отмечали достоверно более низкую ОБ и БРВ; установлена корреляционная связь между экспрессией HER-2/neu в ОК яичника и риском рецидива заболевания. Поэтому HER-2/neu(+) опухоли следует рассматри-

вать как прогностический фактор неблагоприятного течения процесса независимо от степени дифференциации РЯ и возраста больных.

Таблица 6
ОВ и БРВ больных серозным РЯ в зависимости от HER-2/neu статуса

HER-2/neu статус опухоли	ОВ, %		БРВ, %	
	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя
HER-2/neu(-)	66,8 ± 8,0	50,7 ± 10,4	61,2 ± 8,2	47,5 ± 10,7
HER-2/neu(+)	33,8 ± 6,2	14,7 ± 5,0	23,7 ± 5,6	11,5 ± 4,6
HER-2/neu 2+	25,5 ± 12,3	7,3 ± 7,9	25,7 ± 12,2	7,9 ± 6,4
HER-2/neu 3+	21,4 ± 9,3	—	16,7 ± 8,5	6,3 ± 5,5
HER-2/neu 4+	45,9 ± 9,8	17,7 ± 8,0	26,9 ± 8,7	4,1 ± 5,1

Таблица 7
ОВ больных в зависимости от HER-2/neu статуса РЯ и экспрессии РСГ

HER-2/neu статус опухоли	ОВ (%) и экспрессия РСГ											
	РЭ-		РЭ+		РП-		РП+		РТ-		РТ+	
	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя
HER-2/neu(-)	71,0	43,4	57,5	35,9	61,2	39,9	62,2	37,8	74,8	50,9	52,3	28,5
HER-2/neu(+)	41,4	11,7	27,5	13,5	39,5	10,3	30,3	15,1	39,9	10,7	27,6	14,8

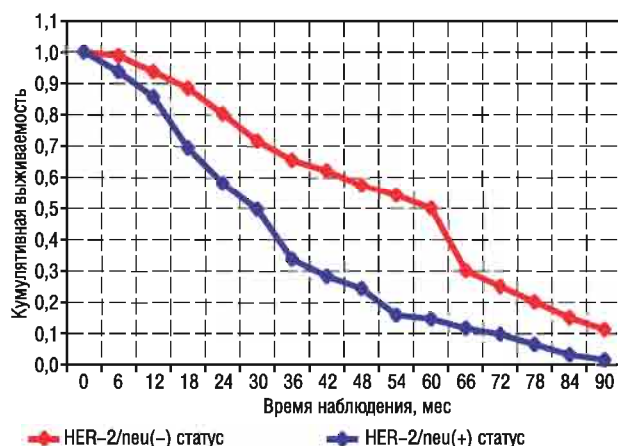


Рис. 2. ОВ больных серозным РЯ с HER-2/neu(+)
и HER-2/neu(-). Кривые выживаемости по Каплану —
Мейеру, log-rank критерий, $p = 0,00015$

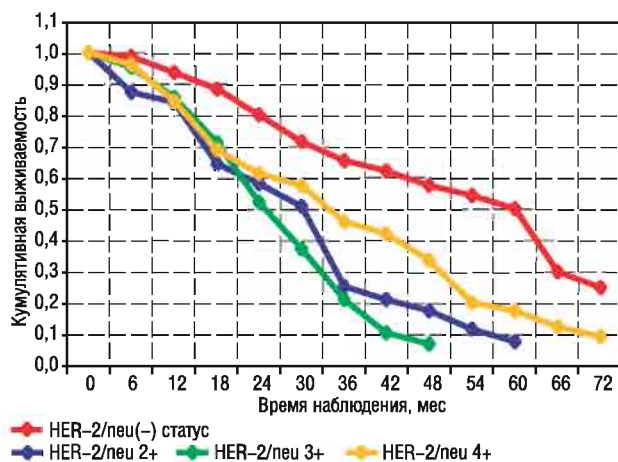


Рис. 3. ОВ больных серозным РЯ с различной степенью
экспрессии HER-2/neu и HER-2/neu(-) статусом опухоли.
Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, χ^2 кри-
терий, $p = 0,0073$

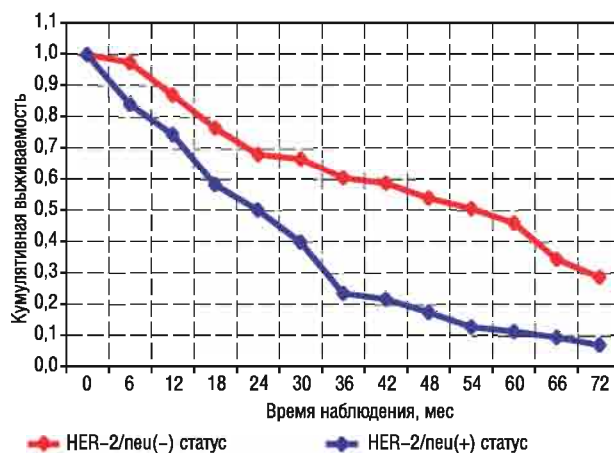


Рис. 4. БРВ больных серозным РЯ с HER-2/neu(+)
и HER-2/neu(-). Кривые выживаемости по Каплану —
Мейеру, log-rank критерий; $p = 0,00010$

