

Ю.Г. Ткаля<sup>1</sup>  
Л.И. Воробьева<sup>1</sup>  
В.С. Свицицкий<sup>1</sup>  
С.В. Неспрядько<sup>1</sup>  
И.В. Гончарук<sup>1</sup>  
Н.Ю. Лукьянова<sup>2</sup>  
В.Ф. Чехун<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный институт  
рака

<sup>2</sup>Институт  
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 РЕЦЕПТОРНЫХ 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 клиничко-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 клиничко-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  $\chi^2$  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  $\chi^2$ . 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 определенные 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 ± 2,2/19–72
HER-2/neu(+)	64	61,5	53,3 ± 1,5/21–71
HER-2/neu 2+	16	15,4	57,1 ± 3,1/24–71
HER-2/neu 3+	22	21,1	50,2 ± 2,5/22–71
HER-2/neu 4+	26	25,0	53,7 ± 2,4/21–70
Всего	104	100,0	51,7 ± 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-

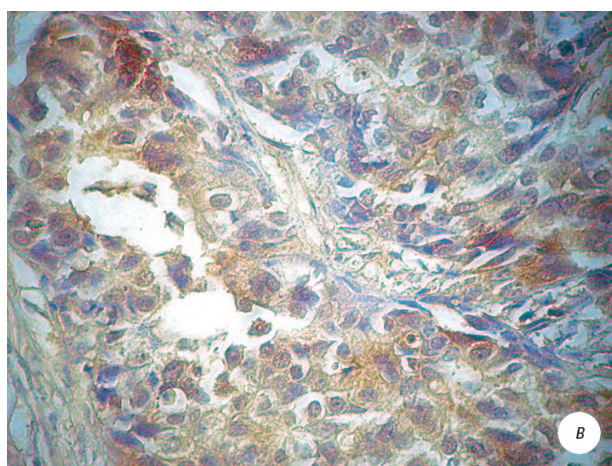
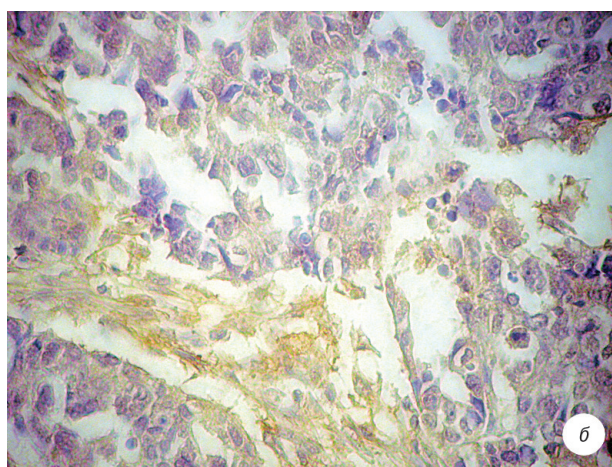
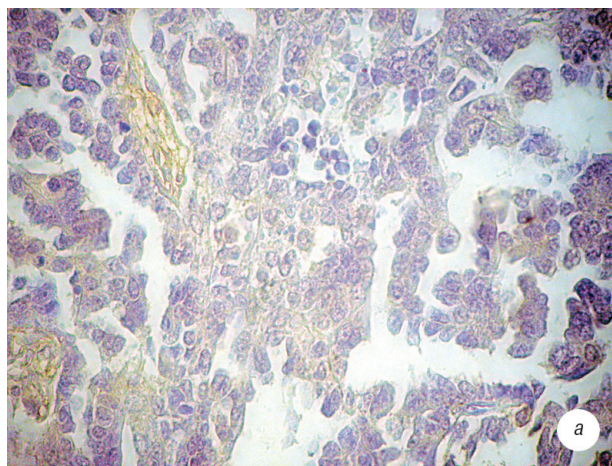


Рис. 1. Серозный РЯ. ИГХ экспрессия HER-2/neu в ОК: а — экспрессия HER-2/neu 2+; б — экспрессия HER-2/neu 3+; в — экспрессия HER-2/neu 4+. × 400

