

- I., Bartolini S., Ceresoli G.L. et al. Increased HER2 gene copy number is associated with response to gefitinib therapy in epidermal growth factor receptor-positive non-small-cell lung cancer patients. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 5007–18.
6. Cox G., Vyberg M., Melgaard B., Askaa J., Oster A., O'Byrne K.J. Herceptest: HER2 expression and gene amplification in non-small cell lung cancer. *Int. J. Cancer.* 2001; 92: 480–3.
 7. Grob T.J., Kannengiesser I., Tsourlakis M.C., Atanackovic D., Koenig A.M., Vashist Y.K. et al. Heterogeneity of ERBB2 amplification in adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and large cell undifferentiated carcinoma of the lung. *Mod. Pathol.* 2012; 25: 1566–73.
 8. Hirashima N., Takahashi W., Yoshii S., Yamane T., Ooi A. Protein overexpression and gene amplification of c-erb B-2 in pulmonary carcinomas: a comparative immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study. *Mod. Pathol.* 2001; 14: 556–62.
 9. Hirsch F.R., Varella-Garcia M., Franklin W.A., Veve R., Chen L., Helfrich B. et al. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and protein expression in non-small cell lung carcinomas. *Br. J. Cancer.* 2002; 86: 1449–56.
 10. Hsieh C.C., Chow K.C., Fahh H.J., Tsai C.M., Li W.Y., Huang M.H. et al. Prognostic significance of HER-2/neu overexpression in stage I adenocarcinoma of lung. *Ann. Thorac. Surg.* 1998; 66: 1159–64.
 11. Nakamura H., Saji H., Ogata A., Hosaka M., Hagiwara M., Kawasaki N. et al. Correlation between encoded protein overexpression and copy number of the HER2 gene with survival in non-small cell lung cancer. *Int. J. Cancer.* 2003; 103: 61–6.
 12. Pelosi G., Del Curto B., Dell'Orto P., Pasini F., Veronesi G., Spaggiari L. et al. Lack of prognostic implications of HER-2/neu abnormalities in 345 stage I non-small cell carcinomas (NSCLC) and 207 stage I–III neuroendocrine tumours (NET) of the lung. *Int. J. Cancer.* 2005; 113: 101–8.
 13. Tan D., Deeb G., Wang J., Slocum H.K., Winston J., Wiseman S. et al. HER-2/neu protein expression and gene alteration in stage I–III non-small-cell lung cancer: a study of 140 cases using a combination of high throughput tissue microarray, immunohistochemistry, and fluorescent in situ hybridization. *Diagn. Mol. Pathol.* 2003; 12: 201–11.
 14. Liu L., Shao X., Gao W., Bai J., Wang R., Huang P. et al. The role of human epidermal growth factor receptor 2 as a prognostic factor in lung cancer: a meta-analysis of published data. *J. Thorac. Oncol.* 2010; 5: 1922–32.
 15. Sobin L., Gospodarowicz M., Wittekind C. (Eds.): *TNM Classification of Malignant Tumours*. 7th Ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009: 138–46.
 16. Wang S., Hossein Saboorian M., Frenkel E.P., Haley B.B., Siddiqui M.T., Gokaslan S. et al. Aneusomy 17 in breast cancer: its role in HER-2/neu protein expression and implication for clinical assessment of HER-2/neu status. *Mod. Pathol.* 2002; 15: 137–45.
 17. Panagiotou I., Georgiannos S.N., Tsiambas E., Karameris A., Konstantinou M., Lazaris A.C. et al. Impact of HER2 and PTEN simultaneous deregulation in non-small cell lung carcinoma: correlation with biological behavior. *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* 2012; 13: 6311–8.
 18. Marchio C., Lambros M.B., Gugliotta P., Di Cantogno L.V., Botta C., Pasini B. et al. Does chromosome 17 centromere copy number predict polysomy in breast cancer? A fluorescence in situ hybridization and microarray-based CGH analysis. *J. Pathol.* 2009; 219: 16–24.
 19. Ma J., Gao M., Lu Y., Feng X., Zhang J., Lin D. et al. Gain of 1q25-32, 12q23-24.3, and 17q12-22 facilitates tumorigenesis and progression of human squamous cell lung cancer. *J. Pathol.* 2006; 210: 205–13.
 20. Onchi H., Hirose K., Yamaguchi A., Noriki S., Fukuda M. Prognostic value of numerical aberrations of chromosome 17 in differentiated gastric cancer: evaluation by multivariate regression analysis. *Oncol. Rep.* 2000; 7: 1317–22.
 21. Yoon H.H., Shi Q., Sukov W.R., Lewis M.A., Sattler C.A., Wiktor A.E. et al. Adverse prognostic impact of intratumor heterogeneous HER2 gene amplification in patients with esophageal adenocarcinoma. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30: 3932–8.
 22. Vanden Bempt I., Van Loo P., Drijkoningen M., Neven P., Smeets A., Christiaens M.R. et al. Polysomy 17 in breast cancer: clinicopathologic significance and impact on HER-2 testing. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 4869–74.