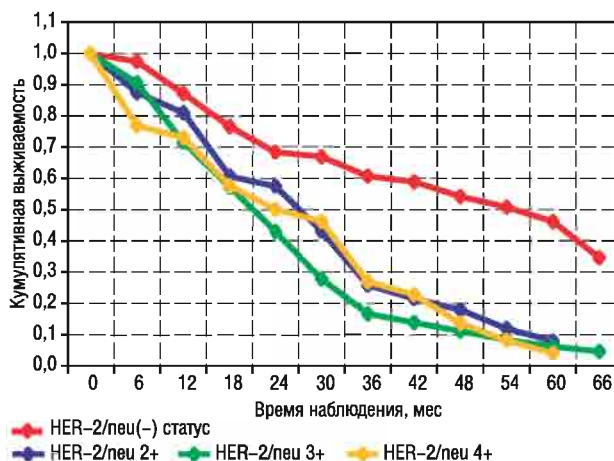


Рис. 5. БРВ больных серозным РЯ с различной степенью
экспрессии HER-2/neu и HER-2/neu(-) статусом опухоли.
Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, χ^2 кри-
терий, $p = 0,0111$

В дальнейшем были сопоставлены данных экспрессии HER-2/neu и рецепторов стероидных гормонов (РСГ) в ОК. Среди исследованных опухолей выделены рецепторотрицательные и рецепторположительные (для всех стероидных гормонов) варианты с количественным преобладанием последних, независимо от HER-2/neu статуса ОК (табл. 8). Различия между частотой экспрессии РСГ в зависимости от экспрессии HER-2/neu статистически недостоверны (для РЭ $p = 0,376$; РП — $p = 0,101$; РТ — $p = 0,390$); установлено отсутствие ранговой корреляционной связи между экспрессией РСГ и HER-2/neu в опухолевой ткани (для РЭ $r = -0,154$; $p = 0,175$; РП — $r = -0,186$; $p = 0,110$; РТ — $r = -0,115$; $p = 0,305$) (см. табл. 3).

Поскольку клиническое течение РЯ определяют молекулярно-биологические свойства опухоли, в частности вариабельность маркерного фенотипа ОК, была оценена экспрессия HER-2/neu в зависимости от СГР серозного РЯ. Этот анализ проведен для пациенток с фенотипами опухоли: РЭ+РП+РТ+, РЭ+РП+РТ-, РЭ-РП-РТ-, РЭ-РП-РТ+, поскольку данные фенотипы РЯ отмечали

Распределение больных серозным РЯ в зависимости от HER-2/neu статуса и экспрессии РСГ (n = 104)

HER-2/neu статус опухоли	Общее количество больных		Экспрессия РСГ											
			РЭ				РП				РТ			
	n	%	РЭ+		РЭ-		РП+		РП-		РТ+		РТ-	
n			%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
HER-2/neu(-)	40	38,5/100,0	27	67,5	13	32,5	23	57,5	17	42,5	22	55,0	18	45,0
HER-2/neu(+)	64	61,5/100,0	39	60,9	25	39,1	46	71,9	18	28,1	39	60,9	25	39,1

Таблица 9

Распределение больных серозным РЯ по HER-2/neu статусу и СГР (n = 87)

Фенотип опухоли по СГР	Общее количество больных		Распределение больных РЯ по HER-2/neu статусу			
			HER-2/neu(-)		HER-2/neu(+)	
	n	Доля от общего числа больных, %/ Распределение по HER-2/neu статусу, %	n	%	n	%
РЭ+РП+РТ+	42	40,4/100,0	13	31,0	29	69,0
РЭ+РП+РТ-	17	16,3/100,0	8	47,1	9	52,9
РЭ-РП-РТ+	12	11,5/100,0	6	50,0	6	50,0
РЭ-РП-РТ-	16	15,4/100,0	5	31,2	11	68,8
Всего		87/83,7		32/30,8		55/52,9

у большей (83,7%) части больных (табл. 9). Преобладали пациентки с РЯ с трижды положительным СГР опухоли (РЭ+РП+РТ+) — 42/40,4%, что согласуется с данными литературы [5, 29]. Среди больных этой подгруппы 69,0% имели HER-2/neu(+) опухоль, при этом в 47,6% случаев выявлен HER-2/neu 3+/4+ статус. Как установлено нами ранее, положительный СГР серозного РЯ является предиктивным фактором неблагоприятного течения процесса [5], однако статистический анализ показал отсутствие достоверных различий между показателями экспрессии HER-2/neu в зависимости от СГР ($p = 0,148$), а также достоверной ранговой корреляционной связи между указанными характеристиками ($r = -0,101$; $p = 0,258$) (см. табл. 3).

