

І.П. Несіна¹
 Н.П. Юрченко¹
 Н.М. Глущенко¹
 Л.А. Проскурня²
 Л.Г. Бучинська¹

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

²Національний інститут раку МОЗ України, Київ, Україна

Ключові слова: рак яєчника, сімейна історія раку, експресія біомолекулярних маркерів p53, BRCA1, Ki-67, щільність мікросудин, рецептори стероїдних гормонів.

МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СЕРОЗНОГО РАКУ ЯЄЧНИКА ХВОРИХ З АГРЕГАЦІЄЮ ПУХЛИННОЇ ПАТОЛОГІЇ У РОДОВОДАХ

Мета: дослідити експресію низки біомолекулярних маркерів у пухлинній тканині хворих на серозний рак яєчника (РЯ) з різним типом обтяженості родоводів онкологічною патологією. **Об'єкт і методи:** зразки операційного матеріалу 39 пацієнток із РЯ (середній вік $49,9 \pm 8,0$ року) з III–IV стадією пухлинного процесу; 24 хворі (I група) мали здорових родичів, 8 (II група) — агрегацію у родоводах раку молочної залози (РМЗ) і РЯ та 7 (III група) — агрегацію у родоводах раку ендометрія (РЕ) та раку органів шлунково-кишкового тракту (РОШКТ). Проведено імуногістохімічне дослідження білків p53, BRCA1, рецепторів естрогенів і прогестерону (ER і PR), маркера проліферуючих клітин — Ki-67 та щільності мікросудин. **Результати:** встановлено, що ядерна локалізація білка BRCA1 наявна у пухлинах 9 (23,7%) хворих зі спорадичними формами РЯ і 2 (5,3%) — з агрегацією у родоводах РЕ/РОШКТ та не виявлена у пухлинах пацієнток з накопиченням у сім'ях РЯ/РМЗ. Найбільшу кількість клітин з експресією p53 визначено у пухлинах хворих II групи ($48,8 \pm 2,5\%$) порівняно з новоутвореннями у хворих I ($34,6 \pm 1,4\%$) і III ($17,8 \pm 1,8\%$) груп. Частота пухлин з негативним рецепторним фенотипом (ER⁻ PR⁻) у I, II і III групах становила 33,3; 50,0 та 28,6%, середня кількість проліферуючих клітин — $25,9 \pm 1,4$; $32,2 \pm 2,7$ і $33,1 \pm 2,8\%$ відповідно. Щільність мікросудин у відповідних пухлинах становила $71,3 \pm 2,9$; $64,4 \pm 2,1$ і $38,6 \pm 1,8$ судин на 1 мм^2 пухлинної тканини. **Висновок:** фенотипові особливості новоутворень хворих на серозний РЯ асоціюються з певним типом обтяженості їх родинного анамнезу онкологічною патологією, можуть відображати патогенетичні особливості, які передують виникненню захворювання, і бути предиктивними показниками виживаності хворих. Виявлені відмінності необхідно враховувати при призначенні пацієнткам із РЯ персоналізованої протипухлинної терапії.

ВСТУП

Рак яєчника (РЯ) є однією з найбільш агресивних злоякісних пухлин органів жіночої репродуктивної системи і посідає одне з провідних місць у структурі смертності жінок з онкогінекологічною патологією [1, 2]. Це зумовлено відсутністю виражених клінічних проявів і безсимптомним перебігом хвороби на початкових стадіях. Тому, незважаючи на значну кількість досліджень, спрямованих на удосконалення методів діагностики РЯ і оптимізацію лікування, у більшості пацієнток захворювання діагностують на III–IV стадії пухлинного процесу.

Досі немає остаточно сформованого погляду на етіологію і патогенез цієї патології. На сьогодні існує кілька гіпотез розвитку РЯ, які дискутуються в наукових працях. Відомо, що провідну роль у патогенезі РЯ у 90–95% випадків відіграють гормональні фактори, у 1,5–17,0% хворих — генетичні [3–5]. До факторів ризику виникнення РЯ відносять і такі клінічні показники, як раннє менархе (до 11 років),

пізня менопауза (після 55 років), безпліддя, стиль життя, наявність шкідливих звичок тощо [6].

З огляду на той факт, що яєчник є гормонопродукуючим і гормонозалежним органом, розвиток РЯ пов'язаний з виникненням гормонального дисбалансу, при якому гормони, зокрема естрогени, виступають мітогенами або канцерогенними факторами, оскільки під впливом естрогенів, а особливо їх метаболітів, які містять активні форми кисню, можуть виникати спонтанні пошкодження та помилки в реплікації ДНК [5]. У свою чергу, зростання рівня естрогенів в організмі жінки супроводжується підвищенням проліферативної активності в тканинах-мішенях, у тому числі й яєчника, тому можна констатувати, що естрогени спричиняють проліферацію клітин, зокрема з наявністю мутаційних пошкоджень [3, 4].

Відомо, що стероїдні гормони реалізують свій вплив за допомогою відповідних рецепторів і у зв'язаному стані переміщуються до ядра, де, з'єднуючись з відповідними ділянками ДНК, збіль-

шують (або зменшують) транскрипцію певних генів і синтез відповідних білків. Як свідчать дані літератури та результати наших попередніх досліджень, рецепторний статус новоутворень яєчника асоціюється з відповідними біологічними властивостями пухлини [7–10]. Так, пухлини яєчника з негативним рецепторним фенотипом (ER⁻PR⁻) характеризуються достовірно вищим проліферативним потенціалом, а хворі з такими пухлинними утвореннями — нижчою загальною виживаністю порівняно з пацієнтками зі злоякісними новоутвореннями з позитивним рецепторним статусом (ER⁺PR⁺).