Поступила 19.05.14
Received 19.05.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014
УДК 618.11-006.04-07:577.21.08

Никогосян С.О., Барышников А.Ю., Степанова Е.В., Кузнецов В.В., Карапетян В.Л.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИНДЕКСА KI-67 В ТКАНИ ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ I И II СТАДИИ

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН, 115211, г. Москва

Прогноз больных раком яичников (РЯ) зависит от ряда клинических, морфологических, иммунологических и молекулярно-биологических факторов. Благодаря проведенному исследованию полученные данные указывают на то, что Ki-67 характерен для самой агрессивной формы РЯ – серозной цистаденокарциноме яичников, и что с высоким индексом Ki-67 в ткани опухоли сопряжен неблагоприятный прогноз заболевания даже при I и II стадии болезни, т. е. белок Ki-67 может быть рассмотрен в качестве неблагоприятного молекулярного фактора прогноза РЯ начальных стадий.

Ключевые слова: рак яичников; серозная цистаденокарцинома яичников; индекс Ki-67.

CLINICAL VALUE OF KI-67 INDEX IN TUMOR TISSUE IN PATIENTS WITH STAGE I AND II OVARIAN CANCER

Nikogosyan S.O., Baryshnikov A.Yu., Stepanova E.V., Kuznetsov V.V., Karapetyan V.L.

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center under the Russian Academy of Medical Sciences, 115478, Moscow, Russian Federation

Prediction of ovarian cancer (EOC) is dependent on a number of clinical, morphological, immunological and molecular biological factors. Thanks to the research findings indicate that Ki-67 is characterized by the most aggressive forms of ovarian cancer - ovarian serous cystadenocarcinoma, and that with a high index of Ki-67 in tumor tissue paired unfavorable prognosis even stage I and II disease, Ki-67 protein can be considered as an adverse molecular prognostic factors of ovarian cancer early stages.

Key words: *ovarian cancer; serous ovarian cystadenocarcinoma; Ki-67 index.*

Прогноз больных раком яичников (РЯ) зависит от ряда клинических, морфологических, иммунологических и молекулярно-биологических факторов. Ведущими клиническими факторами являются стадия заболевания и стратегия лечения больных. Наряду с этим прогноз заболевания сопряжен с особенностями биологических свойств опухоли [1–8]. Различными исследованиями доказано важное прогностическое значение гистологической формы и степени дифференцировки опухоли [2, 4, 5, 8].

Достижения генетики, иммунологии и молекулярной биологии последних десятилетий оказали огромное влияние на понимание процессов канцерогенеза и прогрессирования опухоли, а также биологических особенностей злокачественных опухолей.

Известно, что злокачественные опухоли человека возникают вследствие генетических нарушений клетки, приводящих к неконтролируемому росту новообразования. При этом установлена роль двух важных систем, определяющих деление клетки: системы протоонкогенов и генов-супрессоров. Эти гены формируют сложный механизм контроля темпов деления клеток, роста и их дифференциации. Протоонкогены — это нормальные гены клетки, оказывающие стимулирующее влияние на процессы клеточного деления, посредством специфических белков, продуктов их экспрессии. Превращение протоонкогена в онкоген — ген, определяющий опухолевые свойства клеток, является одним из механизмов возникновения клеток злокачественной опухоли [9, 10].

Гены-супрессоры имеют противоположную протоонкогенам функцию. Они ответственны за подавление деления клетки [9, 10].

Мутация генетического кода протоонкогена с изменением структуры специфического белка, продукта экспрессии гена, либо повышение уровня экспрессии протоонкогена сопровождается образованием онкогенов и активацией механизмов деления клетки. С другой стороны, активация механизмов деления клетки может произойти вследствие инактивации генов-супрессоров. Таким образом, выявленные нарушения в геноме клетки позволили расширить знания о канцерогенезе и в то же время определить их клиническое значение для диагностики и прогнозирования течения онкологических заболеваний, а также использовать их в качестве специфических молекулярных маркеров [9, 10].

Большое внимание уделяется изучению молекулярно-биологических маркеров, характеризующих апоптоз, пролиферацию клетки и ангиогенез, таких как p53, Bcl-2, Bax, Fasl, Ki-67, VEGF, Her2/neu [1,

2, 5, 11–14]. Изучение диагностической и прогностической значимости этих и ряда других субстратов клеток злокачественных опухолей широко изучается с помощью иммуногистохимического метода, основной принцип которого был предложен J. Margack [15] в 1934 г. Авторами метода по праву считается группа исследователей под руководством А. Coons [16, 17], которая в 1942 г. впервые с помощью антител, меченных изоцианатом, выявила антигены пневмококков в инфицированных тканях.

Одним из наиболее информативных молекулярных маркеров биологических свойств опухоли, в частности, ее пролиферативной активности, является антиген Ki-67 [9, 18–20]. Ген, кодирующий белок Ki-67, расположен на длинном плече 10-й хромосомы. Ki-67-ядерный антиген, относится к регуляторным белкам. Его появление совпадает с вступлением клетки в митоз, вырабатывается в пролиферативной фазе клеточного цикла (фазы G1, S, G2, M) и не определяется в клетках, находящихся в состоянии покоя (в фазе G0). Это позволяет использовать его в качестве универсального маркера пролиферации при оценке роста злокачественных опухолей. Уровень его экспрессии можно определить в срезах из парафиновых блоков с помощью моноклональных антител MIB-1 [11].