В дальнейшем провели анализ 3- и 5-летней ОВ больных в зависимости от экспрессии HER-2/neu и каждого из РСГ (табл. 10; рис. 6–11). Трех- и пятилетняя ОВ была достоверно выше у больных с HER-2/neu(-) РЯ независимо от экспрессии РЭ и РП, а также у пациенток с РТ- опухолью (см. рис. 6–10). Исключение составили больные с РТ+ РЯ, у которых различия ОВ в зависимости от HER-2/neu статуса недостоверны (см. рис. 11). Данные Кокс-регрессионного анализа ОВ и БРВ больных в зависимости от HER-2/neu статуса и экспрессии РТ в опухоли (см. табл. 10) свидетельствуют, что РТ+ фенотип является независимым фактором неблагоприятного прогноза у больных РЯ с различным HER-2/neu статусом опухоли. Как показано ранее, выраженная экспрессия РТ у больных серозным РЯ является предиктивным фактором агрессивного течения и неблагоприятного прогноза заболевания [5, 30].

Сравнительный анализ 3- и 5-летней ОВ больных в зависимости от HER-2/neu статуса и СГР опухоли, проведенный для пациенток, имеющих указанные выше фенотипы РЯ (РЭ+РП+РТ+, РЭ+РП+РТ-, РЭ-РП-РТ-, РЭ-РП-РТ+), показал (рис. 12, 13),

что в целом отмечены достоверно более высокие показатели 3- и 5-летней ОВ больных с HER-2/neu(-) опухолью ($p < 0,05$). В этой подгруппе более высокую ОВ отмечали у больных с фенотипами РЭ-РП-РТ- и РЭ+РП+РТ-, что подтверждают полученные нами ранее данные [5]. Самая низкая 3-летняя ОВ выявлена у больных HER-2/neu(+) РЯ с фенотипом РЭ+РП+РТ+, 5-летняя — у больных с фенотипом РЭ-РП-РТ+. В то же время различия ОВ больных РЯ с одинаковым HER-2/neu статусом в зависимости от экспрессии РСГ не являются достоверными: для РЭ $p = 0,426$ (HER-2/neu(-) опухоли) и $p = 0,711$ (HER-2/neu(+) опухоли); для РП $p = 0,919$ и $p = 0,448$; для РТ $p = 0,091$ и $p = 0,972$ соответственно. Иными словами, статистический анализ показал отсутствие достоверных межгрупповых различий в выживаемости больных в зависимости от СГР при HER-2/neu(+) или (-) опухоли. Таким образом, 3- и 5-летняя ОВ больных серозным РЯ в большей мере зависит от экспрессии HER-2/neu, чем от СГР опухоли.

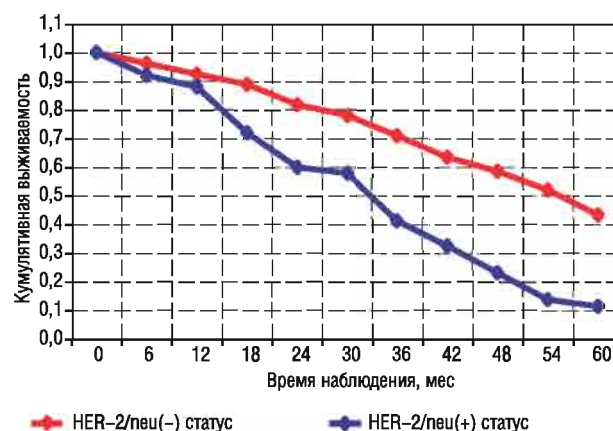


Рис. 6. ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/neu статусом при отсутствии экспрессии РЭ. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, log-rank критерий, $p = 0,00071$

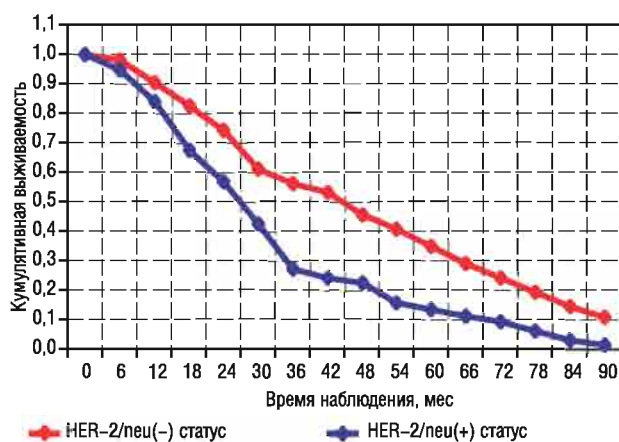


Рис. 7. ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/неу статусом при наличии экспрессии РЭ. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, *log-rank* критерий, $p = 0,00875$