РЯ, як і більшість онкологічних захворювань, є мультифакторною патологією, виникнення якої пов'язано з впливом екзо- та ендогенних факторів на геном людини. Нашими попередніми дослідженнями визначено, що у частини хворих на РЯ у родичів I і II ступеня спорідненості спостерігається агрегація пухлинної патології різного генезу [11]. При цьому показано, що у матерів пацієнток із РЯ з обтяженим онкологічним анамнезом найчастіше виявляють РЯ і рак молочної залози (РМЗ), а у батьків — рак органів шлунково-кишкового тракту (РОШКТ).

Згідно з даними літератури, у 5,0–17,0% випадків РЯ виникає у рамках сімейних ракових синдромів на фоні гермінальних мутацій низки генів. Перш за все (90–95% випадків) це гени *BRCA1/BRCA2*, а також мутації генів *TP53*, *CHEK2*, *PTCH*, *VHL*, *NBS1*, генів родини *FANC* та *MMR* [12–16]. Встановлено, що ризик виникнення РЯ у членів сімей з генетичною схильністю при мутаційних змінах в генах *BRCA1*, *BRCA2* та *MSH2* становить 28,0–44,0; 27,0 та 12,0% відповідно, тоді як у загальній популяції — 1,6% [13].

Суттєве значення у виникненні злоякісних новоутворень яєчника має інактивація онкосупресора p53, яка відбувається у пухлинах 50–67% хворих [17, 18]. На сьогодні доведено, що мутаційні зміни гена *TP53* є ранньою подією при злоякісній трансформації епітелію яєчника і реалізуються у 20–59% *BRCA1*-асоційованих пухлин вже при I–II стадії захворювання [19]. Встановлено, що білок-супресор *BRCA1* є модулятором експресії білка p53 [20]. Водночас p53 сприяє активації *BRCA1*, таким чином зумовлюючи їх взаємозв'язок [21]. Виникнення спорадичних форм РЯ також пов'язують із дисфункцією вищенаведених генів, що зумовлено соматичними мутаціями або змінами метилування їх промоторів [16]. Проте окремі дослідники показали, що при спадкових формах РЯ, який виникає у більш молодому віці (порівняно зі спорадичними формами цієї патології), часто виявляють білатеральні або синхронні пухлини. Деякі автори відмічають, що для хворих зі спадковозумовленим РЯ в основному характерна краща 5-річна виживаність [14, 22].

Однак досі не вивчено зв'язок між молекулярно-генетичними і клініко-морфологічними особливостями РЯ та залежність цих показників від

обтяженості родоводів пробандів онкологічною патологією. Можна припустити, що саме генетичні передумови виникнення РЯ у пробанда можуть зумовлювати біологічні властивості пухлини, її клінічний поліморфізм, варіабельність перебігу хвороби, навіть у рамках одного гістологічного типу і стадії захворювання, що забезпечує аргументовані засади персоніфікованого лікування цієї категорії пацієнток [15, 23].

Враховуючи сказане вище, мета роботи полягала в дослідженні експресії низки біомолекулярних маркерів у пухлинній тканині хворих на серозний РЯ з різним типом обтяженості родоводів онкологічною патологією.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Матеріалом дослідження були операційні зразки 39 хворих на РЯ віком від 24 до 79 років (середній вік $49,9 \pm 8,0$ року). Усі пацієнтки перебували на лікуванні у науково-дослідному відділенні онкогінекології Національного інституту раку Міністерства охорони здоров'я України і дали інформовану згоду на використання їх операційного матеріалу та даних клініко-генеалогічного аналізу для проведення наукових досліджень. Пацієнткам не призначали неоад'ювантної хіміотерапії.

При виконанні роботи на кожну пацієнтку заводи клініко-генеалогічну карту, в яку заносили відомості про анамнез життя та хвороби її, а також її родичів I–II ступеня спорідненості: особливості генеративної функції (вік менархе, наявність і термін менопаузи, кількість вагітностей, пологів, медичних та спонтанних абортів); наявність несприятливих факторів у побуті та на роботі, шкідливих звичок, зайвої маси тіла; відомості про характер маніфестації основного онкологічного захворювання і супутні хронічні хвороби. Крім цього, фіксували дані про морфологію пухлини, наявність метастазів та стадію злоякісного процесу тощо.

Морфологічне дослідження пухлин проводили на препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином. При верифікації діагнозу встановлено, що пухлини усіх хворих були серозними карциномами яєчника.

Імуногістохімічне (ІГХ) виявлення біомолекулярних маркерів у пухлинах здійснювали на паралельних зрізах за допомогою первинних МкАТ до таких білків: *BRCA1* — клон GLK-2, p53 — клон DO-7, ER- α — клон ID5, PR — клон PgR636, Ki-67 — клон MIB-1, наявність мікросудин визначали за допомогою МкАТ CD34 — клон QVEnd10 («DakoCytomation», Данія). Для візуалізації білків використовували систему EnVision («DakoCytomation», Данія). Забарвлення білків здійснювали за допомогою хромогену 3-діамінобензидинтетрахлориду. Результати ІГХ реакції оцінювали напівкількісним методом шляхом підрахунку позитивно забарвлених клітин — індекс мітки (ІМ, %). Проліферативний потенціал визна-

чали при обчисленні кількості клітин з експресією білка Ki-67 (індекс проліферації — ІП, %). У кожному препараті аналізували по 1000 клітин. Для визначення щільності мікросудин (ЩМС) як характеристики ангиогенезу у пухлинах яєчника обчислювали кількість судин у 10 полях зору мікроскопа при збільшенні $\times 100$, розмір одного поля зору обмежувався вимірювальною квадратною сіткою зі стороною 0,79 мм. ЩМС (на 1 мм² пухлини) визначали за формулою:

$$\text{ЩМС} = n \cdot 1 \text{ мм}^2 / 0,625 \text{ мм}^2,$$

де n — середня кількість судин в одному полі зору; 0,625 мм² — площа одного поля зору.

