

DOI: 10.21294/1814-4861-2024-23-45-53  
УДК: 618.11-006.66-08:615.28:57.053



Для цитирования: Жукова Г.В., Ульянова Е.П., Меньшенина А.П., Моисеенко Т.И., Златник Е.Ю., Непомнящая Е.М., Сагакянц А.Б., Вереникина Т.И. Иммуногистохимические показатели серозных карцином яичников и возможный механизм развития резистентности к препаратам платины. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 45–53. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-45-53

For citation: Zhukova G.V., Ulyanova E.P., Menshenina A.P., Moiseenko T.I., Zlatnik E.Yu., Nepomnyashchaya E.M., Sagakyants A.B., Verenikina T.I. Immunohistochemical parameters of serous ovarian carcinomas and possible mechanism of development of resistance to platinum-based drugs. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 45–53. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-45-53

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРОЗНЫХ КАРЦИНОМ ЯИЧНИКОВ И ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ПРЕПАРАТАМ ПЛАТИНЫ

Г.В. Жукова, Е.П. Ульянова, А.П. Меньшенина, Т.И. Моисеенко,  
Е.Ю. Златник, Е.М. Непомнящая, А.Б. Сагакянц, Т.И. Вереникина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России  
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

### Аннотация

**Цель исследования** – определение информативности иммуногистохимических показателей серозных карцином яичников и их статистических связей после неоадьювантного лечения для оценки развития резистентности опухолей к платиносодержащим режимам адьювантной полихимиотерапии (АПХТ). **Материал и методы.** Проводили иммуногистохимическое исследование опухолевой ткани у больных серозным раком яичников высокой степени злокачественности IIIС–IV стадии в возрасте 49–72 лет, чувствительных ( $n=59$ ) и резистентных ( $n=22$ ) к платиносодержащим режимам адьювантной полихимиотерапии, у которых был отмечен положительный эффект на неоадьювантную терапию. В ткани опухолей яичников, полученной на этапе хирургического вмешательства после неоадьювантной полихимиотерапии, изучали иммуногистохимические показатели пролиферативной активности (Ki67), экспрессии белка эксцизионной репарации ДНК ERCC1 и белков семейства ABC-транспортёров – Pgp и BCRP, а также статистические связи между этими показателями (коэффициент ранговой корреляции Спирмена). **Результаты.** На этапе хирургического лечения после эффективной неоадьювантной полихимиотерапии в серозных карциномах яичников, продемонстрировавших в дальнейшем резистентность к платиносодержащим режимам полихимиотерапии, отмечены более выраженные признаки активности процессов пролиферации, репарации ДНК и эффлюкса ксенобиотиков по сравнению с опухолями, сохранившими платиночувствительность. При этом более чем в 40 % случаев наблюдалось совпадение диапазонов значений исследованных показателей в опухолях с различной чувствительностью к препаратам платины. Показано, что экспрессия белков-транспортёров, превышающая 60 % для BCRP и 65 % для Pgp, предшествует развитию резистентности к адьювантному лечению с карбоплатином. В исследуемых группах наблюдались различия по числу, направленности и выраженности статистических связей между изученными показателями. Наиболее значительные отличия отмечены для корреляционной связи Ki67 – BCRP, имевшей противоположную направленность в группах с различной чувствительностью к адьювантному лечению с карбоплатином. **Заключение.** Получена комплексная иммуногистохимическая характеристика серозных карцином яичников после неоадьювантной полихимиотерапии, продемонстрировавших впоследствии различную чувствительность к платиносодержащим режимам адьювантной полихимиотерапии, с оценкой прогностического значения изученных показателей. Прогностическое значение в отношении эффекта АПХТ могут иметь выявленные критические уровни экспрессии Pgp и BCRP в ткани опухоли. Результаты корреляционного анализа позволяют предполагать связь формирования платинорезистентности с изменением характера регуляторных отношений между пролиферативной активностью и транспортными процессами в ткани опухоли.

**Ключевые слова:** серозная карцинома яичников высокой степени злокачественности, платинорезистентность, пролиферация, транспортные белки, статистическая связь, биологическая обратная связь.