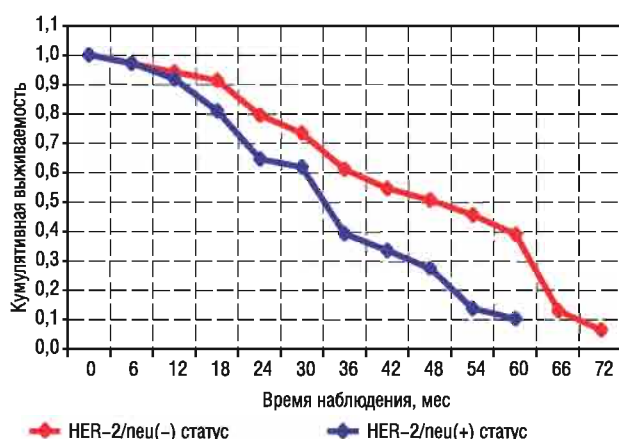


Рис. 8. ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/неу статусом при отсутствии экспрессии РП. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, *log-rank* критерий, $p = 0,01869$

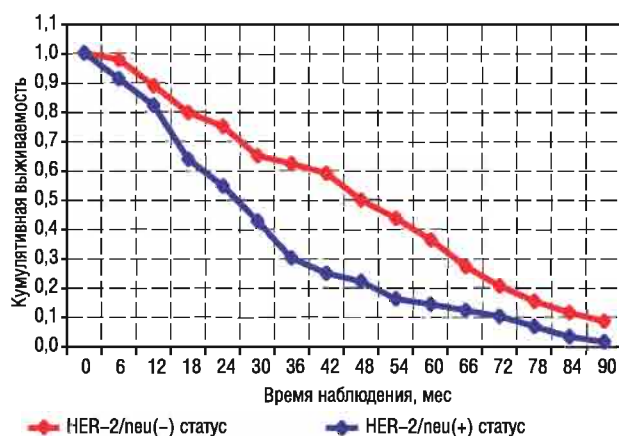


Рис. 9. ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/неу статусом при положительной экспрессии РП. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, *log-rank* критерий, $p = 0,00234$

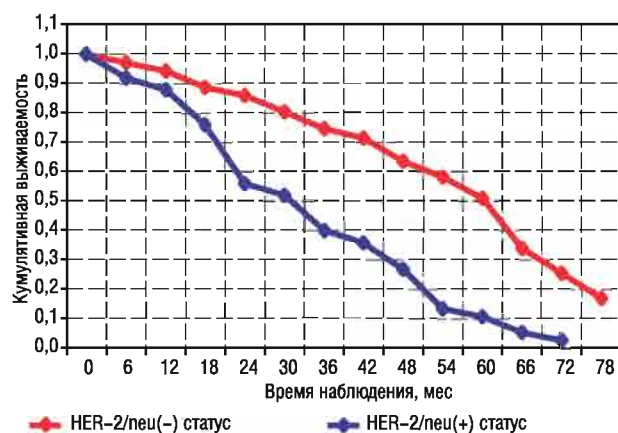


Рис. 10. ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/неу статусом при отсутствии экспрессии РТ. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, *log-rank* критерий, $p = 0,00022$

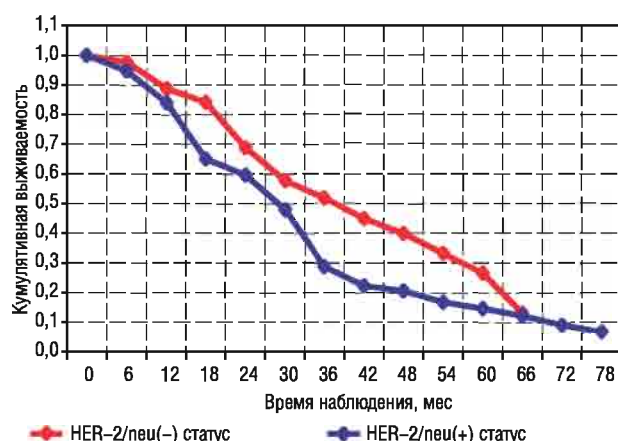


Рис. 11. ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/неу статусом при наличии экспрессии РТ. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, *log-rank* критерий, $p = 0,0566$

Представленные нами результаты показали высокую (66,6%) частоту экспрессии HER-2/неу у больных серозным РЯ. По данным литературы, гиперэкспрессия HER-2/неу в РЯ возникает в 11–70% случаев [17–20, 31]. Такой диапазон значений связывают с применением различных методов тестирования, в частности с недостаточной чувствительностью ИГХ исследования [21, 32]. В нашей работе выявлена высокая частота HER-2/неу(+) статуса у больных серозным РЯ: этот гистотип рака, по данным литературы, составляет до 70% случаев РЯ [1, 2, 9, 34]. Немногими учеными показано, что наибольшая частота экспрессии HER-2/неу отмечена у больных муцинозным РЯ [23, 33]. Имеются сведения и о том, что HER-2/неу статус не зависит от гистотипа РЯ [17, 35].