Установлена корреляция между количеством клеток, экспрессирующих Ki-67, и степенью злокачественности опухоли, а также митотическим индексом. Процентное соотношение числа положительных к антигену Ki-67 клеток опухоли в поле зрения исследуемой иммуногистохимическим методом, с теми клетками, в которых этот антиген не определяется, получило название индекса Ki-67 [19]. Референсное значение индекса Ki-67 рассматривается по-разному, в зависимости от приоритетов конкретно взятой лаборатории. Так, например, одни исследователи принимают за точку отсчета наличие 10% Ki-67-положительных клеток, другие — 20%, третьи — 30%. Есть сообщения о том, что у больных саркомами мягких тканей [21] референсным считается индекс Ki-67, равный 50%.

Индекс Ki-67 позволяет оценить степень злокачественности опухоли и прогнозировать течение заболевания в совокупности с другими факторами. Показано, что высокий уровень индекса Ki-67 сопряжен с неблагоприятным прогнозом. В частности, при высоком уровне Ki-67 отмечается ухудшение показателей безрецидивной и общей выживаемости больных раком молочной железы, яичников, толстой кишки, мочевого пузыря, саркомах мягких тканей и др. [8, 12, 14, 22, 23].

Индекс Ki-67 является независимым показателем прогноза рецидивов злокачественных опухолей и выживаемости у больных раком предстательной железы. Установлена прямая коррелятивная зависимость между количеством опухолевых клеток, экспрессирующих Ki-67, и стадией этого заболевания [24–27].

Для корреспонденции: *Никогосян Седя Овиковна* — д-р мед. наук, вед. научн. сотр. гинекологического отделения; 115448, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, e-mail: vikakarapetyan@mail.ru.

Correspondence to: *Seda Nikogosyan* — MD, PhD, Dsi; e-mail: vikakarapetyan@mail.ru.

Экспрессия Ki-67 при РЯ выявляется в 71 – 98% случаев [27]. Среднее значение индекса пролиферации составляет 41,7%. Индекс Ki-67 при разных гистологических формах РЯ неодинаков. Сообщается о высоком индексе Ki-67 в ткани серозной аденокарциномы (43%). В ткани эндометриоидной карциномы этот показатель составляет 12,2%. Самый низкий показатель отмечен в ткани муцинозной карциномы — 5,7% [27, 28]. При этом индекс Ki-67 в определенной степени коррелирует со степенью дифференцировки опухоли. Высокодифференцированные опухоли имеют более низкую пролиферативную активность [5].

Показана более высокая экспрессия Ki-67 при РЯ в сравнении с доброкачественными и пограничными опухолями яичников.

Высокая экспрессия этого белка тесно коррелирует с низким показателем 5-летней выживаемости [29]. Имеются сообщения о худшей выживаемости больных при высоком индексе Ki-67 в ткани серозной цистаденокарциномы яичников [19, 30]. При этом, согласно данным, полученным в РОНЦ РАМН им. Н.Н. Блохина уровень этого показателя одинаков у больных как с III, так и с IV стадией (44,2 и 38,5 соответственно), [11].

При этом в настоящее время нет исчерпывающей точки зрения о диагностической и прогностической значимости этого маркера при начальных стадиях РЯ.

Материал и методы

Нами проведено клинико-экспериментальное исследование, посвященное изучению индекса Ki-67 в ткани опухоли 48 больных гистологически верифицированным РЯ I–II стадии, которые находились на лечении в отделении гинекологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН с 1999 по 2004 г. Исследования проводились совместно с лабораторией экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

Экспрессию Ki-67 определяли иммуногистохимическим методом на срезах с парафиновых блоков опухолей, предназначенных для стандартного морфологического исследования.

Для оценки пролиферативной активности (ПА) опухоли подсчитывали количество Ki-67-положительных опухолевых клеток, приходящиеся на 200–300 опухолевых клеток.

Индекс Ki-67 определяли по формуле:

$$ПА = \frac{\text{число Ki-67 положительных клеток}}{\text{общее количество клеток}} \cdot 100.$$

Результаты иммуногистохимического исследования сопоставляли с клинико-морфологическими параметрами, характеризующими степень распространенности опухолевого процесса. Больные обследовались в соответствии с алгоритмом диагностических методов этой категории больных. Стадирование РЯ, лечение, а также оценка результатов лечения проводились в соответствии с принятыми стандартами FIGO.

С целью оценки результатов лечения был создан кодификатор, включающий в себя 214 изучаемых параметров.

Математический анализ всех данных и полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ Statistica для Windows и SPSS.

При сравнении клинико-лабораторных показателей использовали *t*-критерий Стьюдента, медиан-

ный тест Крускала–Уоллиса, тест корреляции рангов Спирмена. Расчет выживаемости проводили методом Каплана–Мейера. Многофакторный анализ проводился с использованием модели пропорционального риска Кокса.

