

О.Д. Рябцева¹
С.В. Антіпова²
Н.Ю. Лук'янова¹
М.А. Надірашвілі³
Л.З. Поліщук¹
В.Ф. Чехун¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

²Луганський державний медичний університет

³Луганський обласний клінічний онкологічний диспансер, Луганськ, Україна

Ключові слова: рак яєчника, цитоморфологія, гетерогенність, CD44, Ki-67, молекулярний фенотип, виживаність.

ІНДИВІДУАЛЬНИЙ ПРОГНОЗ ВИЖИВАНOSTІ ХВОРИХ З УРАХУВАННЯМ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА АДГЕЗІЇ ПУХЛИННИХ КЛІТИН У ХВОРИХ НА СЕРОЗНИЙ РАК ЯЄЧНИКА

Мета дослідження: провести імуногістохімічне дослідження експресії маркерів адгезії CD44s і проліферації Ki-67 у клітинах серозного раку яєчника (РЯ) та оцінити їх клінічне значення. **Об'єкт і методи:** операційний матеріал 102 хворих (середній вік $59,3 \pm 3,7$ року) на серозний РЯ I–III стадії. Використано клінічні, морфологічний, імуногістохімічний, статистичні методи дослідження. **Результати:** усі пухлини мали будову серозної аденокарциноми з різною часткою папілярного компонента і солідних структур, варіабельністю атипії та поліморфізму пухлинних клітин. Виділено високо-, помірно- і низькодиференційовані форми РЯ і пухлини з низьким і високим ступенем морфологічної злякисності. Встановлено міжпухлинну гетерогенність РЯ за експресією маркерів Ki-67 і CD44. Кількість пухлин з високою експресією Ki-67 ($> 10\%$) і CD44 ($> 10\%$) була достовірно більшою у хворих на РЯ низького ступеня диференціювання і високого ступеня морфологічної злякисності. Виділено молекулярні фенотипи пухлинних клітин РЯ: CD44⁺ Ki-67⁺, CD44⁺ Ki-67⁻, CD44⁻ Ki-67⁺, CD44⁻ Ki-67⁻ та показана варіабельність загальної виживаності хворих залежно від молекулярного фенотипу пухлинних клітин. **Висновки:** для індивідуалізованого лікування і предиктивної оцінки у хворих на серозний РЯ необхідна стратифікація пухлин не тільки за морфологією, ступенем диференціювання і злякисності, але й за молекулярним фенотипом, який відображає основні потенції пухлини до росту і метастазування.

ВСТУП

Серед новоутворень органів жіночої репродуктивної системи серозний рак яєчника (РЯ) характеризується найбільш агресивним клінічним перебігом із частими рецидивами у межах малого таза і черевної порожнини. На прогноз перебігу РЯ впливають клінічні та морфологічні чинники, а саме стадія захворювання, обсяг циторедукції, ступінь диференціювання пухлини та вік хворої. Клінічний розподіл РЯ тільки за стадією не завжди дозволяє чітко оцінити прогноз перебігу захворювання та призначити адекватне лікування. Це пояснюється тим, що в одну стадію об'єднують пухлини з різною морфологією, неоднаковим ступенем диференціювання та злякисності. Саме ці особливості пухлин зумовлюють різний потенціал до росту і розповсюдження неопластичних клітин за межі яєчника з подальшим розвитком імплантаційних метастазів [1, 2].

Численними дослідженнями пухлин різного генезу встановлено, що варіабельність клінічного перебігу пов'язана як з етіопатогенезом раку, так і більш пізніми змінами експресії генів і молекулярним фенотипом пухлинних клітин [3–7], з якими пов'язують між- та інтрапухлинну гетерогенність

останніх [8]. Так, на клітинних лініях раку молочної залози (PM3) (MDA-MB-468), нирки (CAKI2), товстої кишки (HCT116), легені (COR-L23), яєчника (OVCAR3, SKOV3, CAOV3, A2780) показана між- та інтрапухлинна гетерогенність таких маркерів, як CD44 і CD24 [9]. Гетерогенність експресії VEGFR-2 відзначена не тільки в клітинах пухлин однакового генезу (гліоми), але й різних зонах однієї пухлини (центральна, периферія, біля осередків некрозу) [10]. Дослідження молекулярного фенотипу в інвазійних фокусах мультифокальних карцином молочної залози залежно від їх розміру, морфології, ступеня диференціювання показало, що гетерогенність може бути наявною в ідентичних за морфологією пухлинних фокусах [11]. Проте клінічне значення між- та інтрапухлинної гетерогенності та її ролі у прогресуванні пухлинного росту вивчено недостатньо, що диктує необхідність проведення подальших досліджень у цьому напрямі. Актуальність проблеми повною мірою стосується РЯ, для якого характерні часті рецидиви, що є ознакою пухлинного прогресування [2].