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
<b>Всего</b>	<b>104</b>	<b>100,0/100,0</b>	<b>21</b>	<b>20,2</b>	<b>30</b>	<b>28,8</b>	<b>53</b>	<b>51,0</b>

Средняя длительность наблюдения исследуемых больных составила  $33,3 \pm 0,2$  мес. Достоверно выше данный показатель был у пациенток с HER-2/neu(-) опухолью ( $38,6 \pm 3,7$  мес) по сравнению с больными, имеющими HER-2/neu(+) РЯ ( $29,9 \pm 2,6$  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 ( $25,3 \pm 1,0$  мес) был достоверно меньше, чем у пациенток с HER-2/neu(-) РЯ ( $35,5 \pm 0,6$  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	$35,5 \pm 0,6^*$	$38,9 \pm 0,6^*$	$34,1 \pm 0,6^*$
HER-2/neu(+)	64	61,5	$25,3 \pm 1,0$	$27,5 \pm 0,3$	$23,9 \pm 0,3$
HER-2/neu 2+	16	15,4	$25,6 \pm 1,1$	$24,8 \pm 1,1$	$24,8 \pm 1,1$
HER-2/neu 3+	22	21,1	$25,4 \pm 1,2$	$23,2 \pm 0,9$	$19,5 \pm 1,2$
HER-2/neu 4+	26	25,0	$25,0 \pm 0,7$	$35,1 \pm 0,8$	$24,7 \pm 0,7$
<b>Всего</b>	<b>104</b>	<b>100,0</b>	<b><math>29,2 \pm 0,2</math></b>	<b><math>30,1 \pm 0,2</math></b>	<b><math>29,2 \pm 0,2</math></b>

\* $p < 0,05$  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

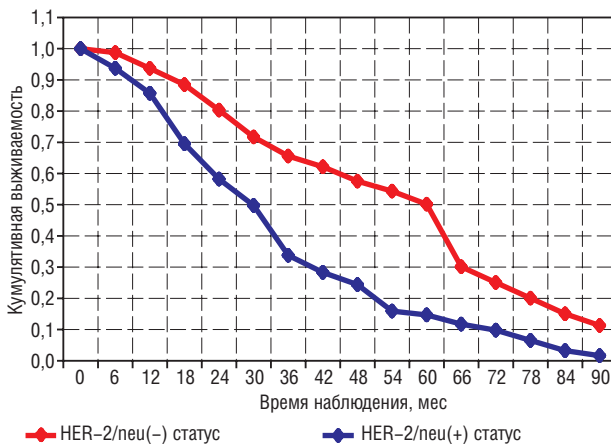


Рис. 2. ОВ больных серозным РЯ с HER-2/neu(+) и HER-2/neu(-). Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, log-rank критерий, p = 0,00015

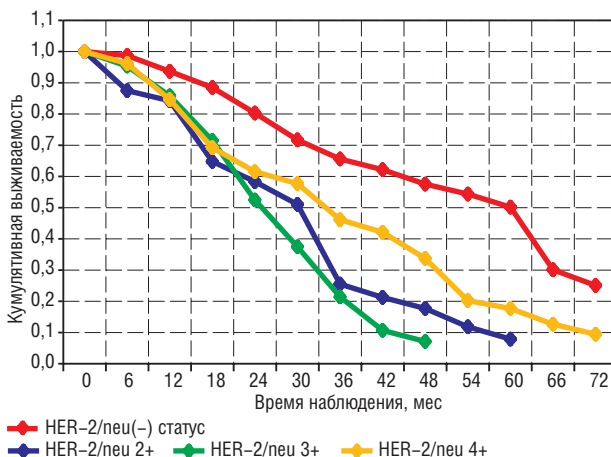


Рис. 3. ОВ больных серозным РЯ с различной степенью экспрессии HER-2/neu и HER-2/neu(-) статусом опухоли. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, χ² критерий, p = 0,0073