## IMMUNOHISTOCHEMICAL PARAMETERS OF SEROUS OVARIAN CARCINOMAS AND POSSIBLE MECHANISM OF DEVELOPMENT OF RESISTANCE TO PLATINUM-BASED DRUGS

G.V. Zhukova, E.P. Ulyanova, A.P. Menshenina, T.I. Moiseenko, E.Yu. Zlatnik, E.M. Nepomnyashchaya, A.B. Sagakyants, T.I. Verenikina

National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia  
63, 14-th Liniya St., Rostov-on-Don, 344037, Russia

### Abstract

**The aim of the study** was to evaluate a prognostic significance of immunohistochemical parameters in serous ovarian carcinomas and their statistical relationships after neoadjuvant treatment to assess the development of tumor resistance to platinum-containing adjuvant polychemotherapy regimens. **Material and Methods.** An immunohistochemical study of tumor tissue was carried out in patients with high-grade serous ovarian cancer (stage IIIc–IV). The age of the patients ranged from 49–72 years. There were 59 patients who were sensitive and 22 patients who were resistant to platinum-containing adjuvant polychemotherapy. In the tissue of ovarian tumors obtained during surgery after neoadjuvant polychemotherapy, we studied immunohistochemical indicators of proliferative activity (Ki67), expression of the DNA excision repair protein ERCC1 and proteins of the ABC transporter family – Pgp and BCRP, as well as statistical relationships between these indicators (Spearman's rank correlation coefficient). **Results.** After effective neoadjuvant polychemotherapy, more pronounced signs of activity in the processes of proliferation, DNA repair and xenobiotic efflux were noted in serous ovarian carcinomas, which subsequently demonstrated resistance to platinum-containing polychemotherapy regimens compared to tumors that retained platinum sensitivity. Moreover, in 40 % of cases or more, there was a coincidence in the ranges of values of the studied parameters in tumors with different sensitivity to platinum drugs. The expression of transporter proteins greater than 60 % for BCRP and 65 % for Pgp was shown to precede the development of resistance to adjuvant treatment with carboplatin. In the studied groups, differences in the number and significance of statistical relationships between the variables were observed. The most significant differences were noted for the Ki67 – BCRP correlation, which had the opposite direction in groups with different sensitivity to adjuvant treatment with carboplatin. **Conclusion.** A comprehensive immunohistochemical analysis of high-grade serous ovarian carcinomas after neoadjuvant polychemotherapy, which further demonstrated different sensitivity to platinum-containing adjuvant regimens, was carried out, and the prognostic value of the studied parameters was assessed. The revealed critical levels of Pgp and BCRP expression in tumor tissue may have a prognostic value regarding the effect of adjuvant polychemotherapy. The results of the correlation analysis suggest a relationship between the development of platinum resistance and changes in the nature of the regulatory relationships between proliferative activity and transport processes in tumor tissue.

**Key words:** high-grade serous ovarian cancer, platinum resistance, proliferation, transport proteins, statistical relationship, biofeedback.

### Введение

В настоящее время развитие резистентности к препаратам платины, формирующейся у 75–90 % больных раком яичников (РЯ), является острой проблемой клинической онкологии, резко снижающей шансы пациенток с распространенным РЯ на получение эффективной помощи и определяющей высокую летальность [1, 2]. При этом обнадеживающие результаты первых курсов лекарственного лечения не гарантируют сохранение платиносensitivности опухолей на дальнейших этапах терапии. Решение данной проблемы связано с выявлением механизмов развития платинорезистентности и поиском эффективных прогностических маркеров. На современном этапе еще не удалось выявить ни одного молекулярно-генетического, иммуногистохимического (ИГХ) или биохимического показателя, позволяющего прогнозировать развитие устойчивости к платиносодержащим

режимам химиотерапии [3–5], подобно тому, как это имеет место в отношении выживаемости пациентов с опухолями некоторых других локализаций [6–8].