Кардинальна роль у прогресуванні пухлиною хвороби різного генезу, у тому числі й РЯ, належить та-

ким біологічним процесам, як проліферація та адгезія, зміни яких призводять до збільшення кількості пухлинних клітин, порушення їх зв'язку та інвазії в оточуючі тканини. Молекулярним маркером проліферації є ядерний антиген Ki-67, роль якого у темпах росту та агресивності клінічного перебігу пухлин різного генезу показана у багатьох публікаціях [12, 13]. Не менш важливе значення у процесах інвазії та метастазування належить молекулі CD44s — багатофункціональному трансмембранному протеїну, рецептору гіалуронової кислоти [9]. CD44s залучається у міжклітинні зв'язки, модифікацію клітинно-матриксних взаємодій і бере участь у багатьох сигнальних каскадах, пов'язаних із диференціюванням, проліферацією, міграцією, апоптозом клітин [14, 15]. В одній із робіт [16] наголошено, що порушення міжклітинної адгезії лежить в основі розвитку метастазів і є біологічним маркером пухлинного росту.

Особливістю молекули CD44 є її експресія в ракових стовбурових клітинах (cancer stem cells — CSC) і клітинах, що ініціюють пухлинний ріст (tumor-initiating cell — TIC), які виявляють у новоутвореннях різного генезу. За даними літератури, CSC/TIC характеризуються підвищеним потенціалом до проліферації, міофібробластоподібними та інвазійними властивостями, здатністю до дисоціації, утворення сфероїдів в асцитній рідині та перебування протягом тривалого часу в спокої за умов гіпоксії [17, 18]. CSC/TIC у популяції клітин РЯ визначають за рядом маркерів (CD44, CD117, CD133, CD24) або їх комбінацій [19]. Привертає увагу те, що превалювання CSC у пухлинах асоціюється з інвазійним фенотипом клітин та рецидивами пухлинного процесу навіть на ранніх стадіях РЯ [20].

У зв'язку з інтенсифікацією молекулярно-біологічних досліджень в онкології все більше уваги приділяють вивченню не лише окремих молекулярних маркерів пухлинного росту, але й їх комбінацій. Такий підхід використовують, наприклад, при прогнозуванні перебігу РМЗ. Виділено декілька молекулярних фенотипів РМЗ залежно від експресії рецепторів естрогенів, прогестерону та епідермального фактора росту і досліджено їх роль в індивідуальному прогнозі пухлинної хвороби та персоналізації лікування [21]. Виділення певних молекулярних фенотипів пухлинних клітин у хворих на РЯ також є актуальним, але нерозробленим питанням.

Мета роботи — провести імуногістохімічне дослідження експресії маркерів адгезії (CD44s) і проліферації (Ki-67) у клітинах серозного РЯ та оцінити їх клінічне значення.

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження включено 102 пацієнти із серозним РЯ I—III стадії, яким до хірургічного лікування не проводили неoad'ювантну поліхіміотерапію. Після хірургічного лікування хворим призначали ад'ювантну поліхіміотерапію за схемами CAP