Результатами исследования установлена ранговая корреляционная связь между экспрессией HER-2/неу в серозном РЯ и риском возникновения рецидива заболевания, при этом показано отсутствие связи со степенью дифференциации опухоли, возрастным периодом больных, экспрессией разных РСГ и рецепторным фенотипом

опухоли. При однофакторном и многофакторном анализе установлена достоверно более низкая ОВ и БРВ больных с HER-2/neu(+) опухолью независимо от СГР последней, показано прогностическое значение экспрессии HER-2/neu как неблагоприятного фактора течения опухолевого процесса. Достоверно более низкая выживаемость больных с HER-2/neu(+) РЯ отмечена и авторами публикации [33].

Таблица 10

Кокс-регрессионный анализ ОВ и БРВ больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии HER-2/neu СГР

HER-2/neu статус опухоли	ОР	95,0% ДИ		р
		нижний	верхний	
ОВ				
HER-2/neu(+) и HER-2/neu(-)	1,41*	1,06	1,98	0,004
HER-2/neu(+) P3+ и HER-2/neu(+) P3-	1,38	0,95	1,46	0,194
HER-2/neu(+) PP+ и HER-2/neu(+) PP-	1,04	0,79	1,25	0,294
HER-2/neu(+) PT+ и HER-2/neu(+) PT-	1,71*	1,47	2,01	0,047
HER-2/neu(-) PT+ и HER-2/neu(-) PT-	1,91*	1,58	2,46	0,019
HER-2/neu(+) PT+ и HER-2/neu(-) PT+	1,04	0,54	1,67	0,296
БРВ				
HER-2/neu(+) и HER-2/neu(-)	1,75*	1,12	2,44	0,003
HER-2/neu(+) P3+ и HER-2/neu(+) P3-	1,35	0,87	1,78	0,153
HER-2/neu(+) PP+ и HER-2/neu(+) PP-	1,24	0,95	1,67	0,244
HER-2/neu(+) PT+ и HER-2/neu(+) PT-	1,92*	1,57	2,34	0,037
HER-2/neu(-) PT+ и HER-2/neu(-) PT-	2,27*	1,95	3,44	0,003
HER-2/neu(+) PT+ и HER-2/neu(-) PT+	1,11	0,85	1,56	0,258

*ОР, значимый при уровне $p < 0,05$.

Прогностическое значение имела также экспрессия РТ (для больных как с HER-2/neu(+), так и HER-2/neu(-) РЯ), что свидетельствует о неблагоприятном течении заболевания при выраженной экспрессии РТ независимо от HER-2/neu статуса опухоли.

Данными некоторых исследований показано отсутствие корреляции HER-2/neu с опухолевыми маркерами — KRAS, Ki-67, p53, CXCR4/SDF-1, а также с экспрессией РСГ, степенью дифференциации опухоли и возрастом больных [17–19, 35]. Однако N. Liu и соавторы отметили агрессивное течение и неблагоприятный прогноз заболевания у пациенток с трижды негативной опухолью (HER-2/neu(-), P3 и PP), а также значимую положительную корреляционную связь экспрессии HER-2/neu с экспрессией Ki-67 и p53 в ОК яичника [36]. S. Heublein и соавторы регистрировали достоверно более высокую выживаемость больных РЯ с HER-2/neu(+) статусом и выраженной экспрессией рецептора фолликулостимулирующего гормона по сравнению с больными, у которых его экспрессия отсутствовала, предполагив, что сигналы этого рецептора блокируют тирозинкиназный сигнальный путь [37].