Критерії оцінки досліджених маркерів визначали на основі значень медіани (M_e). При значеннях ІМ, ІП та ЩМС $< M_e$ вираженість відповідного маркера вважали низькою, а при ІМ, ІП та ЩМС $> M_e$ — високою. Значення M_e у досліджених пухлинах яєчника становило: для експресії білка p53 — 34,9%; ER- α — 13,5%; PR — 9,3%; Ki-67 — 26,3% і ЩМС — 58,0 судини на 1 мм² пухлинної тканини. Оцінку експресії білка BRCA1 проводили з урахуванням рекомендацій [24, 25], згідно з якими ядерне забарвлення білка свідчить про експресію BRCA1 «дикого» типу, виявлення білка тільки у цитоплазмі розцінюється як мутаційні зміни у 11-му екзоні гена BRCA1, відсутність забарвлення асоціюється з мутацією в інших екзонах гена.

Визначення індивідуального прогнозу досліджених хворих проводили на основі багатофакторного аналізу показників комплексу біомолекулярних маркерів у пухлинній тканині яєчника [26].

Ймовірність 5-річної виживаності хворих з урахуванням показників біомолекулярних маркерів визначали за формулою:

$$PS = \sum KI \cdot F(x_i) \cdot 100,$$

де PS (probability of survival) — ймовірність виживаності хворих, що дорівнює ≥ 5 років (%); KI — коефіцієнт інформативності; $F(x_i)$ — логічна функція, що набуває значення 0 або 1 залежно від того, чи є значення кожного молекулярного показника x_i таким, що переходить порогові величини M_e відповідного фактора.

Статистичну обробку результатів здійснювали при використанні програми Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.), оцінку виживаності хворих проводили за методом Каплана — Мейера, достовірність відмінностей між кривими виживаності визначали за F-критерієм Кокса. Прогностичне значення показників оцінювали за допомогою багатофакторного аналізу (пропорційна модель ризику Кокса). Для порівняння двох вибірок використовували непараметричний критерій Манна — Уїтні (критерій U). Достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз даних генеалогічного дослідження показав, що 24 хворі на РЯ не мали родичів з онкологічною патологією, а у родовах 15 пацієток із РЯ відбувалася агрегація злоякісного захворювання у двох та більше родичів I та II ступеня спорідненості. Так, у родовах 8 хворих виявлено злоякісні пухлини яєчника та/або молочної залози (РЯ/РМЗ), що відповідає спадковому синдрому молочної за-

Таблиця 1

Клініко-морфологічна характеристика хворих на РЯ залежно від типу обтяженості родовах на онкологічну патологію

Клініко-морфологічні характеристики	Кількість випадків, n (%)		
	Без агрегації онкологічної патології у родинах (n = 24)	3 агрегацією у родинах РЯ/РМЗ (n = 8)	3 агрегацією у родинах РЕ/РОШКТ (n = 7)
Середній вік хворих, років	50,3 \pm 10,0	47,5 \pm 3,6	42,0 \pm 4,5
< 45 років	8 (33,3)	4 (50,0)	2 (28,6)
45–55 років	7 (29,2)	2 (25,0)	3 (42,8)
> 55 років	9 (37,5)	2 (25,0)	2 (28,6)
Менархе, років (коливання)	13,5 (12–16)	13,3 (12–15)	12,9 (11–14)
Менопауза:			
відсутня	14 (58,3)	6 (75,0)	4 (57,2)
до 50 років	3 (12,5)	1 (12,5)	2 (28,6)
після 50 років	7 (29,2)	1 (12,5)	1 (14,2)
Вагітності:			
0	6 (25,0)	0	1 (14,2)
1	4 (16,7)	2 (25,0)	2 (28,6)
≥ 2	14 (58,3)	6 (75,0)	4 (57,2)
Пологи:			
0	7 (29,2)	2 (25,0)	1 (14,2)
1	2 (8,3)	2 (25,0)	2 (28,6)
≥ 2	15 (62,5)	4 (50,0)	4 (57,2)
Ступінь диференціювання пухлини:			
G1	2 (8,3)	0	0
G2	10 (41,7)	3 (37,5)	4 (57,2)
G3	12 (50,0)	5 (62,5)	3 (42,8)
Стадія пухлинного процесу:			
I	4 (16,7)	0	0
II	3 (12,5)	2 (25,0)	0
III	14 (58,3)	3 (37,5)	6 (85,7)
IV	3 (12,5)	3 (37,5)	1 (14,3)

лози та яєчника [6, 12, 14]. У родовах інших 7 пацієнток із РЯ визначалися злоякісні новоутворення ендометрія та/або органів шлунково-кишкового тракту (РЕ/РОШКТ), що характерно для синдрому Лінча [6, 27]. При проведенні порівняльного дослідження між групами хворих на РЯ виявлено деякі відмінності між клінічними та морфологічними показниками (табл. 1).

Як свідчать дані, у хворих з обтяженим онкологічним анамнезом РЯ виникав у більш ранньому віці, ніж у пацієнток зі спорадичними пухлинами яєчника. Однак в останніх у більшості випадків були відсутні вагітність та пологи.