і CP. Усі пацієнти були поінформовані та дали згоду на використання зразків їхніх пухлин у дослідницьких цілях. Розповсюдженість пухлинного процесу оцінювали згідно з класифікацією FIGO (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique). При морфологічному дослідженні операційного матеріалу оцінювали гістологічну структуру пухлин, ступінь диференціювання, а також ступінь морфологічної злоякісності відповідно до структурних та цитоморфологічних критеріїв [21]. Імуногістохімічне дослідження (стрептавідин-біотин-пероксидазний метод) експресії маркерів Ki-67, CD44s проведено на гістологічних зрізах (4 мкм) парафінових блоків операційного матеріалу, фіксованого у 10% розчині нейтрального формаліну. Як первинні використовували моноклональні антитіла (МкАТ), специфічні до Ki-67 (clone MIB-1, «Dako Cytomation», Данія) та CD44s (clone DF 1485, «Dako Cytomation», Данія). Для візуалізації результатів реакції використовували набір реактивів EnVision+ та 3,3-діамінобензидин («Dako LSAB2 system», Данія) відповідно до рекомендацій виробника; зрізи забарвлювали гематоксиліном Мейера. Для оцінки експресії Ki-67 використовували напівкількісний метод: кількість Ki-67+ (Ki-67-позитивних) клітин на 1000 проаналізованих вважали індексом проліферації (ІП, %). Визначали також ступінь забарвлення ядер — високий (+++), помірний (++) , низький (+). Керуючись даними літератури [23] про те, що навіть на ранніх стадіях РЯ кількість Ki-67-позитивних клітин (за умови використання МкАТ MIB-1) є предиктором рецидиву, пухлини з ІП > 10% та високим/помірним ступенем забарвлення ядер вважали пухлинами з високою проліферацією. Експресію CD44s (далі — CD44) оцінювали, аналізуючи весь гістологічний зріз як фракцію позитивно забарвлених клітин (%). Експресію CD44 > 10% вважали високою, також враховуючи тільки високий і помірний ступінь забарвлення клітин. Негативний контроль ставили шляхом виключення первинних МкАТ. Лімфоцити у гістологічних зрізах використовували як позитивний контроль для детекції експресії CD44. Експресію маркерів аналізували при збільшенні мікроскопа $\times 200$ –400.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням стандартного пакета програм Statistika 6,0. Для визначення достовірності змін частоти пухлин із різною експресією маркерів залежно від стадії РЯ, ступеня диференціювання і злоякісності пухлин розраховували критерій χ^2 , ступінь достовірності та коефіцієнт відповідності Пірсона. Вживаність хворих оцінювали за методом Каплана — Мейера з використанням log-rank тесту. Достовірними вважали значення при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз загальної клінічної характеристики 102 хворих на РЯ I—III стадії показав, що їхній середній вік коливався від 28 до 75 років і становив у середньому $59,3 \pm 3,7$ року; у 61,8% хворих була

менопауза. У 81,4% пацієнтів діагностовано РЯ II і III стадії; усі пухлини мали будову серозної аденокарциноми з різною часткою папілярного компонента й солідних структур, варіабельністю атипії та поліморфізму пухлинних клітин. Враховуючи ці критерії, в аналізованому матеріалі виділено високо-, помірно- і низькодиференційовані форми РЯ, серед яких переважали помірнодиференційовані (52,0%). Кількість хворих із низькодиференційованим РЯ становила 30,4%, із високодиференційованим — 17,6%. Для оцінки ступеня злоякісності РЯ проведено оцінку пухлин за такими параметрами: взаємовідношення залозистих і солідних структур, гетерогенність морфології пухлини у різних її зонах, атипія та поліморфізм пухлинних клітин, характер росту (солідні/залозисті осередки, кластери, скупчення клітин, окремі клітини), наявність мітозів, осередків некрозу, кальцинатів. На підставі цього виділено пухлини з низьким і високим ступенями злоякісності, які становили відповідно 38,2 і 61,8% (табл. 1). Наведені дані свідчать про міжпухлинну гетерогенність серозного РЯ не тільки за ступенем диференціювання, але й ступенем злоякісності, в основу оцінки якої покладено цитоморфологічні дані.

Таблиця 1

Загальна клінічна характеристика хворих на РЯ

Показники	Кількість хворих	
	п	%
Усього	102	100,0
Менструальний цикл		
Збережений	39	38,2
Менопауза	63	61,8
Стадія за FIGO		
I	19	18,6
II	35	34,3
III	48	47,1
Ступінь диференціювання		
Високий G1	18	17,6
Помірний G2	53	52,0
Низький G3	31	30,4
Ступінь морфологічної злоякісності		
Низький	39	38,2
Високий	63	61,8