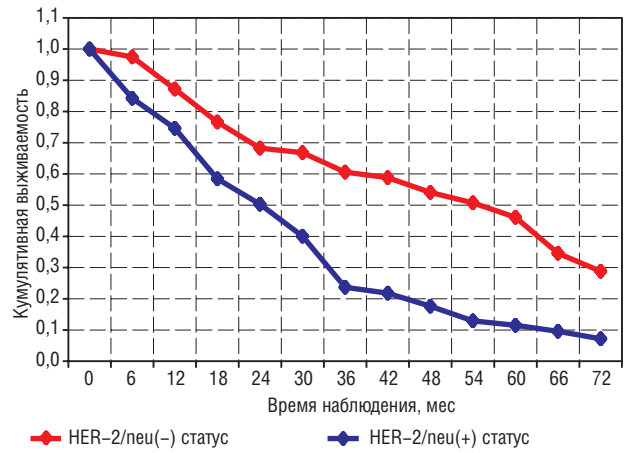


Рис. 4. БРВ больных серозным РЯ с HER-2/neu(+) и HER-2/neu(-). Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, log-rank критерий; p = 0,00010

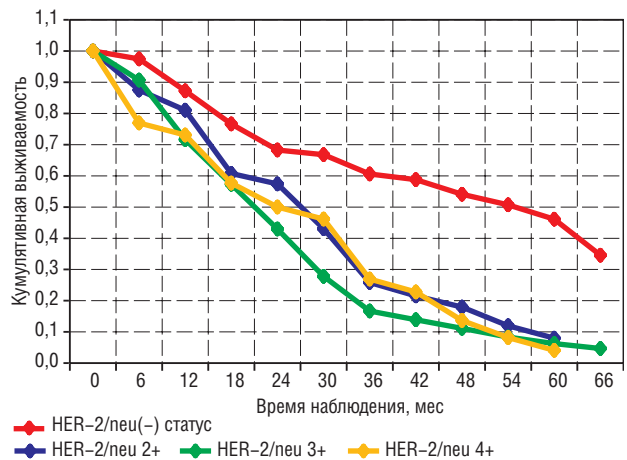


Рис. 5. БРВ больных серозным РЯ с различной степенью экспрессии HER-2/neu и HER-2/neu(-) статусом опухоли. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, χ² критерий, p = 0,0111

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			
			РЭ+		РЭ-		РП+		РП-		РТ+	РТ-		
n	%	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.

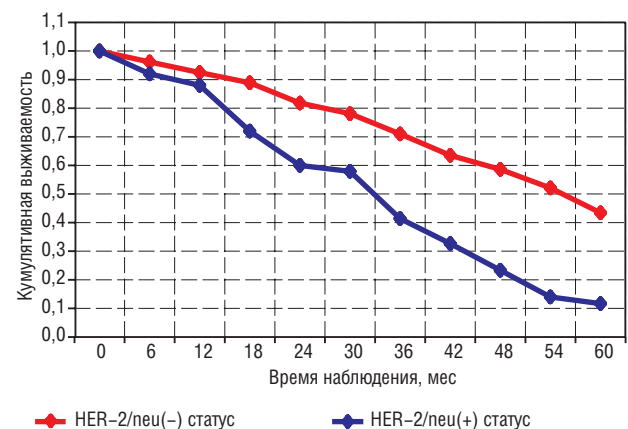
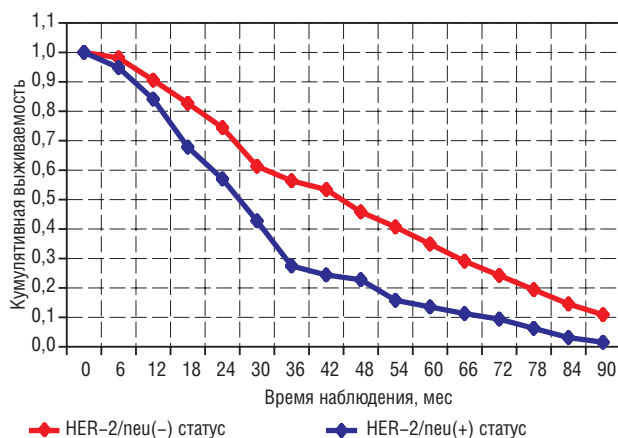
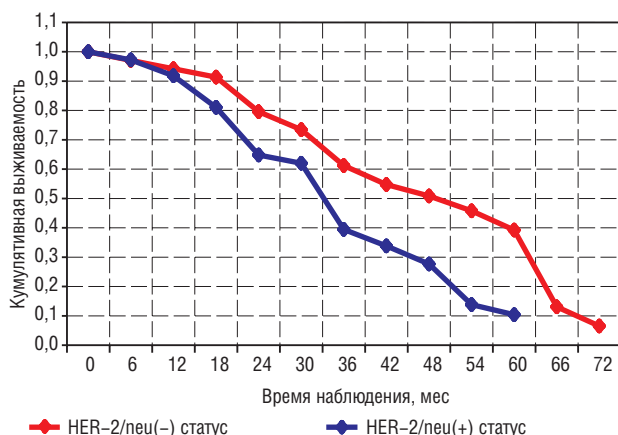