При морфологічному дослідженні новоутворень яєчника встановлено, що низький ступінь диференціювання визначався у 62,5% пухлин хворих з агрегацією у родовах РЯ/РМЗ, у 50,0% — без агрегації пухлинної патології у родовах і у 42,0% — з агрегацією у родинах РЕ/РОШКТ. Незалежно від обтяженості родинного анамнезу онкологічною патологією, у більшості обстежених пацієнток із РЯ встановлено III–IV стадію пухлинного процесу, у жінок з сімейною історією раку кількість таких випадків досягла 75,0 і 100,0%.

При аналізі експресії біомолекулярних маркерів визначено, що ядерна або ядерно-цитоплазматична локалізація білка BRCA1 відмічена у пухлинах 9 (23,7%) хворих зі спорадичними формами РЯ і 2 (5,3%) з агрегацією у родовах РЕ/РОШКТ. У новоутвореннях пацієнток з накопиченням у сім'ї РЯ/РМЗ білок BRCA1 в ядрі не виявлено. Водночас виключно цитоплазматична локалізація білка BRCA1 визначена у 94,1% випадків РЯ. Тобто встановлені порушення у функціонуванні гена *BRCA1* особливо виражені у пухлинах хворих з агрегацією РЯ/РМЗ у родовах, що зумовлює відсутність репарації двониткових розривів ДНК і підвищення дестабілізації геному. При мутаційних змінах гена *BRCA1* білок BRCA1 втрачає свої супресорні властивості, у тому числі не може впливати на процеси проліферації шляхом активації білка p53 та інгібування експресії ER- α , які, у свою чергу, активують фактор росту ендотелію судин (VEGF), що може спричинити активне судиноутворення в карциномах яєчника і підвищення ЩМС [28, 29].

Враховуючи відмінності ядерної локалізації білка BRCA1 у пухлинах яєчника хворих із різним типом обтяженості родовах онкологічною патологією, ми оцінили експресію p53, ER- α та PR у новоутвореннях залежно від типу обтяженості родинного анамнезу пацієнток із РЯ.

Встановлено, що у хворих з агрегацією у родовах РЯ/РМЗ кількість пухлинних клітин з експресією білка p53 була найбільшою і, при індивідуальних коливаннях 3,8–64,2%, становила $48,8 \pm 2,7\%$. У новоутвореннях пацієнток без обтяженості родинного анамнезу цей показник був достовірно нижчим (індивідуальні коливання 0,0–62,3%) і у середньому ся-

гав $34,6 \pm 2,4\%$, що не перевищувало значення Me. У хворих з агрегацією у родовах РЕ/РОШКТ частота виявлення клітин з експресією білка p53 була найнижчою — $17,8 \pm 1,8\%$ (індивідуальні коливання 0,0–37,2%) (рис. 1).

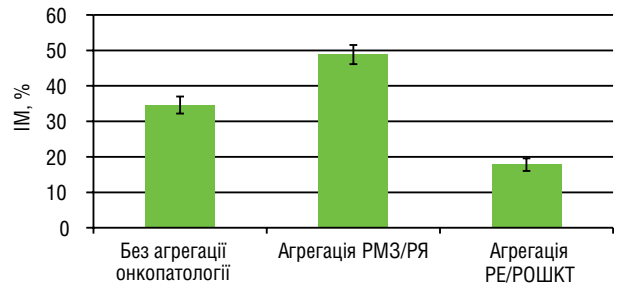


Рис. 1. Частота виявлення клітин з експресією білка p53 у спорадичних пухлинах яєчника і у новоутвореннях хворих з обтяженим онкологічним анамнезом

Крім цього, визначено, що пухлини яєчника хворих з агрегацією РЕ/РОШКТ у родовах характеризувалися низькою експресією ER- α ($12,3 \pm 1,5\%$, індивідуальні коливання 0,0–33,6%) порівняно зі спорадичним РЯ та новоутвореннями пацієнток з агрегацією у родовах РЯ/РМЗ, де експресія ER- α становила відповідно $20,0 \pm 1,3$ та $18,3 \pm 1,4\%$ (при індивідуальних коливаннях відповідно 0,0–65,9 та 0,0–64,0%).

Індивідуальні коливання експресії PR у хворих зі спорадичними формами РЯ і при накопиченні РЯ/РМЗ та РЕ/РОШКТ становили відповідно 0,0–57,9; 0,0–54,0 та 0,0–37,8%. Найнижчою експресія PR виявлялася в карциномах пацієнток із необтяженим онкологічним анамнезом, які не мали хворих на рак родичів ($9,1 \pm 1,3\%$), а отже, була у 1,7 раза нижчою, ніж у пухлинах пацієнток з агрегацією у родовах РМЗ/РЯ ($15,8 \pm 1,4\%$; $p < 0,05$), і удвічі нижчою за значення у новоутвореннях хворих із накопиченням у родовах РЕ/РОШКТ ($18,9 \pm 1,6\%$; $p < 0,01$) (рис. 2).

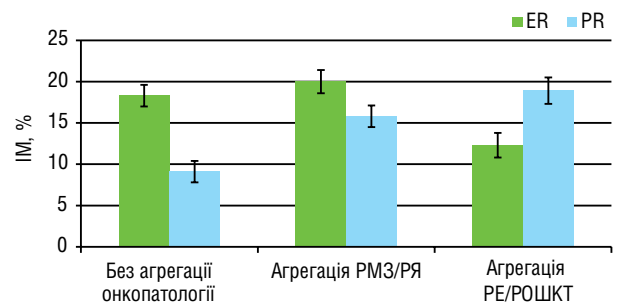


Рис. 2. Експресія рецепторів стероїдних гормонів у пухлинах хворих на РЯ залежно від типу обтяженості родинного онкологічного анамнезу

При вивченні розподілу пухлин за рецепторним фенотипом встановлено, що у хворих на РЯ із необтяженим онкологічним анамнезом кількість пухлин з негативним рецепторним статусом (ER-PR⁻) становила 33,3%, що було нижчим за показник у пацієнток з агрегацією у родовах РЯ/РМЗ (50,0%) і вищим, ніж у новоутвореннях хворих з агрегацією

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

у родовах РЕ/РОШКТ (28,6%). Карциноми яєчника з фенотипом ER⁺PR⁻ відмічено тільки у пацієнток без онкопатології у родовах (20,8%) і з агрегацією РЯ/РМЗ (12,5%) (рис. 3).