Результати імуногістохімічного дослідження показали, що індивідуальні показники експресії Ki-67 в пухлинах коливалися від 2 до 76% (середній ІП — $45,0 \pm 4,7\%$), CD44 — від 0,0 до 67,5% (середній показник — $52,0 \pm 3,1\%$). Наведене свідчить про міжпухлинну гетерогенність експресії цих маркерів, що стало підставою для їх розгляду залежно від розповсюдженості пухлинного процесу, ступеня диференціювання і морфологічної злоякісності РЯ. Як свідчать дані табл. 2, експресія Ki-67 > 10% відзначена при різній розповсюдженості РЯ: кількість Ki-67+ пухлин у хворих на РЯ I стадії становила 47,4%, збільшувалася при II і III стадіях відповідно до 54,3 і 54,2%, але достовірна різниця не відзначена ($p > 0,05$). Водночас частота пухлин з експресією цього маркера залежала від ступеня їх диференціювання: χ^2 при порівнянні з

кількістю Ki-67 пухлин високого і низького ступеня диференціювання становив 7,51 ($p = 0,00617$, $r = 0,36$). Достовірна відмінність відзначена також при аналізі частоти пухлин з експресією Ki-67 залежно від ступеня їх морфологічної злоякісності ($\chi^2 = 8,7$; $p = 0,00318$; $r = 0,30$).

Таблиця 2

Розподіл пухлин (n = 102) з позитивною експресією Ki-67 і CD44 залежно від клініко-морфологічних характеристик

Клініко-морфологічні показники	Кількість хворих, n/%	Кількість пухлин з експресією маркерів, n/%			
		Ki-67		CD44	
		Ki-67(+)	Ki-67(-)	CD44(+)	CD44(-)
Стадія пухлинного процесу					
I	19/18,6	9/47,4	10/52,6	10/52,6	9/47,4
II	35/34,3	19/54,3	16/45,7	20/57,6	15/42,4
III	48/47,1	26/54,2	22/45,8	28/58,3	20/41,7
Ступінь диференціювання					
Високий	18/17,6	11/61,1*	7/38,9	10/55,5*	8/44,5
Помірний	53/52,0	30/56,6	23/43,4	29/54,7	24/45,3
Низький	31/30,4	20/64,5	11/35,5	21/67,7	10/32,3
Ступінь морфологічної злоякісності					
Низький	39/38,2	30/58,9**	9/41,1	30/76,9**	9/23,1
Високий	63/61,8	39/61,9	24/30,1	56/88,8	7/11,2

Примітка: * достовірна різниця між високим і низьким ступенем диференціювання; ** достовірна різниця між низьким і високим ступенем морфологічної злоякісності.

Подібні дані про підвищення експресії Ki-67 зі зростанням стадії пухлинного процесу наведено у роботі [24], автори якої вважають високу експресію Ki-67 ознакою агресивності та несприятливого прогнозу РЯ. В одному з останніх досліджень [13] на великій вибірці матеріалу (808 хворих з онкологічною патологією яєчника) також встановлено суттєве клінічне значення експресії Ki-67. Використовуючи критерій оцінки експресії Ki-67 > 10% (як і у нашому дослідженні), автори з'ясували, що частота експресії цього маркера у РЯ достовірно підвищується з розповсюдженням пухлинного процесу, зниженням ступеня диференціювання, а також пов'язана зі зменшенням тривалості життя хворих.

Аналіз кількості пухлин з експресією CD44 не виявив достовірних змін останньої залежно від стадії пухлинного процесу ($p > 0,05$). Разом із тим, незважаючи на значну гетерогенність показників, визначено, що достовірно більша кількість пухлин з експресією CD44 була у хворих із низьким ступенем диференціювання і високим ступенем злоякісності: $\chi^2 = 14,5$ ($p < 0,00157$; $r = 0,56$), $\chi^2 = 19,4$ ($p < 0,00157$; $r = 0,42$) відповідно (див. табл. 2).