Достоверность различий средних значений оценивали по *t*-критерию Стьюдента и с помощью непараметрического критерия подобранных пар Вилкоксона, частот распределения – по критерию χ^2 . Корреляционные зависимости оценивали методом простой линейной корреляции Пирсона (*r*) и с помощью непараметрических критериев: корреляции рангов Спирмена (*R*) и медианного теста Крускала–Уоллиса. Во всех случаях различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Из числа 48 обследованных больных у 31 установлена I, а у 17 – II стадия РЯ. По гистологической структуре из 48 изученных образцов в 26 наблюдениях опухоль имела строение серозной цистаденокарциномы (СЦАК), в 16 – эндометриоидной (ЭЦАК), в 6 – муцинозной цистаденокарциномы (МЦАК).

Маркер Ki-67 выявлен во всех 48 образцах и его значения колебались от 1 до 90%. При этом уровень экспрессии Ki-67-положительных клеток при СЦАК был достоверно выше, чем при ЭЦАК и МЦАК (45% против 12,5% соответственно, $p = 0,04$).

У больных СЦАК яичников показатель Ki-67 был минимальный при высокой степени дифференцировки опухоли (G1) и достоверно выше при умеренной (G2) и низкой (G3) степени дифференцировки опухоли ($p = 0,049$) (табл. 1). При эндометриоидной форме рака наблюдалась обратная тенденция: доля Ki-67 положительных клеток при высокой и умеренной степени дифференцировки опухоли составила в среднем 30–33%, при низкой степени дифференцировки – всего 5,5%.

Сравнительно высокое содержание Ki-67 обнаружено в ткани опухолей тех больных, которые имели как минимум одни роды в анамнезе ($38,2 \pm 5,4\%$ по сравнению с $28,6 \pm 9,4\%$ у нерожавших больных, $p > 0,05$).

Таблица 1

Экспрессия Ki-67 в опухоли у больных РЯ I–II стадии в зависимости от степени дифференцировки опухоли

| Гистологическая форма опухоли | Степень дифференцировки опухоли | Число больных | Число Ki-67+, % | Медиана Ki-67, % |
|-------------------------------|---------------------------------|---------------|-----------------|------------------|
| СЦАК | Высокая | 4 | 7,5 ± 2,5 | 7,5 |
| | Умеренная | 8 | 49,2 ± 8,8 | 50 |
| | Низкая | 14 | 51,8 ± 8,9 | 55 |
| ЭЦАК | Высокая | 7 | 33,7 ± 11,0 | 40 |
| | Умеренная | 5 | 30,0 ± 9,6 | 30 |
| | Низкая | 4 | 5,5 ± 2,6 | 5,5 |
| МЦАК | Высокая | 5 | 26,3 ± 21,3 | 5 |
| | Умеренная | 0 | - | - |
| | Низкая | 1 | 30* | - |

Примечание. * – одна больная (абсолютное значение).

Таблица 2

Экспрессия Ki-67 в опухоли у больных РЯ I–II стадии в зависимости от наличия миомы матки

| Гистологическая форма опухоли | Наличие миомы | Число больных | Количество Ki-67, % | Медиана Ki-67, % |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------------|------------------|
| СЦАК | Нет | 14 | 39,1 ± 8,4 | 40 |
| | Да | 12 | 49,2 ± 8,4 | 55 |
| ЭЦАК | Нет | 13 | 17,9 ± 5,7 | 10 |
| | Да | 3 | 53,3 ± 6,7 | 60 |
| МЦАК | Нет | 4 | 10,0 ± 5,0 | 5 |
| | Да | 2 | 5 и 90** | 47,5 |

Примечание. Различия достоверны ($p = 0,01$); * — двое больных (абсолютные значения).

Независимо от гистологического строения новообразования, количество Ki-67-положительных клеток в опухоли оказалось выше у тех пациенток, у которых помимо РЯ имелась миома матки ($49,7 \pm 7,0\%$, медиана 60%, против $27,3 \pm 5,1\%$, медиана 15%, $p = 0,01$). В среднем медианы различались в 4 раза, однако у больных эндометриоидной и муцинозной формой цистаденокарциномы медианы различались в 6 и 9,5 раза соответственно, а у больных СЦАК всего в 1,4 раза (табл. 2).

В группе больных СЦАК яичников, при наличии отягощенного онкологического семейного анамнеза наблюдалась явная тенденция к превосходству степени экспрессии Ki-67 по сравнению с таковым у больных спорадической формой рака ($60,0 \pm 4,7\%$ против $35,2 \pm 8,0\%$).

Отмечен сравнительно высокий уровень экспрессии Ki-67 у больных с асцитической формой РЯ. Так, у больных СЦАК без асцита медиана экспрессии белка Ki-67 равнялась 30%, а при наличии асцита – 50%, у больных ЭЦАК соответственно – 5 и 40%. Установлено, что у больных РЯ I–II стадий при наличии клеток опухоли в смывах из брюшной полости независимо от гистологической формы опухоли медиана экспрессии белка Ki-67 несколько выше, чем при отсутствии таковых (30 и 10% соответственно; $p > 0,005$).

Зависимости содержания белка Ki-67 в опухоли от стадии заболевания нами не выявлено (табл. 3).