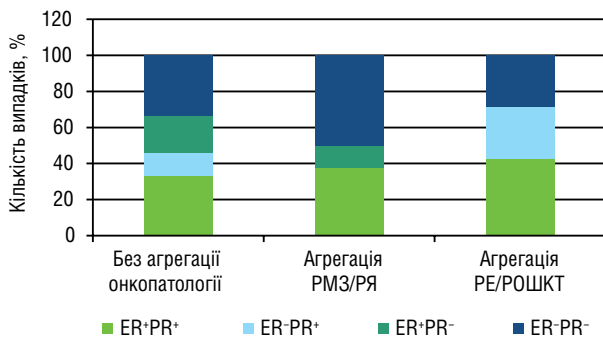


Рис. 3. Рецепторний фенотип у пухлинах хворих на РЯ залежно від типу обтяженості родинного анамнезу онкологічною патологією

Тобто за рецепторним фенотипом пухлини хворих на РЯ з агрегацією у родинах РЕ/РОШКТ значно відрізнялися від новоутворень, що виникли в осіб без обтяженості онкологічного анамнезу та пацієнток з РЯ/РМЗ у родинах.

Деякі автори вважають, що високу експресію ER- α можна розглядати як фактор високого ризику розвитку рецидивів РЯ, а високу експресію PR — як чинник сприятливого прогнозу захворювання. При цьому суттєве прогностичне значення надається рецепторному фенотипу новоутворення. Так, у дослідженні [8] показано, що 5-річна виживаність пацієнток із серозним РЯ становить 83,0% при рецепторному статусі пухлини ER⁺PR⁺, 79,0% — ER⁺PR⁻, 61,0% — ER⁺PR⁻ і 48,0% — ER⁻PR⁻.

У наших порівняльних дослідженнях показано, що 5-річна виживаність хворих на РЯ достовірно знижується за наявності у пухлинах переважно негативного рецепторного фенотипу ER⁻PR⁻ [9]. Можна припустити, що пухлини пацієнток без обтяженості сімейної історії онкологічною патологією і жінок з наявністю у родовах хворих на РМЗ/РЯ будуть більш агресивними, ніж злоякісні новоутворення пацієнток з агрегацією у родинах РЕ/РОШКТ.

Враховуючи отримані дані та результати власних попередніх досліджень, які показали зв'язок між кількістю пухлинних клітин яєчника з експресією білка p53, ER- α , маркера проліферуючих клітин — білка Ki-67 та ЩМС [30, 31], доцільним було визначити у пухлинах хворих із сімейною історією раку такі показники прогресування новоутворення, як проліферативний потенціал і ЩМС.

Встановлено тенденцію до підвищення проліферативного потенціалу у пухлинах пацієнток з агрегацією у родовах РЕ/РОШКТ (ІП Ki-67 $33,1 \pm 2,8\%$) порівняно з таким у новоутвореннях, що виникли у хворих з агрегацією у родовах РЯ/РМЗ ($32,2 \pm 2,7\%$) і спорадично ($25,9 \pm 1,4\%$) (рис. 4).

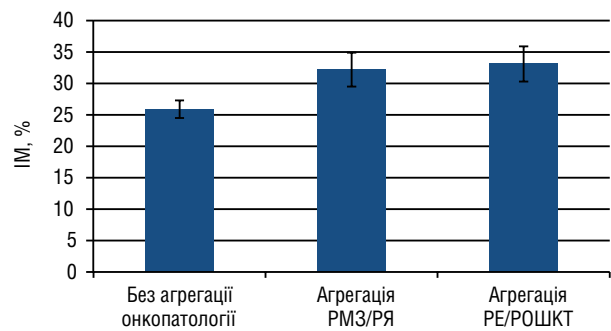


Рис. 4. Кількість клітин з експресією білка Ki-67 у пухлинах хворих на РЯ залежно від типу обтяженості родинного анамнезу онкологічною патологією

Незважаючи на відсутність достовірної різниці між показниками проліферативного потенціалу у пухлинах яєчника досліджених груп хворих, при визначенні корелятивного зв'язку між експресією p53 і Ki-67 у новоутвореннях пацієнток без агрегації онкопатології і з агрегацією РМЗ/РЯ у родовах виявлено прямий корелятивний зв'язок між зазначеними показниками ($R = 0,74$; $p = 0,01$). Натомість, у пухлинах хворих з накопиченням у родинах РЕ/РОШКТ асоціації між експресією білків p53 і Ki-67 не виявлено. Тобто проліферативні процеси, що відбуваються у злоякісних утвореннях пацієнток з агрегацією у родовах РЕ/РОШКТ, можливо, не пов'язані з функціонуванням білка p53, а зумовлені змінами у роботі генів, що регулюють інші сигнальні шляхи, у тому числі генів родини *MMR*, які відповідають за репарацію неспарених основ ДНК.

