

ЭСТРОГЕНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ КАК ПРЕДИКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ПЛАТИНЫ И ТАКСАНОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

**Т.А. Богуш, А.А. Башарина, Е.А. Богуш, Н.О. Вихлянцева, Г.Ю. Чемерис,
К.И. Жордания, А.С. Тюляндина, С.А. Тюляндин**

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва

Замечательному человеку, ученому, другу
Ирине Борисовне Зборовской посвящаем

Цель исследования. Оценка клинической значимости экспрессии эстрогеновых рецепторов разных типов (ER α и ER β) в прогнозе эффективности химиотерапии рака яичников (РЯ) препаратами платины и таксанов.

Материалы и методы. Количественная оценка уровня экспрессии ER α и ER β в ткани РЯ проведена методом проточной цитофлуориметрии на когорте пациенток ($n = 31$), унифицированной по клиническим характеристикам: III стадия серозного РЯ высокой степени злокачественности, неоптимальный объем циторедукции, 6 курсов первой линии химиотерапии препаратами платины и таксанов.

Результаты. Экспрессия ER β и ER γ выявлена во всех образцах РЯ, при этом отмечены значительная гетерогенность показателей у разных больных и превышение медианы уровня экспрессии ER γ в 1,5 раза по сравнению с показателем для ER β . При анализе кривых Каплана–Майера показано, что медиана продолжительности безрецидивного периода в 2 раза выше ($p = 0,02$), а риск возникновения рецидива в 2,5 раза меньше ($p = 0,04$) в группе с высоким vs с низким уровнем экспрессии ER β .

Заключение. Высокий уровень экспрессии ER β в опухоли (в более 40% клеток) является предиктором эффективности первой линии химиотерапии РЯ препаратами платины и таксанов.

Ключевые слова: эстрогеновые рецепторы α , эстрогеновые рецепторы β , рак яичников, проточная цитофлуориметрия, химиотерапия, препараты платины и таксанов.

ESTROGEN RECEPTORS AS PREDICTORS OF THE EFFECTIVENESS OF PLATINUM AGENTS AND TAXANES IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER

**T.A. Bogush, A.A. Basharina, E.A. Bogush, N.O. Vikhlyantseva, G.Yu. Chemeris,
K.I. Zhordania, A.S. Tyulyandina, S.A. Tyulyandin**

Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the
Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

Dedicated to an amazing person, scientist, friend
Irina Borisovna Zborovskaya

Objective of the study is to evaluate the clinical significance of the expression of estrogen receptors of different types (ER α and ER β) in the prognosis of the effectiveness of platinum- and taxane-based chemotherapy for ovarian cancer.

Materials and Methods. Quantitative assessment of the level of ER α and ER β expression in ovarian cancer tissue was carried out using flow cytofluorometry technique in a patient cohort ($n=31$) homogenized by following clinical characteristics: stage III high-grade serous ovarian cancer, non-optimal extent of cytoreduction, 6 cycles of first line platinum- and taxane-based chemotherapy.

Results. ER α and ER β expression was revealed in all samples of ovarian cancer with significant heterogeneity of quantitative indicators of the markers in different patients and the excess of the median of ER β expression was 1,5 times as high as

the same indicator for ER α . Analyzing Kaplan -Meier curves for progression-free survival , it was evident that the median of progression-free survival was 2 times higher ($p = 0,02$) and the risk of recurrence was 2,5 times lower ($p = 0,04$) in the group with high vs low level of ER β expression.

Conclusion. *A high level of ER β expression in the tumor (in more than 40% of cells) is a predictor of the effectiveness of first line chemotherapy for ovarian cancer based on platinum- and taxane-based agents.*

Keywords: *estrogen receptors α , estrogen receptors β , ovarian cancer, flow cytofluorometry, chemotherapy, platinum- and taxane-based agents.*

Введение

В последние годы на фоне продолжающегося адъювантного применения антиэстрогенов при лечении рака молочной железы появился очевидный интерес к гормональной терапии опухолей других локализаций. В частности, показана эффективность применения антиэстрогенов при лечении РЯ [1], в том числе резистентного к препаратам платины [2].