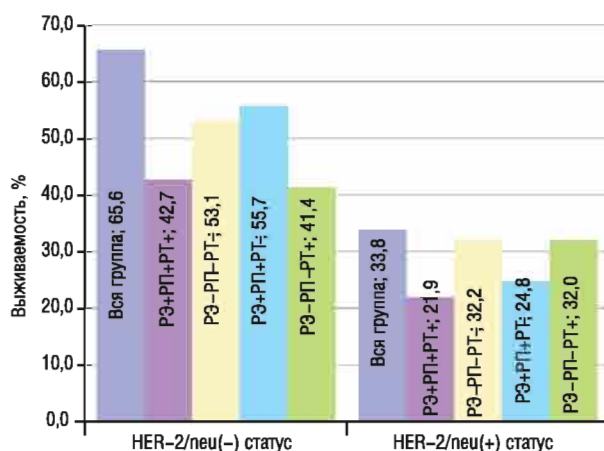


Рис. 12. 3-летняя ОВ больных серозным РЯ в зависимости от HER-2/neu статуса и СГР опухоли

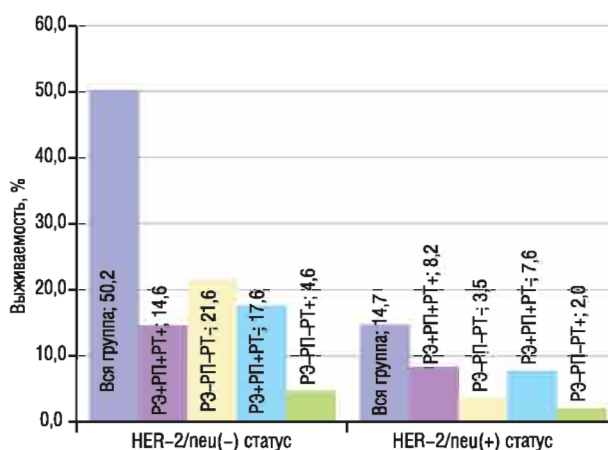


Рис. 13. 5-летняя ОВ больных серозным РЯ в зависимости от HER-2/neu статуса и СГР опухоли

Результатами некоторых исследований не установлено влияния HER-2/neu статуса на ОВ больных РЯ [19–23]. Данные о низкой выживаемости пациенток с HER-2/neu(+) опухолью, а также о корреляционной связи между экспрессией HER-2/neu и степенью дифференциации опухоли имеют значительную вариабельность [17, 18, 38]. Мы не изучали влияния различных схем адъювантной ХТ на ОВ больных РЯ с HER-2/neu(+) опухолью, однако многие ученые исключили такое влияние на прогноз у больных РЯ с гиперэкспрессией HER-2/neu [18]. Следовательно, такие достаточно противоречивые результаты ранее проведенных исследований указывают на необходимость проведения крупных многоцентровых исследований в этом направлении.

ВЫВОДЫ

1. Положительную экспрессию HER-2/neu в серозном РЯ отмечено у 61,5% больных, из них у 46,1% — высокую степень и гиперэкспрессию этого рецептора.

2. Установлено отсутствие корреляционной связи между экспрессией HER-2/neu и степенью диф-

ференциации опухоли, возрастным периодом больных, экспрессией всех РСГ и гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ.

3. У больных с HER-2/neu(+) опухолью достоверно более низкая ОВ и БРВ независимо от СГР. Установлена корреляционная связь между экспрессией HER-2/neu в опухоли яичника и риском развития рецидива заболевания.

4. Выраженная экспрессия РТ в клетках серозного РЯ, независимо от HER-2/neu статуса опухоли, ассоциируется со снижением ОВ и БРВ.

5. HER-2/neu(+) статус опухоли, как и выраженная экспрессия РТ, независимо от HER-2/neu статуса являются предиктивными факторами неблагоприятного течения опухолевого процесса у больных серозным РЯ.

6. HER-2/neu статус серозного РЯ можно рассматривать не только как прогностический фактор, но и как критерий для решения вопроса о применении таргетной терапии в комплексном лечении больных, что требует проведения дальнейших исследований в этом направлении.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Disaia PJ, Creasman WT.** Clinical Oncologic Gynecology (3) (перевод с англ. под ред.: *ЕГ Новиковой*). М.: Рид Элсивер, 2012. 346 с.
2. **Воробьева ЛИ.** Практическая онкогинекология. К., 2012. 228 с.
3. **Воробьева ЛИ, Свинцицкий ВС, Ткаля ЮГ.** Гормональный канцерогенез и обоснование применения гормональной терапии в лечении больных раком яичника. *Клин онкол* 2013; 1 (9): 56–64.
4. **Воробьева ЛИ, Ткаля ЮГ.** Клиническое значение сопутствующих гиперпластических процессов эндометрия у больных со злокачественными опухолями яичников. *Онкология* 2013; 4 (58): 286–93.
5. **Kalia IG, Vorobyova LI, Svintsitsky VS, et al.** Clinical significance of hormonal receptor status of malignant ovarian tumors. *Exp Oncol* 2014; 36 (2): 125–133.
6. **Урманчеева АФ, Тюляндин СА, Моисеенко ВМ.** Практическая онкогинекология: избранные лекции. СПб.: Центр ТОММ, 2008. 400 с.
7. **Чехун ВФ, Шербан СД, Савцова ЗЛ.** Гетерогенность опухоли — динамическое состояние. *Онкология* 2012; 1 (14): 4–12.
8. **Горбунова ВА.** Диагностика и лечение рака яичников. М.: МИА, 2011. 248 с.
9. **Переводчикова НИ.** Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М.: Практическая медицина 2011. 512 с.
10. **Щепотин ГБ, Зотов АС, Любота РВ и др.** Молекулярные подтипы рака грудной железы, определенные на основе иммуногистохимических маркеров: клинико-биологические особенности и прогноз течения. *Клин онкол* 2012; 8 (4): 1–4.
11. **Ahmed HG, Al-Adhraei MA, Al-Thobhani AK.** Correlations of hormone receptors (ER and PR), Her2/neu and p53 expression in breast ductal carcinoma among yemeni women. *The Open Cancer Immunol J* 2011; 4: 1–9.
12. **Faheem M, Mahmood H, Khurram M, et al.** Estrogen receptor, progesterone receptor, and Her 2 Neu positivity and its association with tumour characteristics and menopausal status in a breast cancer cohort from northern Pakistan. *Cancer* 2012; 6 (283): 1–8.