В то же время, выявлена достоверная корреляция между уровнем экспрессии белка Ki-67 в ткани СЦАК и возрастом больных. Экспрессия белка Ki-67 в ткани опухоли была сравнительно низкой у молодых молодого возраста и более выраженная у лиц в возрасте 62 года и старше ($r = 0,44$; $p = 0,026$). Подобной закономерности у больных эндометриоидной и муцинозной аденокарциномой не наблюдалась.

Отмечена взаимосвязь между уровнем экспрессии белка Ki-67 и индексом массы тела у больных ЭЦАК яичников. Содержание белка Ki-67 в ткани опухоли было высоким у больных с низким индексом массы тела и, наоборот, низкое при высоком индексе массы тела ($r = -0,8$; $p = 0,001$). Как уже было отмечено выше, пациентки с ЭЦАК яичников имели наиболее высокие значения индекса массы тела, при этом содержание Ki-67-положительных клеток у них не превышало 20%. Подобной зависимости у больных серозной и муцинозной формами РЯ не отмечено.

Таблица 3

Экспрессия Ki-67 в опухоли у больных РЯ в зависимости от стадии заболевания

| Гистологическая форма опухоли | Стадия (FIGO) | Число больных | Количество Ki-67, % | Медиана Ki-67, % |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------------|------------------|
| СЦАК | Ia+Ib | 11 | 46,6 ± 9,0 | 45 |
| | Ic | 5 | 53,2 ± 18,9 | 70 |
| | IIa+IIb | 2 | 70 и 70* | 70 |
| ЭЦАК | IIc | 8 | 32,6 ± 8,3 | 35 |
| | Ia+Ib | 8 | 25,3 ± 10,3 | 10 |
| | Ic | 4 | 35 ± 10,4 | 35 |
| МЦАК | IIa+IIb | 3 | 14,0 ± 13,0 | 1 |
| | IIc | 1 | 15* | |
| | Ia+Ib | 5 | 27,0 ± 16,5 | 5 |
| | IIa+IIb | 1 | 20* | |

Примечание. Все различия недостоверны ($p > 0,05$); * – одна больная (абсолютное значение).

У больных СЦАК выявлена слабая зависимость между числом Ki-67-экспрессирующих клеток в опухоли и максимальным размером опухоли, которая становилась более очевидной при IIc стадии РЯ ($r = 0,7$; $p = 0,052$).

Проведенный нами анализ с целью определения возможной связи между уровнем опухолевого маркера СА-125 в крови и экспрессией белка Ki-67 в опухоли не выявил каких-либо закономерностей при серозной цистаденокарциноме ($r = 0$). У больных ЭЦАК высокому уровню экспрессии белка Ki-67 соответствовали меньшие значения СА-125. При этом зависимость была недостоверной ($r = -0,38$; $p = 0,17$). Эта корреляция становилась достоверной у пациенток с высокой степенью дифференцировки опухоли ($r = -0,9$; $p = 0,005$). При умеренной и низкой степени дифференцировки опухоли высокий уровень СА-125 сопровождается высокой экспрессией белка Ki-67 ($r = 0,31$; $p = 0,5$).

Для оценки выживаемости больных в зависимости от экспрессии белка Ki-67, всех пациентов разделили на 2 группы по содержанию белка в опухоли. При этом в процессе работы разделение больных проводилось в зависимости от нескольких уровней референсного значения маркера (10, 20, 30, 40 и 50%). При сравнении выживаемости больных с уровнем индекса Ki-67 менее 10% и более 10% не обнаружено никаких закономерностей. В связи с этим мы стали сравнивать выживаемость больных в зависимости от референсного значения Ki-67 – 20, 30, 40 и 50%. Оказалось, что более отчетливая зависимость выживаемости в зависимости от индекса Ki-67 в ткани опухоли проявлялась только тогда, когда за референсное значение индекса Ki-67 принято 50% содержание опухолевых клеток.

Из 48 обследованных у 14 больных индекс Ki-67 составил менее 50%, у 34 больных – более 50% (табл.4).

Выявлена тенденция снижения отдаленных результатов лечения больных РЯ в группе больных с индексом Ki-67 более 50% ($p = 0,1$) (см. табл. 4). Так, при значениях белка Ki-67 в опухоли от 50% и более только треть пациенток пережили 10-летний срок, а

Таблица 4

Отдаленные результаты лечения больных РЯ I–II стадии в зависимости от экспрессии Ki-67 в ткани опухоли

| Уровень экспрессии Ki-67 | Число, абс. | Медиана, мес | Общая выживаемость, годы | | | p |
|--------------------------|-------------|--------------|--------------------------|-------------|-------------|--------|
| | | | 3 | 5 | 10 | |
| > 50% | 34 | не дост. | 95,2 ± 4,5 | 85,7 ± 9,7 | 85,7 ± 9,7 | > 0,05 |
| > 50% | 14 | 69,0 ± 15,8 | 88,9 ± 10,5 | 71,1 ± 17,0 | 35,6 ± 26,7 | |

медиана длительности жизни достигала 69 мес, тогда как при Ki-67 менее 50% общая 10-летняя выживаемость больных РЯ составила 85,7%.