Одержані результати свідчать про значну міжпухлинну гетерогенність експресії досліджених молекулярних маркерів, що може бути зумовлена складними механізмами адгезії клітин та їх порушеннями при рості пухлин різного ступеня диференціювання, а також особливостями мікрооточення пухлин. Підтвердженням цього є факт, що CD44 взаємодіє з рецепторами гіалуронової кислоти та протеїнами екстрацелюлярного матриксу (колаген, фібронектин та ін.) і функціонує як біоактивний сигнальний пе-

редавач (bioactive signaling transmitter) [25], що бере участь не тільки у міжклітинній адгезії, а й у міграції та інвазії пухлинних клітин. З порушеннями адгезії пухлинних клітин пов'язане формування окремих кластерів і сфероїдних структур в асцитній рідині, які сприяють розповсюдженню РЯ по черевній порожнині з подальшою проліферацією клітин [26]. Формування таких кластерів та окремих скупчень пухлинних клітин з експресією CD44 відзначено нами в окремих осередках первинного РЯ [22].

Як зазначалося вище, нині в онкологічній клінічній практиці для прогнозування агресивності пухлинного процесу і виживаності хворих на РМЗ визначають молекулярний фенотип клітин, який включає декілька молекулярних маркерів, а саме рецептори естрогенів, прогестерону, епідермального фактора росту (маркер HER2/neu) [27–29]. Зокрема показано [27], що 5-річна виживаність хворих на РМЗ залежить від молекулярного фенотипу і становить 96; 88; 81; 89 та 85% відповідно при люмінальному А, люмінальному В, HER2+, базальноклітинному і некласифікованому фенотипах. Аналогічно, враховуючи результати власного дослідження і дані літератури про суттєве значення імуногістохімічних маркерів для діагностики ступеня злоякісності та агресивності злоякісних пухлин яєчника, цілком можливо припустити наявність молекулярних фенотипів і у серозному РЯ, які включали б маркери проліферації та міжклітинної адгезії. На основі аналізу експресії CD44 та Ki-67 у хворих на серозний РЯ нами виділено такі його молекулярні фенотипи: CD44⁺ Ki-67⁺ (n = 30; 29,5%), CD44⁺ Ki-67⁻ (n = 28; 27,4%), CD44⁻ Ki-67⁺ (n = 24; 23,5%), CD44⁻ Ki-67⁻ (n = 20; 19,6%), що були покладені в основу розрахунку загальної виживаності хворих (рисунок). Як видно з наведених даних, між виживаністю хворих із різними молекулярними фенотипами існує різниця, яка виявилася достовірною (p < 0,05) при порівнянні кривих виживаності хворих із молекулярним фенотипом пухлин CD44⁺ Ki-67⁺ та CD44⁻ Ki-67⁻. Одержані результати свідчать, що кожний молекулярний фенотип, очевидно, відображає неоднакові біологічні особливості пухлин.

Разом із тим слід відзначити, що виживаність хворих на серозний РЯ залежить від комплексу факторів. До них можна зарахувати не тільки молекулярний фенотип пухлини, але й інші чинники, а саме резистентність РЯ до цитостатиків, особливості мікрооточення пухлини, імунний статус організму хворої. Незважаючи на таку багатофакторність прогнозу, сьогодні все більше авторів схиляються до думки про роль у перебігу РЯ молекулярної між- та інтрапухлинної гетерогенності. Кожна пухлина — це непередбачуваний феномен із плейотропізмом молекулярних шляхів [30], структурною, фенотипічною і функціональною гетерогенністю як пухлинних клітин, так і пухлини в цілому [31, 32].

Певний внесок у між- та інтрапухлинну гетерогенність робила і молекула міжклітинної адге-

зії CD44 як маркер стовбурових клітин, з якими пов'язане прогресування пухлинного росту. Так, у серозному РЯ клітини яєчника з підвищеною експресією CD44 були визнані туморогенними (ovarian cancer-initiating cells — OCIC), на відміну від клітин без експресії цього маркера [33]. Туморогенні клітини яєчника з фенотипом CD44⁺/CD117⁺ характеризуються високою проліферацією, низьким ступенем диференціювання і резистентністю до хіміопрепаратів [34]. При дослідженні РМЗ показано, що різна туморогенність пухлинних клітин, зумовлена їх фенотипічним і функціональним поліморфізмом, може бути причиною різної експресії базових маркерів цієї пухлини (рецептори естрогенів, прогестерону, рецептор HER2/neu) у первинному новоутворенні та метастазах у одних і тих самих хворих [35].