13. **Ayadi L, Khabir A, Amouri H, et al.** Correlation of HER2 overexpression with clinicopathological parameters in Tunisian breast carcinoma. *World J Surgical Oncol* 2008; 6: 112.

14. **Almasri NM, Al-Hamad M.** Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma in Jordan. *Breast Cancer Res* 2005; 7 (5): 598–604.

15. **Huang HJ, Neven P, Drijkoningen M, et al.** Association between tumor characteristic and HER2/neu by immunohistochemistry in 1362 women with primary operable breast cancer. *J Clin Pathol* 2005; 58: 611–6.

16. **Ratnatunga N, Liyanapathirana LVC.** Hormone receptor expression and HER/2 amplification in breast carcinoma in a cohort of Sri-Lankans. *Papers* 2007; 52 (4): 133–6.

17. **Sylvia MT, Kumar S, Dasari P.** The expression of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, Her-2-neu, p53 and Ki-67 in epithelial ovarian tumors and its correlation with clinicopathologic variables. *Pathology & Microbiology* 2012; 55 (1): 33–37.

18. **Pils D, Pinter A, Reibenwein J, et al.** In ovarian cancer the prognostic influence of HER2/neu is not dependent on the CXCR4/SDF-1 signalling pathway. *Br J Cancer* 2007; 96: 485–91.

19. **Hoopmann M, Sachse K, Valter MM, et al.** Serological and immunohistochemical HER-2/neu statuses do not correlate and lack prognostic value for ovarian cancer patients. *Eur J Cancer* 2010; 19: 809–815.

20. **Tuefferd M, Couturier J, Penault-Llorca F, et al.** HER2 Status in Ovarian Carcinomas: A Multicenter GINECO Study of 320 Patients. *PLoS One* 2007; 11 (www.plosone.org e1138. doi:10.1371/journal.pone.0001138).

21. **García-Velasco A, Mendiola C, Sánchez-Muñoz A, et al.** Prognostic value of hormonal receptors, p53, ki67 and HER2/neu expression in epithelial ovarian carcinoma. *Clin Transl Oncol* 2008; 10: 367–71.

22. **Legge F, Ferrandina G, Salutari V, et al.** Biological characterization of ovarian cancer: prognostic and therapeutic implications. *Ann Oncol* 2005; 16 (4): 95–101.

23. **Le Page C, Huntsman DG, Provencher DM, et al.** Predictive and Prognostic Protein Biomarkers in Epithelial Ovarian Cancer: Recommendation for Future Studies. *Cancer* 2010; 2: 913–54.

24. **Ayadia L, Chaabounia S, Khabira A, et al.** Correlation between immunohistochemical biomarkers expression and prognosis of ovarian carcinomas in tunisian patients. *World J Oncol* 2010; 1 (3): 118–28.

25. **Alonso L, Gallego E, Jesús González F, et al.** Gonadotropin and steroid receptors as prognostic factors in advanced ovarian cancer: aretrospective study. *Clin Transl Oncol* 2009; 11: 748–52.

26. **Пузин СН, Палявиди ЮГ, Огай ДС и др.** Медицинская экспертиза в онкогинекологии. *Онкогинекология* 2012, 2: 60–7.

27. **Jacobs TW, Gown AM, Yaziji H, et al.** HER-2/neu protein expression in breast cancer evaluated by immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol* 2000; 113: 251–8.

28. **Манухин ИБ, Тумлович ЛГ, Геворкян МА.** Клинические лекции по гинекологической эндокринологии. М.: МИА, 2003. 247 с.