Известно о связи мутаций в генах *BRCA 1/2* с чувствительностью к препаратам платины при РЯ и раке молочной железы (РМЖ) [9]. Однако чувствительностью к указанным факторам могут обладать и пациентки, у которых такие мутации отсутствуют. Ранее в качестве маркеров динамики чувствительности РЯ к препаратам платины рассматривались показатели активности белка ERCC1 [6, 7], однако дальнейшие исследования не подтвердили их прогностическую значимость [8, 9]. Распространенность случаев отсутствия сверхэкспрессии эффлюксных белков при платинорезистентном РЯ и выраженного лечебного эффекта при ингибировании их активности [10, 11] свидетельствует о малой изученности кон-

кретных форм участия белков-транспортеров в развитии лекарственной резистентности. Остается открытым вопрос о соотношении эффлюкса противоопухолевых химиопрепаратов и транспорта эндогенных проопухолевых факторов, о динамике пролиферативных и транспортных процессов [12]. Не исследована роль не связанных с изменением генов регуляторных нарушений, развивающихся на различных структурно-функциональных уровнях организма, которые могут проявляться не только в виде резких сдвигов тех или иных показателей, но и в изменении динамики их соотношений и корреляционных связей на фоне терапии [13, 14]. Все вышесказанное обуславливает целесообразность проведения комплексного исследования, направленного на уточнение информативности ИГХ характеристик карцином яичников и их статистических связей для прогноза динамики чувствительности опухолей к лекарственной терапии с использованием препаратов платины.

**Целью исследования** явилось определение информативности иммуногистохимических показателей серозных карцином яичников и их статистических связей после неоадьювантного лечения для оценки развития резистентности опухолей к платиносодержащим режимам адьювантной полихимиотерапии (АПХТ).

### Материал и методы

Ретроспективно изучены ИГХ показатели в ткани опухолей яичников у больных РЯ III–IV стадии постменопаузального возраста (49–72 года), у которых был отмечен положительный эффект на неоадьювантную полихимиотерапию (НАПХТ), позволивший перейти к этапу хирургического лечения в объеме оптимальной циторедукции и последующей АПХТ. По данным гистологического исследования у всех пациенток наблюдалась серозная карцинома высокой степени злокачественности (high grade). Больным проводилось 3 курса НАПХТ карбоплатином и паклитакселом. Схема АПХТ также включала карбоплатин и паклитаксел, количество курсов варьировало от 4 до 6. Всем пациенткам проводились стандартные клинико-лабораторные исследования в соответствии с клиническими рекомендациями [15], включая определение концентрации сывороточных маркеров СА-125 и He-4. Всем больным исследован мутационный статус генов *BRCA 1/2* с помощью метода HRM-PCR (High Resolution Melt Polymerase chain reaction) и секвенирования по Сэнгеру.

Больные были распределены на 2 группы в зависимости от сроков развития рецидива заболевания, по которому определялась чувствительность опухоли к платиносодержащим режимам АПХТ [15]. В группу больных с опухолями, сохранившими чувствительность к АПХТ (платиночувствительные опухоли), вошло 59 женщин, у которых рецидив РЯ развился в сроки, превышавшие 6 мес

с момента окончания последнего курса АПХТ. Группу больных с опухолями, резистентными к платиносодержащим режимам АПХТ (платинорезистентные опухоли), составили 22 пациентки, у которых прогрессирование отмечено на фоне проведения АПХТ или в течение 6 мес после ее завершения. Четвертая стадия РЯ выявлена у 17 (29 %) больных с платиночувствительными опухолями и у 7 (32 %) пациенток с платинорезистентными карциномами. Больные исследованных групп не имели значимых различий по распространенности процесса, возрасту, характеру и выраженности сопутствующих заболеваний.

В последние годы для оценки ответа распространенного РЯ на химиотерапию часто используется система CRS (Chemotherapy Response Score), предусматривающая оценку изменений в ткани большого сальника на фоне НАПХТ. Имеются противоречивые данные об информативности показателей CRS в отношении прогноза платинорезистентности, а также отмечается недостаточная стандартизация методических подходов при их определении [16]. В силу этого мы сочли целесообразным использовать традиционные критерии лечебного патоморфоза и сосредоточиться на изменениях в опухолях яичников как при оценке лечебного патоморфоза НАПХТ, так и при выявлении связи резистентности с особенностями экспрессии ИГХ показателей. В результате при гистологическом исследовании опухолевой ткани в обеих группах после НАПХТ отмечены четко выраженное нарушение структуры опухоли и уменьшение ее площади на 30 % и более, а также другие признаки, указывающие на лечебный патоморфоз II или III степени по Г.А. Лавниковой [17].