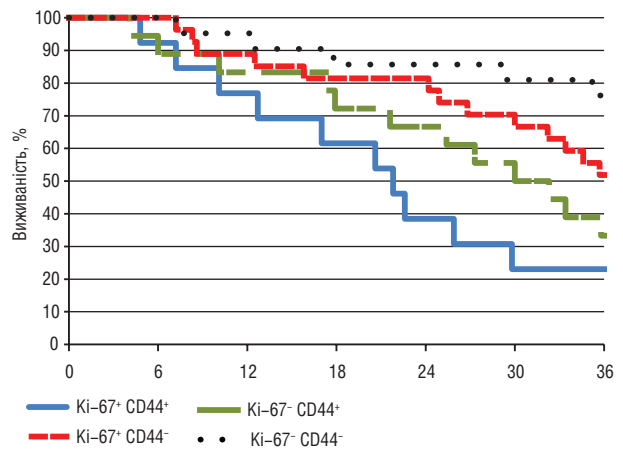


Рисунок. Загальна виживаність хворих на РЯ (оцінка за Капланом — Мейером) залежно від молекулярного фенотипу пухлин (p < 0,05 між кривими виживаності хворих із фенотипами CD44⁺ Ki-67⁺ та CD44⁻ Ki-67⁻)

Одержані дані також вказують на те, що молекула адгезії CD44 може бути перспективною мішенню для розробки нових таргетних препаратів проти пухлинної терапії. На користь цього свідчить дослідження, в якому показано, що miR-199a специфічно регулює експресію CD44 у CD44⁺/CD117⁺ пухлинах яєчника (TIC), супресуючи проліферацію, міграцію та інвазію цих клітин, і може запобігати подальшому розвитку РЯ [34]. Усе вищевикладене підкреслює суттєве значення гетерогенності молекулярного фенотипу серозного РЯ, знання про який можна використовувати для розробки нових підходів до персоналізованої терапії хворих на РЯ та оцінки індивідуального прогнозу хвороби.

ВИСНОВКИ

1. Результати імуногістохімічного дослідження експресії маркерів проліферації Ki-67 і міжклітинної адгезії CD44 у серозному РЯ свідчать про їх значну міжпухлинну гетерогенність.

2. Показано достовірне збільшення кількості пухлин із вищою експресією Ki-67 і CD44 при низькому ступені диференціювання і високому ступені морфологічної злоякісності РЯ.

3. В аналізованому матеріалі виділено молекулярні фенотипи пухлинних клітин CD44⁺ Ki-67⁺, CD44⁺ Ki-67⁻, CD44⁻ Ki-67⁺, CD44⁻ Ki-67⁻ і встановлено залежність загальної виживаності хворих на серозний РЯ від молекулярного фенотипу.

4. Для предиктивної оцінки індивідуального прогнозу у хворих на серозний РЯ необхідна стратифікація пухлин не тільки за морфологією, ступенем диференціювання і морфологічної злоякісності пухлин, але й за молекулярним фенотипом, який відображає основні потенції пухлини до росту і метастазування.