Згідно з отриманими даними індивідуальні значення ЩМС у пухлинах хворих на РЯ загалом коливалися у межах 15,0–103,0 судини на 1 мм² пухлинної тканини. У пацієнток без агрегації онкологічною патологією у родовах ЩМС у новоутвореннях становила $71,3 \pm 2,9$ судини на 1 мм², що було дещо вище порівняно з цим показником у карциномах хворих з агрегацією у родовах пухлин молочної залози і яєчника ($64,4 \pm 2,1$ судини на 1 мм²) і суттєво вище, ніж у пухлинах пацієнток із накопиченням у родинах РЕ/РОШКТ ($38,6 \pm 1,8$ судини на 1 мм²; $p < 0,05$).

Підсумовуючи отримані дані, слід відмітити, що у хворих на РЯ виявлено значну гетерогенність показників ЩМС та експресії низки біомолекулярних маркерів: p53, ER- α , PR і Ki-67. Пухлини пацієнток із необтяженим онкологічним анамнезом характеризувалися експресією білка p53 на рівні значень Me і низьким проліферативним потенціалом. Поряд з цим новоутворення таких хворих мали високу васкуляризацію, у більшості (> 50,0%) пухлин визначався ER⁻PR⁻ або ER⁺PR⁻ рецепторний фенотип, що асоціюється з агресивністю злоякісного процесу в яєчнику [8–10, 30–32].

У пацієнток із різним типом агрегації пухлинної патології у родовах відмічено певні відмінності молекулярного профілю злоякісних новоутворень. Так, карциноми хворих з агрегацією у родинах РМЗ/

Порівняльна оцінка ймовірності 5-річної виживаності хворих на РЯ залежно від сімейної історії раку

Тип обтяженості родоводів хворих на РЯ	Ймовірність 5-річної виживаності хворих на РЯ	
	< 50,0%	50,0%
	Кількість випадків, n (%)	
Без агрегації онкопатології	22 (91,7)	2 (8,3)
Агрегація РЯ/РМЗ	6 (75,0)	2 (25,0)
Агрегація РЕ/РОШКТ	5 (71,4)	2 (28,6)

РЯ, виникнення яких може бути пов'язано з мутаціями у генах-супресорах *BRCA1* та *TP53* [15, 28, 29], характеризувалися високою експресією білка p53 та відсутністю ядерної експресії *BRCA1*, що супроводжувалося високим проліферативним потенціалом і значною ЩМС, більшість пухлин мала рецепторний фенотип ER-PR⁻ та ER⁺PR⁻.

На відміну від цього, у пухлинах хворих з агрегацією у родовах РЕ/РОШКТ поряд з високою експресією маркера проліферуючих пухлин Ki-67 виявлено низьку експресію білка p53 та зниження ЩМС, і більшість новоутворень пацієток цієї групи відзначалися позитивним рецепторним фенотипом. Не виключено, що визначені особливості молекулярного фенотипу досліджених пухлин яєчника асоціюються з характером перебігу захворювання.

Для перевірки цього припущення ми оцінили ймовірність індивідуальної 5-річної виживаності хворих на серозний РЯ з урахуванням ЩМС і експресії Ki-67, p53, ER та PR у пухлинній тканині [26]. Встановлено варіабельність цього показника як у групі без агрегації пухлинної патології у родовах, так і пацієток з сімейною історією раку.

У хворих без обтяженості родоводів онкологічною патологією ймовірність 5-річної виживаності коливалася від 4,0 до 76,0%, при цьому кількість пацієток з високою ймовірністю 5-річної виживаності становила 8,3% (рис. 5, табл. 2).

У хворих з агрегацією у родовах РМЗ/РЯ індивідуальні коливання ймовірності 5-річної виживаності були у межах 3,0–84,0%, а при накопиченні РЕ/РОШКТ — 4,0–81,0%. Прогноз 5-річної виживаності у групах пацієток з сімейною історією раку становив 25,0% (РМЗ/РЯ) і 28,6% (РЕ/РОШКТ).

Таким чином, проведене дослідження дозволило встановити, що молекулярний профіль серозних карцином яєчника хворих із необтяженим онкологічною патологією родинним анамнезом і з сімейною історією раку характеризується низькою відмінністю, які, напевно, визначають перебіг захворювання.

ВИСНОВОК

Фенотипові особливості серозних карцином яєчника асоціюються з певним типом обтяженості родоводів хворих онкологічною патологією і можуть відображати патогенетичні особливості, які пере-