Оценка безрецидивной выживаемости больных РЯ I–II стадии по предложенному пороговому значению белка Ki-67 также не выявила значимых различий ($p = 0,4$). 5-летняя безрецидивная выживаемость при низких значениях показателя составила $65,1 \pm 10,9\%$, медиана длительности жизни до прогрессирования не достигнута, а в группе больных с высокими значениями белка Ki-67 5-летняя безрецидивная выживаемость составила $58,4 \pm 16,3\%$, а медиана – $69 \pm 26,6$ мес.

Заключение

Таким образом, проведенные клинико-молекулярные исследования показали, что экспрессия Ki-67 установлена во всех исследованных образцах опухоли у больных РЯ I и II стадии, и что индекс Ki-67 был достоверно выше у больных СЦАК яичников (45%) и одинаково низок в ткани эндометриальной (12,5%) и муцинозной аденокарциномы (12,5%), ($p = 0,04$). Более наглядные закономерности отмечены при изучении взаимосвязи индекса Ki-67 с клинико-морфологическими параметрами серозной аденокарциномы. В частности, обращает на себя внимание то, что индекс Ki-67 и, следовательно, пролиферативная активность опухоли сравнительно низкая у больных молодого возраста, высокая у лиц в возрасте 62 года и старше. Отмечена тенденция к повышению индекса Ki-67 по мере увеличения размеров самой опухоли СЦАК, и эта тенденция становилась явной у больных со II стадией заболевания. При этом индекс Ki-67 был примерно одинаков у больных I и II стадии РЯ, (27–35%). В то же время, при наличии в смывах клеток рака независимо от гистологической формы опухоли медиана содержания белка Ki-67 в ткани опухоли оказалась несколько выше, чем при отсутствии таковых (30 и 10% соответственно). Значения экспрессии белка достоверно повышались у больных с наличием миомы матки. При умеренной и низкой степени дифференцировки опухоли высокий уровень СА-125 в сыворотке крови сопровождался повышенной экспрессией белка Ki-67.

Взаимосвязь между пролиферативной активностью опухоли и выживаемостью больных РЯ I и II стадии имеет характер тенденции. При значениях белка Ki-67 в опухоли от 50% и более, только треть пациенток пережили 10-летний срок, тогда как при Ki-67 менее 50% 10-летний срок пережили большинство больных РЯ (85,7%).

Таким образом, полученные данные указывают на то, что Ki-67 характерен для самой агрессивной формы РЯ – СЦАК яичников, и, что с высоким индексом

Ki-67 в ткани опухоли сопряжен неблагоприятный прогноз заболевания даже при I и II стадии болезни, т. е. белок Ki-67 может быть рассмотрен в качестве неблагоприятного молекулярного фактора прогноза РЯ начальных стадий.

ЛИТЕРАТУРА

- Ефремов Г.Д. Роль иммуногистохимии в диагностике рака предстательной железы. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2011; 1: 50–6.
- Имянитов Е.Н. Молекулярные нарушения в опухолях яичников. В кн.: Горбунова В.А., ред. *Диагностика и лечение рака яичников*. М.: Медицинское информационное агентство; 2011: 15–28.
- Козаченко В.П. *Клиническая онкология*. М.: Медицина. 2005.
- Никогосян С.О., Кузнецов В.В. Рак яичников: вопросы диагностики и современные методы лечения. *Врач*. 2010; 9: 2–9.
- Полушкина И. Н. *Биомолекулярные маркеры как факторы прогноза при серозном раке яичников III–IV стадии*: Дисс.... канд. мед. наук. М.: 2003.
- Chan J.K., Tian C., Monk B.J. et al. Prognostic factors for high-risk early-stage epithelial ovarian cancer. *Am. J. Cancer*. 2008; 112(10): 2202–10.
- Köbel M., Kalloger S.E., Boyd N., McKinney S., Mehl E. et al. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: Implications for biomarker studies. *PLoS Med*. 2008; 5(12): e232.
- Kommoss S., Rochon J., Harter P. et al. Prognostic impact of additional extended surgical procedures in advanced-stage primary ovarian cancer. *Ann. Surg. Oncol*. 2010 Jan; 17(1): 279–86.
- Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Программированная клеточная смерть (апоптоз). *Российский онкологический журнал*. 1996; 1: 58–61.
- Татосян А.Г. Молекулярно-генетические изменения в злокачественных клетках. В кн.: Заридзе Д.Г., ред. *Канцерогенез*. М.: Научный мир; 2000: 57–74.
- Степанова Е.В., Барышников А.Ю., Никогосян С.О., Кузнецов В.В., Карапетян В.Л. Молекулярно-биологические факторы прогноза рака яичников начальных стадий. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. 2011; 22(1): 37–41.
- Anttila M., Kosma V., Li H. et al. Clinical significance of catenincjllagen IV, and Ki-67 expression in epithelial ovarian cancer. *J. Clin. Oncol*. 1998, 16: 2591–600.
- Harlozinc A., Bar J., Sedlakzek P. et al. Expression of p53 protein and Ki-67 reactivity in ovarian neoplasms. Correlation with histopathology. *Am. J. Clin. Pathol*. 1996; 105(3): 334–40.
- Khouja M.H., Baekelandt M., Nesland J.M., Holm R. The clinical importance of Ki-67, p16, p14, and p57 expression in patients with advanced ovarian carcinoma. *Int. J. Gynecol. Pathol*. 2007; 26(4): 418–25.
- Marrack J.R. Nature of antibodies. *Nature*. 1934; 133: 292–3.
- Coons A.H., Creech H.J., Jones R.N. Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*. 1941; 47: 200–2.
- Coons A.H., Leduc E.H., Connolly J.M. Studies on antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. *J. Exp. Med*. 1955; 102: 49–60.
- Korkolopoulou P., Vassilopoulos I., Koustantinidou A.E. et al.: The combined valuation of p27 kipl and Ki-67 expression provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. *J. Gynecol. Oncol*. 2002; 85(3): 404–14.
- Khalifeh I., Munkarah A.R., Schimp V. et al. The impact of c-kit and ki-67 expression on patients prognosis in advanced ovarian serous carcinoma. *Int. J. Gynecol. Pathol*. 2005; 24(3): 228–34.
- Scholzen T., Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J. Cell. Physiol*. 2000; 182(3): 311–22.
- Penault-Llorca F., Cayre A., Bouchet Mishellany F. et al. Induction chemotherapy for breast carcinoma: predictive markers and relation with outcome. *Int. J. Oncol*. 2003; 22 (6): 1319–25.