5. Знання молекулярного фенотипу РЯ є підґрунтям для розробки принципів персоналізованої терапії хворих. Молекула міжклітинної адгезії CD44 може бути перспективною мішенню для розробки нових таргетних препаратів протипухлинної терапії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Винокуров ВЛ.** Рак яєчників: закономірності метастазування и выбор адекватного лечения больных. СПб.: Фолиант, 2004. 336 с.
2. **Свінціцький ВС.** Комплексне лікування хворих на злоякісні пухлини яєчника: Автореф дис.... д-ра мед наук: спец. 14.01.07. Київ, 2010. 40 с.
3. **Осинский СП, Глузман ДФ, Клифф Й и др.** Молекулярная диагностика опухолей. Киев, 2007. 246 с.
4. **Имянитов ЕН, Хансон КП.** Молекулярная онкология: клинические аспекты. СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2007. 211 с.
5. **Kurman RJ, Shih IM.** Pathogenesis of ovarian cancer: lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications. *Int J Gynecol Pathol* 2008; **27** (2): 151–60.
6. **Ota T, Klausen C, Salamanca MC, et al.** Expression and function of HOXA genes in normal and neoplastic ovarian epithelial cells. *Differentiation* 2009; **77** (2): 162–71.
7. **Lorico A, Rappa G.** Phenotypic Heterogeneity of Breast Cancer Stem Cells. *J Oncol* 2011; Article ID 135039, 6 pages. doi:10.1155/2011/135039.
8. **Diaz-Cano SJ, Diaz-Cano SJ.** Tumor heterogeneity: mechanisms and bases for a reliable application of molecular marker design. *Int J Mol Sci* 2012; **13** (2): 1951–2011.
9. **Jaggupilli A, Elkord I E.** Significance of CD44 and CD24 as Cancer Stem Cell Markers: An Enduring Ambiguity. *Clin Develop Immunol* 2012; Article ID 708036 (<http://dx.doi.org/10.1155/2012/708036>).
10. **Chen F, Zhang Y, Cai W.** Molecular MRI of VEGFR-2 reveals intra-tumor and inter-tumor heterogeneity. *Amer J Nucl Med Vol Imaging* 2013; **3** (4): 312–6.
11. **Pekar G, Gere M, Tarjan M, et al.** Molecular phenotype of the foci in multifocal invasive breast carcinomas Article first published online: 11 OCT 2013 DOI: 10.1002/cncr.28375.
12. **Aune G, Stunes AK, Tingulstad S, et al.** The proliferation markers Ki-67/MIB-1, phosphohistone H3, and survivin may contribute in the identification of aggressive ovarian carcinomas. *Int J Clin Exp Pathol* 2011; **4** (5):444–53.
13. **Heeran MC, Høgdall CK, Kjaer SK, et al.** Prognostic value of tissue protein expression levels of MIB-1 (Ki-67) in Danish ovarian cancer patients. «MALOVA» ovarian cancer study. *APMIS*. 2013 (doi: 10.1111/apm.12071).
14. **Hao J, Madigan MC, Khatri A, et al.** *In vitro* and *in vivo* prostate cancer metastasis and chemoresistance can be modulated by expression of either CD44 or CD147. *PLoS One* 2012; **7** (8): e40716, 18.
15. **Ko YH, Won HS, Jeon EK, et al.** Prognostic significance of CD44s expression in resected non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2011; **7** (11): 340.
16. **Zhou DX, Liu YX, Ya-Hong.** Research Expression of CD44v6 and its association with prognosis in epithelial ovarian carcinomas. *Pathol Res Internat* 2012; Article ID 908206, doi:10.1155/2012/908206.
17. **Tirino V, Desiderio V, Paino F, et al.** Cancer stem cells in solid tumors: an overview and new approaches for their isolation and characterization. *FASEB Journal* 2011; **27**(1): 13–24.
18. **Bapat SA, Mali AM, Koppikar CB, et al.** Stem and Progenitor-Like Cells Contribute to the Aggressive Behavior of Human Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer Res* 2005; **65**: 3025 (doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3931).
19. **Kwon NJ, Shin YK.** Regulation of ovarian cancer stem cells or tumor-initiating cells. *Int J Mol Sci* 2013; **14**: 6624–48 (doi 10.1039/ijms 14046624).
20. **Steffensen KD, Alvero AB, Yang Y, et al.** Prevalence of epithelial ovarian cancer stem cells correlates with recurrence in early-stage ovarian cancer. *J Oncol* 2011; **6**: 205–23.
21. **Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al.** Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 10869–10874.
22. **Поліщук ЛЗ, Лук'янова НЮ, Рябцева ОД, Чехун ВФ.** Оцінка ступеня злоякісності серозного раку яєчника з урахуванням експресії VEGF та Ki-67 у пухлинних клітинах. *Онкологія* 2012; **14** (4): 265–71.
23. **Münstedt K, von Georgi R, Franke FE.** Correlation between MIB1-determined tumor growth fraction and incidence of tumor recurrence in early ovarian carcinomas. *Cancer Invest* 2004; **22** (2): 185–94.
24. **Choudhury M, Goyal S, Pujani M.** A cytohistological study of Ki-67 expression in ovarian tumors. *Pathol Microbiol* 2011; **54** (1): 21–24.
25. **Ouhitit A, Abd Elmageed ZY, Abdraboh ME, et al.** *In vivo* evidence for the role of CD44s in promoting breast cancer metastasis to the liver. *Amer J Pathol* 2007; **171** (6): 2033–2039.
26. **Sodek KL, Ringuette MJ, Brown TJ.** Compact spheroid formation by ovarian cancer cells is associated with contractile behavior and an invasive phenotype. *Int J Cancer* 2009; **124** (9): 2060–70.
27. **Dawood S, Hu R, Homes MD, et al.** Defining breast cancer prognosis based on molecular phenotypes: results from a large cohort study. *Breast Cancer Res Treat* 2011; **126** (1): 185–92.
28. **Li ZS, Yao L, Liu YQ, et al.** Breast cancer subtypes and survival in chinese women with operable primary breast cancer. *Chin J Cancer Res* 2011; **23** (2): 134–9.
29. **Pracella D, Bonin S, Barbazza R, et al.** Are breast cancer molecular classes predictive of survival in patients with long follow-up? *Dis Markers* 2013; **35** (6): 595–605.
30. **Diaz-Cano SJ, Diaz-Cano SJ.** Tumor heterogeneity: mechanisms and bases for a reliable application of molecular marker design. *Int J Mol Sci* 2012; **13** (2): 1951–2011.
31. **Meacham CE, Morrison SJ.** Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature* 2013; **501**: 328–37 (doi:10.1038/nature12624).
32. **Nassar A, Radhakrishnan A, Cabrero I, et al.** Intratumoral heterogeneity of immunohistochemical marker expression in breast carcinoma: A tissue microarray-based study. *Applied Immunohistochem Mol Morphol* 2010; **18** (5): 433–41.
33. **Zhang S, Balch C, Chan MW, et al.** Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res* 2008; **68** (11): 4311–20.
34. **Cheng W, Liu T, Wan X, et al.** MicroRNA-199a targets CD44 to suppress the tumorigenicity and multidrug resistance of ovarian cancer-initiating cells. *FEBS J* 2012; **279** (11): 2047–59.
35. **Hoefnagel LDC, van der Groep P, van de Vijver MJ.** Discordance in ER α , PR and HER2 receptor status across different distant breast cancer metastases within the same patient. *Ann Oncology* 2013; **24** (12): 3017–3023.