Две группы фактов явились основанием для проведения данного исследования. С одной стороны, эстрогеновые рецепторы ER α и ER β , которые являются мишенью антиэстрогенов, одновременно представляют собой мишень и для пролиферативных стимулов [3]. С другой стороны, известно, что пролиферативная активность клеток является одной из важнейших биологических характеристик опухоли, которая вносит вклад в эффективность цитостатиков [4]. Принимая во внимание эти данные, авторы предположили возможную предиктивную значимость ER α и ER β и оценили корреляцию количественных показателей уровня экспрессии этих молекулярных маркеров с ответом на химиотерапию с включением препаратов платины и таксанов. При этом, поскольку известно, что вероятность выявления предиктивной значимости молекулярных маркеров значительно выше при исследовании когорты больных, унифицированной по клиническим показателям заболевания [5], в данное исследование включены только пациентки с III стадией серозного РЯ высокой степени злокачественности с неоптимальным объемом хирургической циторедукции. Все больные получили шесть курсов первой линии химиотерапии.

Материалы и методы исследования

В проспективное исследование включены пациентки ($n = 31$), проходившие лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Как упомянуто выше,

критериями включения в исследования были: III стадия серозного РЯ высокой степени злокачественности, неоптимальный объем хирургической циторедукции, шесть курсов первой линии (front-line) химиотерапии препаратами платины и таксанов. В качестве показателя эффективности химиотерапии использовали продолжительность безрецидивного периода болезни после завершения химиотерапии.

Количественная оценка экспрессии эстрогеновых рецепторов в хирургических образцах опухолевой ткани проведена ранее разработанным иммунофлуоресцентным методом, ассоциированным с проточной цитофлуориметрией [6]. В работе использованы первичные моноклональные антитела к ER α (клон SP1, ab16660) и к ER β (клон 14C8, ab288), а также вторичные антитела, конъюгированные с DyLight650 (ab98729 — для ER α и ab98510 — для ER β). Для удаления из анализа дедбриса и эритроцитов после завершения инкубации с антителами клетки инкубировали со специфическим красителем ДНК Hoechst 33258 (Sigma-Aldrich, США). В анализ включали только клетки с окрашенными ядрами, клеточные конгломераты выводили из анализа путем дополнительного гейтирования. Уровень экспрессии маркера (в процентах) рассчитывали как количество специфически флуоресцирующих клеток относительно контроля (инкубация клеток только со вторичными антителами).

Статистический анализ результатов проведен с помощью программы GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, San Diego CA, USA). Нормальность распределения уровня экспрессии исследована с помощью теста Шапиро–Уилка ($p > 0,05$). Метод t -критерий Стьюдента использован для оценки статистической значимости различий в уровне экспрессии маркеров в опухолевой ткани у разных больных. Корреляция между количественными показателями экспрессии ER α и ER β и продолжительностью

безрецидивного периода после завершения первой линии химиотерапии оценена с помощью кривых выживаемости Каплана–Майера (логранк тест) и регрессионной модели Кокса. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Уровень экспрессии ERα и ERβ в ткани рака яичников

Данные, представленные в табл. 1, показывают, что экспрессия как ERα, так и ERβ выявлена во всех исследованных образцах ткани РЯ. Отмечена значительная гетерогенность показателей (вариабельность от больного к больному): для обоих маркеров значение верхней квартили медианы уровня экспрессии в 1,6 раза превысило значения нижней квартили. Средний уровень экспрессии ERβ составил $41,7 \pm 12,4\%$, что более чем в 1,5 раза выше по сравнению с показателем для ERα — $25,9 \pm 11,1\%$ ($p = 0,001$).

Распределение опухолей в соответствии с уровнем экспрессии ERα и ERβ было нормальным (тест Шапиро–Уилка: $p = 0,12$ и $0,78$, соответственно), поэтому для оценки предиктивной значимости маркеров опухоли разделили на группы сравнения по медиане показателя: 25% — для ERα и 40% — для ERβ. Таким образом, опухоли с уровнем экспрессии маркера, меньшим или равным медиане, составили группу низкой экспрессии, а больше медианы — высокой экспрессии ERα и ERβ, соответственно.