22. Ojea Calvo A., Mosteiro Cervino M.J., Dominguez Freire F., Alonso Rodrigo A., Rodriguez Iglesias B., Benavente Delgado J. et al. Prognostic factors of prostate cancer: usefulness of Ki-67 expression in preoperative biopsies. *Arch. Esp. Urol.* 2004; 57(8): 805–16.
23. Mulligan J.M., Mai K.T., Parks W., Gerridzen R.G. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and MIB 1: Markers of locally advanced and biologically aggressive prostate cancer. *Can. J. Urol.* 1997; 4(3): 422–5.
24. Rioux-Leclercq N., Leray E., Patard J.J., Lobel B., Guille F. et al. The utility of Ki-67 expression in the differential diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia and ductal adenocarcinoma. *Hum. Pathol.* 2005; 36(5): 531–5.
25. Taftachi R., Ayhan A., Ekici S., Ergen A., Ozen H. Proliferating-cell nuclear antigen (PCNA) as an independent prognostic marker in patients after prostatectomy: a comparison of PCNA and Ki-67. *Br. J. Urol. Int.* 2005; 95(4): 650–4.
26. Reitmaier M., Rudlowski C., Biersterfeld S. et al. Comparative studies on the biological significance of the marker for proliferation Ki-67 antigen and PCNA in primary ovarian carcinoma. *Zbl. Gynakol.* 2000; 122(7): 361–7.
27. Kerner R., Sabo E., Gershoni-Baruch R. et al. Expression of cell cycle regulatory proteins in ovaries prophylactically removed from Jewish Ashkenazi BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: correlation with histopathology. *Gynecol. Oncol.* 2005; 99(2): 367–75.
28. Harlozinca A., Bar J., Sedlakzek P. et al. Expression of p53 protein and Ki-67 reactivity in ovarian neoplasms. Correlation with histopathology. *Am. J. Clin. Pathol.* 1996; 105(3): 334–40.
29. Schindlbeck C., Hantschmann R., Zerzer M., Jahni W. et al. Prognostic impact of Ki67, p53, human epithelial growth factor receptor 2, topoisomerase IIalpha, epidermal growth factor receptor, and nm23 expression of ovarian carcinomas and disseminated tumor cells in the bone marrow. *Int. J. Gynecil. Cancer.* 2007; 17(5): 1047–55.
30. Viale G., Maisonneuve P., Bonoldi E. et al. The combined evaluation of p53 and of Ki-67 (MIB1) labeling index provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. *Ann. Oncol.* 1997; 8(5): 469–76.