INDIVIDUAL PROGNOSIS OF SEROUS OVARIAN CANCER SURVIVAL PATIENTS BASED ON ADHESION AND PROLIFERATION OF TUMOR CELLS

O.D. Ryabtseva, S.V. Antipova, N.Yu. Lukianova, M.A. Nadirashvili, L.Z. Polishchuk, V.F. Chekhun

Summary. *Aim* was to study expression of adhesion (CD44s) and proliferation (Ki-67) markers serous ovarian cancer cells by immunohistochemistry and to evaluate their clinical significance. **Material and methods:** 102 surgical specimens of stage I–III serous ovarian cancer (OC), mean age $59,3 \pm 3,7$. **Methods:** clinical, morphological, immunohistochemical, statistical. **Results:** All tumors had serous adenocarcinoma morphology with different quantity of papillar component and solid structures, atypic and polymorphic tumor cells. We allocated high-, moderate- and low-differentiated forms of OC, as well as tumors with low and high degree of morphological malignancy. We found the heterogeneity between OC tumors by expression of Ki-67 and CD44 proteins. Number of tumors with high expression of Ki-67 (> 10%) and CD44 (> 10%) was significantly higher in patients with poorly differentiated OC and high degree of morphological malignancy. We allocated the mo-

lecular phenotypes of OC tumor cells: CD44+/Ki-67+, CD44+/Ki-67-, CD44-/Ki-67+ and CD44-/Ki-67- and defined the dependence of patients' survival from the molecular phenotype of tumor cells. **Conclusions:** We defined intertumoral heterogeneity of OC by expression of CD44 and Ki-67 and variability of OC patients' overall survival periods, which depended from the tumor molecular phenotype. Stratification of tumors not only by morphology, degree of differentiation and malignancy, but also according to molecular phenotype is needed for individualized treatment and predictive prognosis of patients with serous OC, because it reflected the underlying potency of tumor to grow and form metastasis.

Key words: ovarian cancer, cytomorphology, heterogeneity, CD44, Ki-67, molecular phenotype, survival rate.

Адреса для листування:

Лук'янова Н.Ю.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: lu_na_u@rambler.ru

Одержано: 8.01.2014