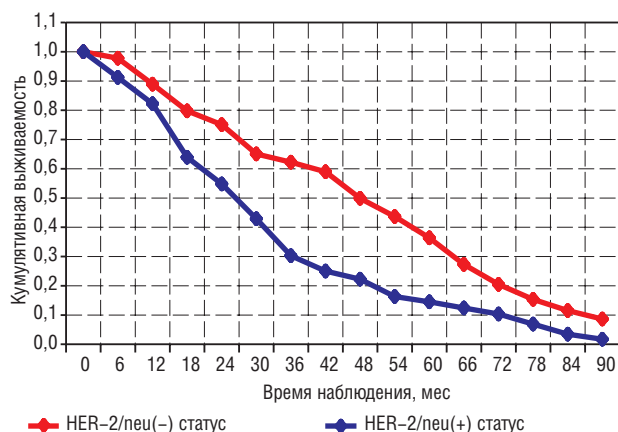
Рис. 6. ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/neu статусом при отсутствии экспрессии РЭ. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, log-rank критерий,  $p = 0,00071$



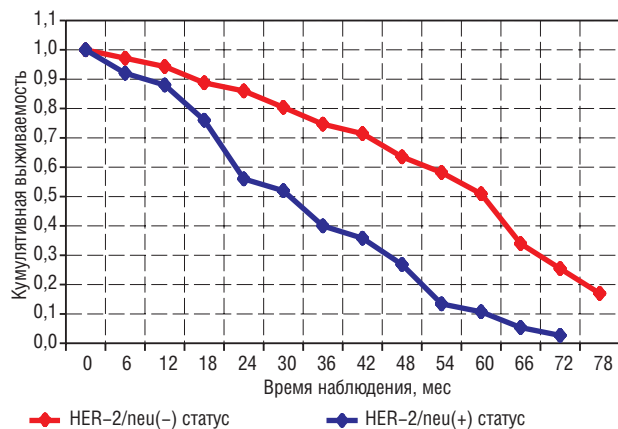
**Рис. 7.** ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/neu статусом при наличии экспрессии РЭ. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, *log-rank* критерий,  $p = 0,00875$



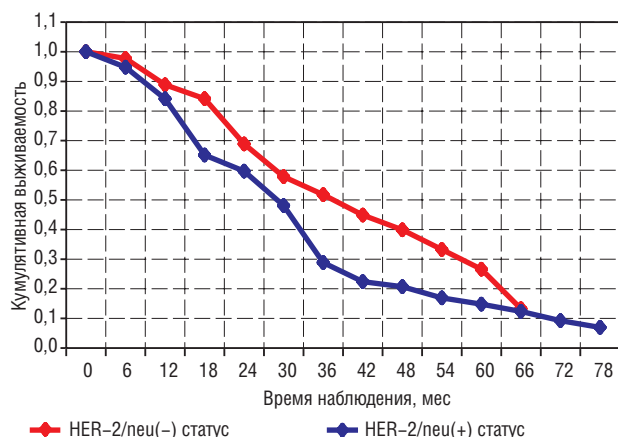
**Рис. 8.** ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/neu статусом при отсутствии экспрессии РП. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, *log-rank* критерий,  $p = 0,01869$



**Рис. 9.** ОВ больных серозным РЯ с различным HER-2/neu 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/neu 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/neu 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/neu у больных серозным РЯ. По данным литературы, гиперэкспрессия HER-2/neu 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/neu(+) 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/neu отмечена у больных муцинозным РЯ [23, 33]. Имеются сведения и о том, что HER-2/neu статус не зависит от гистотипа РЯ [17, 35].