Предиктивная значимость экспрессии ERα и ERβ у больных раком яичников

Предиктивная значимость экспрессии ERα и ERβ в опухолевой ткани оценена с помощью

кривых выживаемости Каплана–Майера (логранк тест) и регрессионной модели Кокса.

Результаты, представленные на рис. 1а, показывают, что в группах с низким и высоким уровнем экспрессии в опухоли ERα медиана продолжительности безрецидивного периода болезни оказалась практически одинаковой — 8 vs 10 мес. соответственно (рис. 1а). Не выявлено различий и в рисках возникновения рецидива (HR) в группах сравнения с разным уровнем экспрессии ERα (95% CI: 0,70–3,8, $p = 0,80$). Таким образом, уровень экспрессии ERα в ткани РЯ не проявил клинической значимости в предсказании ответа на химиотерапию препаратами платины и таксанов у пациенток с III стадией серозного РЯ.

Совершенно другой результат получен для ERβ (рис. 1б). Медиана продолжительности безрецидивного периода болезни у пациенток с высоким уровнем экспрессии ERβ в опухоли была значительно выше, чем в группе с низким уровнем экспрессии маркера: 18 vs 8 мес. соответственно ($p = 0,02$). При оценке рисков рецидивирования (HR) между данными группами обнаружены статистически значимые различия. Риск возврата болезни у пациенток с высокой экспрессией ERβ в опухоли был в 2,5 раза ниже, чем в группе с низким уровнем экспрессии маркера (95% ДИ: 1,3–6,6, $p = 0,04$). Таким образом, высокий уровень экспрессии ERβ в опухоли является благоприятным предиктивным маркером, который прогнозирует эффективность химиотерапии с включением препаратов платины и таксанов.

Заключение

В данной работе с помощью разработанного авторами строго количественного иммунофлуо-

Таблица 1

Количественные показатели экспрессии ERα и ERβ в ткани РЯ

Опухолевый маркер	Уровень экспрессии маркера			
	Mean ± SD*, %	p**	Медиана, % [Q1; Q3***]	p****
ERα	25,9 ± 11,1	0,001	25,0 [19,0; 33,0]	0,12
ERβ	41,7 ± 12,4		40,0 [33,0; 52,0]	0,78

* Среднее значение ± стандартное отклонение; ** p — t -критерий Стьюдента; *** Q1; Q3 — нижняя и верхняя квартили, соответственно; **** p — тест Шапиро–Уилка.