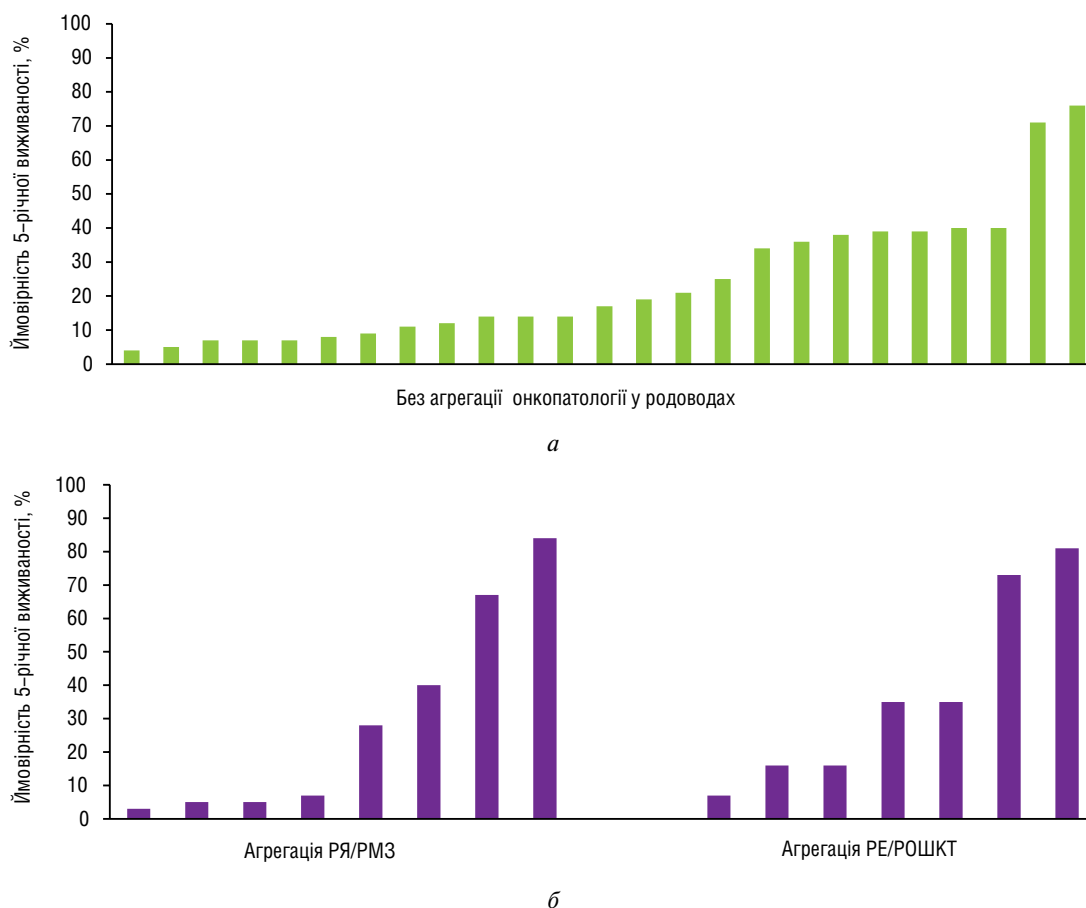


Рис. 5. Індивідуальні показники ймовірності 5-річної виживаності хворих на РЯ без агрегації (а) та з агрегацією (б) пухлинної патології у родовах

дують виникненню захворювання, і бути предиктивними показниками виживаності. Наведене аргументує безумовну доцільність при призначенні терапевтичних заходів хворим на РЯ враховувати не тільки морфологічні характеристики новоутворення, а й дані генеалогічного аналізу та молекулярний профіль пухлини, що буде сприяти обґрунтованому призначенню персоніфікованого лікування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Рак в Україні, 2013–2014. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл. Нац. канцер-реєстру України, 2015; (16): 106 с.
2. Gajjar K, Ogden G, Mujahid MI, Razvi K. Symptoms and risk factors of ovarian cancer: a survey in primary care. *Obstetrics Gynecol* 2012, Article ID 754197, doi:10.5402/2012/754197.
3. Ашрафян ЛА, Киселев ВИ. Опухоли репродуктивных органов (этиология и патогенез). М.: Изд-во Димитрейд График Групп, 2007. 214 с.
4. Воробьева ЛИ, Свищицкий ВС, Ткаля Г. Гормональный канцерогенез и обоснование применения гормональной терапии в лечении больных раком яичника. *Клин Онкол* 2013; 1: 58–64.
5. Прокофьева ДС. Изучение генетических факторов риска развития рака яичников [Автореф дис... канд биол наук]. Уфа, 2013. 23 с.
6. Соломатина АА, Шабрина ОВ, Ширинова СС, Саргсян НС. Значение факторов риска в диагностике яичниковых образований *Вестн РГМУ* 2007; 4: 34–41.
7. Hecht JL, Kotsopoulos J, Hankinson SE, Tworoger SS. Relationship between epidemiological risk factors and hormone receptor expression in ovarian cancer: results from the Nurses' Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18 (5): 1624–30.
8. Arias-Pulido H, Smith HO, Joste NE, et al. Estrogen and progesterone receptor status and outcome in epithelial ovarian cancers and low malignant potential tumors. *Gynecol Oncol* 2009; 114 (3): 480–5.
9. Buchynska LG, Iurchenko NP, Grinkevych VM, et al. Expression of the estrogen and progesterone receptors as prognostic factor in serous ovarian cancer. *Exp Oncol* 2009; 31 (1): 48–52.
10. Kruchten M, Marel P, Munck L, et al. Hormone receptors as a marker of poor survival in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2015; 138 (3): 634–9.
11. Бучинська ЛГ, Глушенко НМ, Несина ИП, Юрченко НП. Возникновение злокачественных новообразований у больных раком яичников. *Онкол журн* 2016; 10 (4): 70–6.
12. Russo A, Calò V, Bruno L, et al. Hereditary ovarian cancer. *Critical Reviews. Oncol/Hematol* 2009; 69: 28–44.
13. Ford D, Easton DF, Stratton M, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analyses of the *BRCA1* and *BRCA2* genes in breast cancer families. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 676–89.
14. Любченко ЛН, Батенева ЕИ. Медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика при наследственной предрасположенности к раку молочной железы и раку яичников. Москва: ИГ РОНЦ, 2014. 75 с.
15. Kurman RJ. Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma. *Ann Oncol* 2013; 24 (Suppl 10): 16–21.
16. Bai X, Fu Y, Xue H, et al. *BRCA1* promoter hypermethylation in sporadic epithelial ovarian carcinoma: Association with low expression of *BRCA1*, improved survival and co-expression of DNA methyltransferases. *Oncol Letters* 2014; 7: 1088–96.
17. Rechsteiner M, Zimmermann AK, Wild PJ, et al. *TP53* mutations are common in all subtypes of epithelial ovarian cancer and occur concomitantly with *KRAS* mutations in the mucinous type. *Exp Mol Pathol* 2013; 95 (2): 235–41.
18. Shivakumar S, Shobha HR, Kaur J. Correlation of clinicopathological parameters of epithelial ovarian carcinomas with expression of p53. *Int J Sci Stud* 2015; 3 (2): 85–90.
19. Pothuri B, Leitao MM, Levine DA, et al. Genetic analysis of the early natural history of epithelial ovarian carcinoma 2010; 5 (4): e10358.
20. MacLachlan TK, Takimoto R, El-Deiry WS. *BRCA1* directs a selective p53-dependent transcriptional response towards growth arrest and DNA repair targets. *Mol Cell Biol* 2002; 22 (12): 4280–92.
21. Feng Z, Kachnic L, Zhang J, et al. DNA damage induces p53-dependent *BRCA1* nuclear export. *J Biol Chem* 2004; 279 (27): 28574–84.
22. Lancaster JM, Powell CB, Chen L, et al. Society of Gynecologic Oncology statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions. *Gynecologic Oncol* 2015; 136: 3–7.
23. Федянин МЮ. Персонализированная терапия в онкологии: настоящее и будущее. *J Malign Tumor (Русскоязычное издание)* 2012; 2 (2): 106–10.
24. Kashima K, Oite T, Aoki Y, et al. Screening of *BRCA1* mutation using immunohistochemical staining with C-terminal antibodies in familial ovarian cancers. *Jpn J Cancer Res* 2000; 91: 399–409.
25. Troudi W, Uhrhammer N, Ben Romdhane K, et al. Immunolocalization of *BRCA1* protein in tumor breast tissue: prescreening of *BRCA1* mutation in Tunisian patients with hereditary breast cancer? *Eur J Histochem* 2007; 51 (3): 219–26.
26. Бучинська ЛГ, Гринкевич ВМ, Свищицкий ВС, Романенко ОВ. Використання біомолекулярних маркерів для предикативної оцінки індивідуального прогнозу виживаності хворих на серозний рак яєчника. *Онкологія* 2013; 15 (1): 37–9.
27. Lynch HT, Casey MJ, Snyder CL, et al. Hereditary ovarian carcinoma: heterogeneity, molecular genetics, pathology, and management. *Mol Oncol* 2009; 3 (2): 97–137.
28. Берштейн ЛМ. Гормональные и прогностические аспекты — *BRCA1*-ассоциированного канцерогенеза. *Вопр онкол* 2007; 53 (6): 642–53.
29. Wang Li, Di Li-Jun. *BRCA1* and estrogen/estrogen receptor in breast cancer: where they interact? *Int J Biol Sci* 2014; 10 (5): 566–75.
30. Несина ИП, Юрченко НП, Свищицкий ВС, Бучинская ЛГ. Биологические особенности — серозного рака яичников с учетом экспрессии белка p53 и его модуляторов. *Онкология* 2015; 17 (4): 246–52.
31. Несина ИП, Романенко ОВ, Гринкевич ВМ та ін. Прогностичне значення щільності мікросудин у серозних аденокарциномах яєчника. *Онкологія* 2008; 10 (2): 238–41.
32. Huang J, Hu W, Sood AK. Prognostic biomarkers in ovarian cancer. *Cancer Biomark* 2010; 8: 231–51.