29. **Ho S-M.** Estrogen, progesterone and epithelial ovarian cancer. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 73.

30. **Wang PH, Chang C.** Androgens and ovarian cancers. *Eur J Gynacc Oncol* 2004; 25 (2): 157–63.

31. **Bookman MA, Darcy KM, Clarke-Pearson D, et al.** Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent or refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with expression of HER2: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group. *J Clin Oncol* 2003; 21: 311–316.

32. **Lanitis E, Dangaj D, Hagemann IS, et al.** Primary human ovarian epithelial cancer cells broadly express HER2 at immuno

logically-detectable levels. PLoS One 2012; 7 (11) (www.plosone.org e49829. doi:10.1371/journal.pone.0049829).

33. McCaughan H, Um I, Langdon SP, et al. HER2 expression in ovarian carcinoma: caution and complexity in biomarker analysis. J Clin Pathol 2012; 65: 670–1.

34. Урманчиева АФ, Кутушева ГФ, Ульрих ЕА. Опухоли яичника (клиника, диагностика и лечение). СПб.: Н-Л, 2012. 68 с.

35. Nodin B. Immunohistochemical and molecular studies on ovarian cancer progression and prognosis. Doctoral Dissertation by due permission of the Faculty of Medicine, Lund University, Sweden 2013: 46–48.

36. Liu N, Wang X, Sheng X. The clinicopathological characteristics of «triple-negative» epithelial ovarian cancer. J Clin Pathol 2012; 63: 240–243.

37. Heublein S, Vrekoussis T, Mayr D, et al. Her-2/neu expression is a negative prognosticator in ovarian cancer cases that do not express the follicle stimulating hormone receptor (FSHR). J Ovarian Research 2013; 6: 6.

38. Marinas MC, Mogos G, Ciurea R. EGFR, HER2/neu and Ki67 immunoeexpression in serous ovarian tumors. Rom J Morphol Embryol 2012; 53 (3): 563–7.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF HER-2/neu EXPRESSION IN THE PATIENTS WITH SEROUS OVARIAN CANCER DEPENDING ON THE TUMOR HORMONAL RECEPTOR STATUS

I.G. Tkalia, L.I. Vorobyova, V.S. Svintsitsky,
S.V. Nespryadko, I.V. Goncharuk,
N.Y. Lukyanova, V.F. Chekhun

Summary. Objectives: to study the expression of HER-2/neu in tumor cells of serous ovarian cancer (OC), to compare the results with a hormonal receptor status (HRS) of the tumor and to evaluate their prognostic significance. **Material and methods:** retrospective analysis of the case histories of 104 patients with serous OC of the III stage and immunohistochemical study of paraffin-embedded tissues was carried out. The HER-2/neu and the HRS of serous OC, their prognostic significance were studied. The analysis of correlation between the expression of HER-2/neu in ovarian tumors and the clinico-morphological parameters was performed. Overall and relapse-free survival rates of the patients

with OC depending on the HER-2/neu and HRS of the tumor were assessed. **Results:** the positive expression of HER-2/neu in ovarian tumor has been reported in 61,5% of the patients, 46,1% among them demonstrated a high rate and hyperexpression of the HER-2/neu. Single factor analysis shown significantly low overall ($p = 0,00015$) and relapse-free ($p = 0,00010$) survival rates among the patients with HER-2/neu-positive status of OC. Correlation between the expression of HER-2/neu in ovarian tumor and the risk of disease recurrence has been established ($r = 0,492$, $p = 0,0381$). Cox regression analysis defined an adverse prognostic influence of the HER-2/neu-positive tumor status on the overall (HR 1,41; 95% CI 1,06–1,98) and relapse-free (HR 1,75; 95% CI 1,12–2,44) survival rates of patients with OC. Unfavorable prognostic value of the expression of testosterone receptor (TR) irrespective of the HER-2/neu tumor status has been established. Multiple factor analysis reported a significantly low overall survival in OC patients with the HER-2/neu-positive tumor irrespective of the HRS ($p = 0,00015$). **Conclusions:** most of the patients with serous OC had the HER-2/neu-positive tumor. Lack of correlation was identified between the expression of HER-2/neu in ovarian tumor and the clinico-morphological parameters. The patients with HER-2/neu-positive tumor had significantly lower survival rates irrespective of the tumor HRS. Both the HER-2/neu-positive of the tumor and the pronounced expression of the TR irrespective of HER-2/neu status of serous OC, are predictive factor for an unfavorable course of tumor process.

Key Words: serous ovarian cancer, HER-2/neu status, estrogens receptors, progesterone receptor, testosterone receptor.

Адрес для переписки:

Ткаля Ю.Г.
03022, Киев, ул. Ломоносова, 33/43
Национальный институт рака
E-mail: j.tkalya@gmail.com

Получено: 26.05.2014