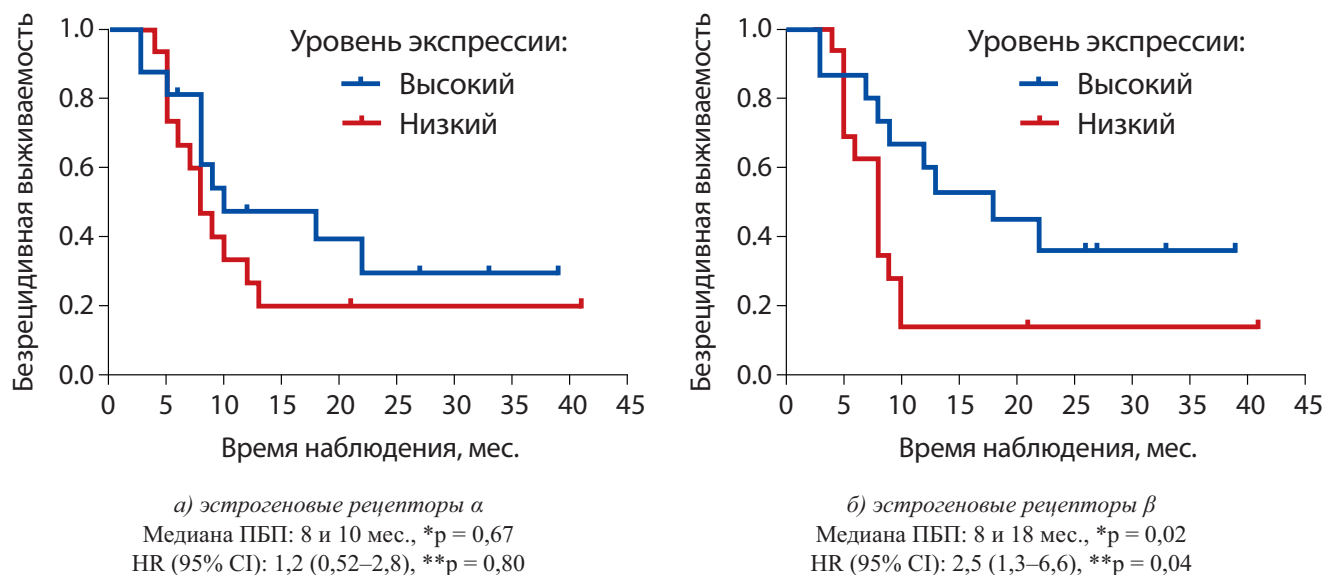


Рис. 1. Кривые безрецидивной выживаемости Каплана–Майера в группах больных с низким и высоким уровнем экспрессии эстрогеновых рецепторов в ткани РЯ: ПБП — продолжительность безрецидивного периода болезни (p — лонгранк тест); HR — соотношение рисков возврата болезни в группах сравнения с низкой и высокой экспрессией эстрогеновых рецепторов (p — регрессионная модель Кокса); CI — доверительный интервал

ресцентного метода, ассоциированного с проточной цитофлуориметрией [6], получены следующие принципиально важные результаты.

Во-первых, в ткани РЯ выявлена гетерогенность уровня экспрессии эстрогеновых рецепторов α - и β -типов — вариабельность количественных показателей экспрессии маркеров у разных больных. Во-вторых, во всех исследованных образцах опухолей выявлена коэкспрессия ER α и ER β , при этом уровень ER β более чем в 1,5 раза превысил данный показатель для ER α . Принимая во внимание, что эстрогеновые рецепторы являются мишенью антиэстрогенов, полученные результаты указывают на возможную эффективность гормональной терапии у всех больных РЯ (по аналогии со злокачественной опухолью молочной железы — в адъювантном режиме). При этом «главной» мишенью, по-видимому, являются ER β .

Более того, благодаря полученным результатам удалось ответить на главный вопрос, поставленный в исследовании: является ли экспрессия в опухоли эстрогеновых рецепторов предиктором эффективности первой линии химиотерапии препаратами платины и таксанов у больных РЯ? В нашей работе продемонстрирована предиктивная значимость для данной терапии ER β , но не ER α .

Показано, что высокий уровень экспрессии ER β в ткани РЯ (более чем в 40% опухолевых клеток) является благоприятным предиктивным маркером эффективности шести курсов первой линии стандартной химиотерапии препаратами платины и таксанов у больных с III стадией низкодифференцированного серозного РЯ после неоптимальной хирургической циторедукции опухоли. У больных с высоким уровнем экспрессии ER β медиана продолжительности безрецидивного течения болезни была в 2 раза выше, а риск развития рецидива, напротив, — в 2,5 раза меньше по сравнению с группой пациенток с низкой экспрессией этого маркера в опухоли.

Мы считаем, что выявление четкой статистически высоко достоверной предиктивной значимости ER β при исследовании малой когорты больных ($n = 31$) стало возможным только благодаря использованию строго количественной иммунофлуоресцентной оценки уровня экспрессии маркеров методом проточной цитофлуориметрии и включению в анализ унифицированной когорты пациенток. Согласно данным литературы из базы данных MEDLINE за последние 10 лет, наше исследование является первым, в котором экспрессия эстрогеновых рецепторов изучена с помощью проточной

цитофлуориметрии на максимально однородной по клиническим показателям когорте больных РЯ.