В ткани серозных карцином яичников, полученных после проведения НАПХТ, с помощью ИГХ методов проводили сравнительное изучение пролиферативной активности (Ki67), а также экспрессии белка эксцизионной репарации ДНК ERCC1 и двух белков семейства ABC-транспортеров – Pgp и BCRP. Для этого использовали поликлональные кроличьи антитела к Pgp (или MDR1, 1:600) и ERCC1 (1:300) фирмы Affinity Biosciences, поликлональные кроличьи антитела к Ki67 (1:200, Diagnostic BioSystem), моноклональные мышинные антитела к BCRP (клон JF0994, 1:300, Hangzhou HuaAn Biotechnology Co.Ltd.). Срезы докрашивали гематоксилином Карацци, для заключения использовали витрогель. Оценка результатов ИГХ реакции проводилась с применением светового микроскопа «AxioLab.A1» (Германия) при  $\times 10$ ,  $\times 20$  и  $\times 40$ .

Для определения экспрессии Ki67 подсчитывали процентное содержание окрашенных в результате ИГХ реакции опухолевых клеток, приходящихся на 100 опухолевых клеток. В соответствии с традиционным способом оценки значения 0–20 % расценивали как низкие, 21–50 % – как умеренные

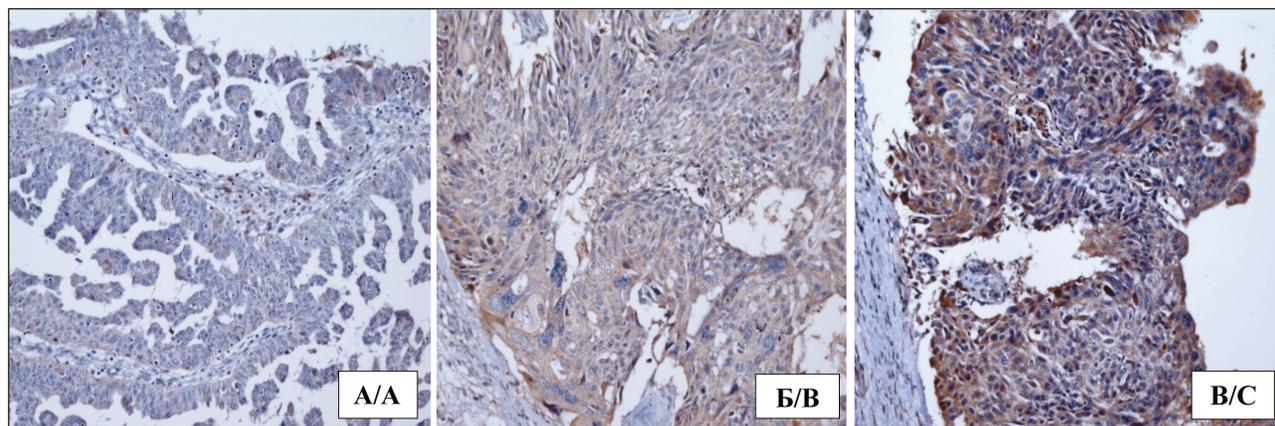


Рис. 1. Микрофото. Различная выраженность экспрессии белка ERCC-1 в серозных карциномах яичников,  $\times 200$ . А – отсутствие экспрессии; Б – низкая экспрессия, 1+; В – высокая экспрессия, 2+. Примечание: микрофото выполнены авторами  
 Fig. 1. Microphoto. Different expression of ERCC-1 protein in serous ovarian carcinomas,  $\times 200$ . А – lack of expression; Б – low expression, 1+; С – high expression, 2+. Note: created by the authors

и 51–100 % – как высокие. Аналогичным образом, но с применением более подробной градации, оценивали экспрессию маркеров Pgp, BCRP и ERCC1: 1 (0–10 %), 2 (11–50 %), 3 (50–74 %), 4 (>75 %). При этом выраженность экспрессии ИГХ параметров в клетке определяли также полуколичественно по интенсивности окрашивания: 1+ – низкая, 2+ – умеренная, 3+ – высокая. Экспрессия считалась положительной при оценке не менее 2 по каждой из двух указанных шкал. На рис. 1 представлены микрофотографии ткани серозных карцином яичников у больных с различной выраженностью экспрессии ИГХ маркеров на примере белка эксцизионной репарации ДНК ERCC1.