Результатами исследования установлена ранговая корреляционная связь между экспрессией HER-2/neu 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		p
		ниж-ний	верх-ний	
<b>ОВ</b>				
HER-2/neu(+) и HER-2/neu(-)	1,41*	1,06	1,98	0,004
HER-2/neu(+) PЭ+ и HER-2/neu(+) PЭ-	1,38	0,95	1,46	0,194
HER-2/neu(+) PП+ и HER-2/neu(+) PП-	1,04	0,79	1,25	0,294
HER-2/neu(+) PТ+ и HER-2/neu(+) PТ-	1,71*	1,47	2,01	0,047
HER-2/neu(-) PТ+ и HER-2/neu(-) PТ-	1,91*	1,58	2,46	0,019
HER-2/neu(+) PТ+ и HER-2/neu(-) PТ+	1,04	0,54	1,67	0,296
<b>БРВ</b>				
HER-2/neu(+) и HER-2/neu(-)	1,75*	1,12	2,44	0,003
HER-2/neu(+) PЭ+ и HER-2/neu(+) PЭ-	1,35	0,87	1,78	0,153
HER-2/neu(+) PП+ и HER-2/neu(+) PП-	1,24	0,95	1,67	0,244
HER-2/neu(+) PТ+ и HER-2/neu(+) PТ-	1,92*	1,57	2,34	0,037
HER-2/neu(-) PТ+ и HER-2/neu(-) PТ-	2,27*	1,95	3,44	0,003
HER-2/neu(+) PТ+ и HER-2/neu(-) PТ+	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(-), PЭ и PП), 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, предположив, что сигналы этого рецептора блокируют тирозинкиназный сигнальный путь [37].

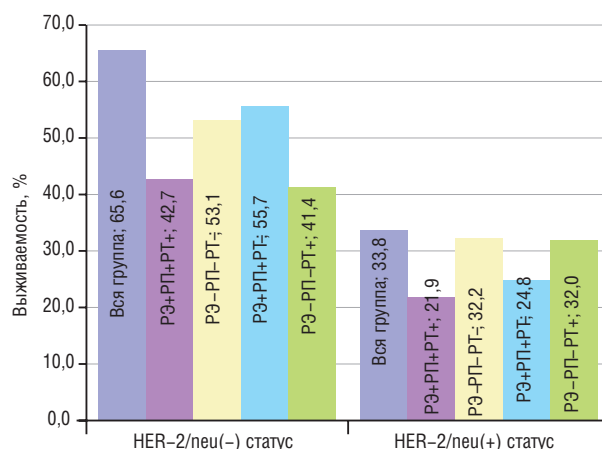


Рис. 12. 3-летняя ОВ больных серозным РЯ в зависимости от HER-2/neu статуса и СГР опухоли

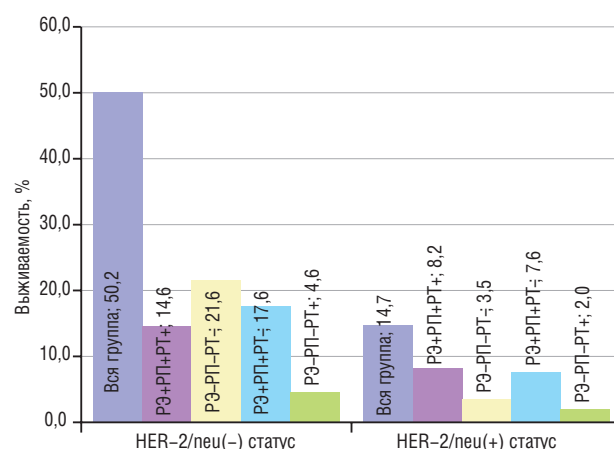


Рис. 13. 5-летняя ОВ больных серозным РЯ в зависимости от HER-2/neu статуса и СГР опухоли

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, Свиницкий 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. **Ktalia 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. **Урманчева 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, Зоотов 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, Паляниди 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, Тумилович 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. Урманчеева 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 immunopositivity 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