Итак, высокий уровень экспрессии ER β в опухолевой ткани является предиктором эффективности первой линии химиотерапии с включением препаратов платины и таксанов

у пациенток с III стадией серозного РЯ высокой степени злокачественности. В настоящее время для оценки «универсальности» предиктивной значимости ER β исследование продолжается на большей когорте пациенток с неоднородными клиническими характеристиками рака яичников.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Paleari L., Gandini S., Provinciali N., Puntoni M., Colombo N., DeCensi A.* Clinical benefit and risk of death with endocrine therapy in ovarian cancer: A comprehensive review and meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2017; 146(3): 504–513. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.06.036.
2. *Lindemann K., Gibbs E., Åvall-Lundqvist E., dePont Christensen R., Woie K., Kalling M., et al.* Chemotherapy vs tamoxifen in platinum-resistant ovarian cancer: a phase III, randomised, multicentre trial (Ovaresist). *Br J Cancer.* 2017; 116(4): 455–463. doi: 10.1038/bjc.2016.435.
3. *Voutsadakis I.A.* Hormone Receptors in Serous Ovarian Carcinoma: Prognosis, Pathogenesis, and Treatment Considerations. *Clin Med Insights Oncol.* 2016; 10: 17–25. doi: 10.4137/CMO.S32813.
4. *Chen M., Yao S., Cao Q., Xia M., Liu J., He M.* The prognostic value of Ki67 in ovarian high-grade serous carcinoma: an 11-year cohort study of Chinese patients. *Oncotarget.* 2016; 8(64): 107877–107885. doi: 10.18632/oncotarget.14112.
5. *Sargent D., Allegra C.* Issues in clinical trial design for tumor marker studies. *Semin Oncol.* 2002; 29(3): 222–230. doi: 10.1053/sonc.2002.32898.
6. *Bogush T.A., Tikhomirov M.V., Dudko E.A., Sinitsyna M.N., Ramanauskaitė R.J., Polotsky B.E., et al.* Quantitative immunofluorescence estimation of Pgp expression in human solid tumors by flow cytometry. *Mosc Univ Chem Bull.* 2012; 67(3):142–148. doi: 10.3103/S0027131412030054.

АВТОРЫ

Богущ Татьяна Анатольевна, заслуженный деятель науки Российской Федерации, доктор биологических наук, профессор, руководитель группы молекулярных опухолевых маркеров, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23, e-mail: tatbogush@mail.ru

Bogush Tatiana A., Honored Scientist of the Russian Federation, Ph.D. in Biological Sciences, Professor, Chief of the Group of Molecular Tumor Markers, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye highway, 23, e-mail: tatbogush@mail.ru

Башарина Анна Александровна, младший научный сотрудник, группа молекулярных опухолевых маркеров, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23, e-mail: basharinaa@inbox.ru

Basharina Anna A., Junior Research Associate, Group of Molecular Tumor Markers, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye highway, 23, e-mail: basharinaa@inbox.ru

Богущ Елена Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, отделение хирургическое № 2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23.

Bogush Elena A., Ph.D. in Medical Sciences, Senior Research Associate, Surgical Department № 2, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye highway, 23.

Вихлянцева Надежда Олеговна, младший научный сотрудник, группа молекулярных опухолевых маркеров, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23.

Vichljantzeva Nadezda O., Junior Research Associate, Group of Molecular Tumor Markers, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye highway, 23.

Чемерис Галина Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, отдел патологоанатомической анатомии опухолей человека, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23.

Chemeris Galina Y., Ph.D. in Biological Sciences, Senior Research Associate, Division of Anatomic Pathology of Human Tumors, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye highway, 23.

Жордания Кирилл Иосифович, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, отделение гинекологическое, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23.

Zhordania Kirill I., Ph.D. in Medical Sciences, Professor, Leading Research Associate, Department of Gynecology, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye highway, 23.

Тюляндина Александра Сергеевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, отделение клинической фармакологии и химиотерапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское ш., 23.

Tjulandina Alexandra S., Ph.D. in Medical Sciences, Senior Research Associate, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye highway, 23.

Тюляндин Сергей Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением клинической фармакологии и химиотерапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23.

Tjulandin Sergei A., Ph.D. in Medical Sciences, Professor, Head of Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye highway, 23.