REFERENCES

1. Efremov G.D. The role of immunohistochemistry in the diagnosis of prostate cancer. *Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya.* 2011; 1: 50–6. (in Russian)
2. Imyanitov E.N. Molecular defects in tumors of the ovary. In: Gorbunova V.A., ed. *Diagnosis and Treatment of Ovarian Cancer. [Diagnostika i lechenie raka yaichnikov]*. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2011: 15–28. (in Russian)
3. Kozachenko V.P. *Clinical Oncology. [Klinicheskaya onkologiya]*. Moscow: Meditsina. 2005. (in Russian)
4. Nikogosyan S.O., Kuznetsov V.V. Ovarian cancer: questions of diagnostics and modern treatment methods. *Vrach.* 2010; 9: 2–9. (in Russian)
5. Polushkina I.N. *Biomolecular markers as prognostic factors in serous ovarian cancer stage III–IV. [Biomolekulyarnye markery kak faktory prognoza pri seroznom raka yaichnikov III–IV stadii]*. Diss. Moscow; 2003. (in Russian)
6. Chan J.K., Tian C., Monk B.J. et al. Prognostic factors for high-risk early-stage epithelial ovarian cancer. *Am. J. Cancer.* 2008; 112(10): 2202–10.
7. Köbel M., Kalløger S.E., Boyd N., McKinney S., Mehl E. et al. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: Implications for biomarker studies. *PLoS Med.* 2008 December 5(12): e232.
8. Kommos S., Rochon J., Harter P., et al. Prognostic impact of additional extended surgical procedures in advanced-stage primary ovarian cancer. *Ann. Surg. Oncol.* 2010; 17(1): 279–86.
9. Baryshnikov A.Yu., Shishkin Yu.V. Programmed cell death (apoptosis). *Rossyiskiy onkologicheskii zhurnal.* 1996; 1: 58–61. (in Russian)
10. Tatosyan A.G. Molecular-genetic changes in cancer cells. In: Zaridze D.G., ed. *Carcinogenesis. [Kantserogenez]*. Moscow: Nauchnyy mir; 2000. (in Russian)
11. Stepanova E.V., Baryshnikov A. Yu. Nikogosyan S.O., Kuznetsov V.V., Karapetyan V.L. Molecular-biological factors of prognosis of ovarian cancer initial stages. *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina RAMN.* 2011; 22(1): 37–41. (in Russian).
12. Anttila M., Kosma V., Li H. et al. Clinical significance of catenine/cyclin IV, and Ki-67 expression in epithelial ovarian cancer. *J. Clin. Oncol.* 1998; 16: 2591–600.
13. Harlozinca A., Bar J., Sedlakzek P. et al. Expression of p53 protein and Ki-67 reactivity in ovarian neoplasms. Correlation with histopathology. *Am. J. Clin. Pathol.* 1996; 105(3): 334–40.
14. Khouja MH, Baekelandt M, Nesland JM, Holm R. The clinical importance of Ki-67, p16, p14, and p57 expression in patients with advanced ovarian carcinoma. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2007; 26(4): 418–25.
15. Marrack J.R. Nature of antibodies. *Nature.* 1934; 133: 292–3.
16. Coons A.H., Creech H.J., Jones R.N. – Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.).* 1941; 47: 200–2.
17. Coons A.H., Leduc E.H., Connolly J.M. Studies on antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. *J. Exp. Med.* 1955; 102: 49–60.
18. Korkolopoulou P., Vassilipoulos I., Koustantinidou A.E. et al. The combined valuation of p27 kipl and Ki-67 expression provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. *J. Gynecol. Oncol.* 2002, 85(3): 404–14.
19. Khalifeh I., Munkarah A.R., Schimp V. et al. The impact of c-kit and ki-67 expression on patients prognosis in advanced ovarian serous carcinoma. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2005; 24(3): 228–34.
20. Scholzen T., Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J. Cell. Physiol.* 2000; 182(3): 311–22.
21. Penault-Llorca F., Cayre A., Bouchet Mishellany F. et al. Induction chemotherapy for breast carcinoma: predictive markers and relation with outcome. *Int. J. Oncol.* 2003; 22 (6): 1319–25.
22. Ojea Calvo A., Mosteiro Cervino M.J., Dominguez Freire F., Alonso Rodrigo A., Rodriguez Iglesias B., Benavente Delgado J. et al. Prognostic factors of prostate cancer: usefulness of Ki-67 expression in preoperative biopsies. *Arch. Esp. Urol.* 2004; 57(8): 805–16.
23. Mulligan J.M., Mai K.T., Parks W., Gerridzen R.G. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and MIB 1: Markers of locally advanced and biologically aggressive prostate cancer. *Can. J. Urol.* 1997; 4(3): 422–5.
24. Rioux-Leclercq N., Leray E., Patard J.J., Lobel B., Guille F. et al. The utility of Ki-67 expression in the differential diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia and ductal adenocarcinoma. *Hum. Pathol.* 2005; 36(5): 531–5.
25. Taftachi R., Ayhan A., Ekici S., Ergen A., Ozen H. Proliferating-cell nuclear antigen (PCNA) as an independent prognostic marker in patients after prostatectomy: a comparison of PCNA and Ki-67. *Br. J. Urol. Int.* 2005; 95(4): 650–4.
26. Reitmaier M., Rudlowski C., Biersterfeld S. et al. Comparative studies on the biological significance of the marker for proliferation Ki-67 antigen and PCNA in primary ovarian carcinoma. *Zbl. Gynakol.* 2000; 122(7): 361–7.
27. Kerner R., Sabo E., Gershoni-Baruch R. et al. Expression of cell cycle regulatory proteins in ovaries prophylactically removed from Jewish Ashkenazi BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: correlation with histopathology. *Gynecol. Oncol.* 2005; 99(2): 367–75.
28. Harlozinca A., Bar J., Sedlakzek P. et al. Expression of p53 protein and Ki-67 reactivity in ovarian neoplasms. Correlation with histopathology. *Am. J. Clin. Pathol.* 1996; 105(3): 334–40.
29. Schindlbeck C., Hantschmann R., Zerzer M., Jahni W. et al. Prognostic impact of Ki67, p53, human epithelial growth factor receptor 2, topoisomerase IIalpha, epidermal growth factor receptor, and nm23 expression of ovarian carcinomas and disseminated tumor cells in the bone marrow. *Int. J. Gynecil. Cancer.* 2007; 17(5): 1047–55.
30. Viale G., Maisonneuve P., Bonoldi E. et al. The combined evaluation of p53 and of Ki-67 (MIB1) labeling index provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. *Ann. Oncol.* 1997; 8(5): 469–76.

Поступила 11.06.14

Received 11.06.14