MOLECULAR-BIOLOGICAL FEATURES OF OVARIAN CANCER PATIENTS WITH AGGREGATION OF CANCER IN PEDIGREES

I.P. Nesina, N.P. Yurchenko, N.M. Glushchenko, L.A. Proskurnya, L.H. Buchynska

Summary. Aim: determining expression of biomolecular markers in tumor tissue of patients with serous ovarian cancer (OC) with different types of cancer aggregation in pedigrees. **Object and methods:** 39 samples of surgical specimens of patients with OC (average age 49.9 ± 8.0 years) with III–IV stages of tumor, including 24 patients (group I) were healthy relatives, 8 (group II) — aggregation in the pedigrees of breast or ovarian cancer (BC/OC) and 7 (group III) — aggregation in relatives of endometrial or gastrointestinal cancer (EC/GIC). An immunohistochemical study of p53 and *BRCA1* proteins, estrogen and progesterone receptors (ER and PR), a marker of proliferating cells — Ki-67 and microvessel density were investigated.

Results: it was showed that, nuclear localization of protein BRCA1 were observed in tumors of 9 (23.7%) patients with sporadic forms of OC and in 2 patients (5.3%) of aggregation in pedigrees EC/GIC and not detected in the tumors of patients with BC/OC accumulation in pedigrees. The greatest number of tumor cells with p53-expressing identified in the patients of second group ($48.8 \pm 2.5\%$) compared the patients of first ($34.6 \pm 1.4\%$), and third ($17.8 \pm 1.8\%$) groups. The frequency of tumors with negative receptor phenotype (ER^-PR^-) by expressing estrogens and progesterone receptors in the first, second and third groups were 33.3; 50.0 and 28.6%, the average number of proliferating cells, respectively, 25.9 ± 1.4 ; 32.2 ± 2.7 and $33.1 \pm 2.8\%$. Microvessel density in tumors respectively, 71.3 ± 2.9 ; 64.4 ± 2.1 and 38.6 ± 1.8 vessels on 1 mm^2 of tumor. **Conclusion:** it was found that of phenotypic specifications of the tumors of OC patients are associated with their family history on cancer and can re-

flect the characteristics of pathogenic changes that precede the emergence of the disease and be predictive indicator of survival of patients. The identified differences must be considered, when assigning with OC patients personalized anticancer therapy.

Key Words: ovarian cancer, family history of cancer, the expression of biomolecular markers p53, BRCA1, Ki-67, microvessel density, steroid hormone receptors.

Адреса для листування:

Несіна І.П.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології, онкології
и радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

E-mail: laboncogen@gmail.com

Одержано: 13.04.2017