Межгрупповые сравнения показателей проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни (U-критерий) и критерия согласия Пирсона  $\chi^2$ . В силу важности выявления критических величин, имеющих прогностическое значение, при анализе вариационных рядов обращали внимание на минимальные и максимальные значения рассматриваемых показателей ( $x_{\min}$  –  $x_{\max}$ ) [18]. Статистические связи между исследованными показателями оценивали с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена (с оценкой его статистической значимости) и общепринятой градации выраженности («тесноты») связи на «слабую», «умеренную», «заметную» и «высокую», определяемой абсолютным значением коэффициента (шкала Чеддока). Использовали пакет программ «Statistica 13.3» (StatSoft Inc., США).

Исследования проведены с соблюдением «Этических принципов проведения научных медицинских исследований с участием человека» и в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации».

### Результаты и обсуждение

Медиана продолжительности безрецидивного периода у больных с платиночувствительными

опухолями составила 19 мес, у больных с платинорезистентными опухолями – 5,2 мес ( $p=0,00001$  Log-Ranktest). Также в исследуемых группах более чем в 2 раза различались показатели 3-летней общей выживаемости: у больных с чувствительностью к АПХТ – 51 %, у больных с резистентным течением – 23 % ( $p<0,05$ ). Межгрупповые различия в выраженности токсических осложнений АПХТ не отмечены.

При молекулярно-генетическом исследовании у больных с платинорезистентным течением заболевания случаев мутаций в генах *BRCA 1/2* не выявлено. У пациенток с опухолями, сохранившими чувствительность к АПХТ с карбоплатином, не наблюдались герминальные мутации в гене *BRCA2*. В гене *BRCA1* мутации выявлены у 8 из 59 таких больных (13 %). Эти мутации относились к 4 патогенным типам – 5382insC, 300T>G (C61G), 2080delA и с.1960A>T. При этом наиболее часто ( $n=4$ ) встречалась минорная для российской популяции мутация 300T>G(C61G). В одном случае наблюдалась мутация Asp 1344del с неопределенным клиническим значением. Таким образом, в ходе исследования не отмечено связи между развитием платинорезистентности серозных карцином яичников на этапе АПХТ и наличием герминальных мутаций в генах *BRCA 1/2* больных РЯ.

При изучении ИГХ показателей состояния ткани серозных карцином яичников после НАПХТ в целом выявлены признаки более высокого уровня пролиферации (Ki67), а также более высокой активности белков ERCC1, Pgp и BCRP у больных при развитии резистентности к препаратам платины на этапе АПХТ (табл. 1, 2). В то же время у больных с платиночувствительными карциномами также отмечены случаи выраженной экспрессии исследуемых факторов, а у пациенток с платинорезистентными карциномами нередко встречались случаи сниженной экспрессии того или иного фактора. В наибольшей степени это

Таблица 1/Table 1

**Характеристики пролиферативной активности после НАПХТ в серозных карциномах яичников, продемонстрировавших в дальнейшем различную чувствительность к платиносодержащим режимам АПХТ**

**Characteristics of proliferative activity in serous ovarian carcinomas after NAPCT, which further demonstrated different sensitivity to platinum-containing APCT regimens**

Группа (опухоли)/ Groups (tumors)	Частота встречаемости умеренных и высоких значений Ki67/ Frequency of moderate and high Ki67 values	Значения Ki67 Me [x <sub>min</sub> –x <sub>max</sub> ]/ Ki67 values Me [x <sub>min</sub> –x <sub>max</sub> ]
Платиночувствительные/ Platinum sensitive	42 %	17 [1–60] %
Платинорезистентные/ Platinum resistant	77 %* p=0,006	38,5 [10–60] % p=0,305

Примечания: \* – статистически значимо отличается от показателей платиночувствительных опухолей. Критерии  $\chi^2$  Пирсона и Манна–Уитни; таблица составлена авторами.

Notes: \* – statistically significantly differs from the indexes in platinum-sensitive tumors.  $\chi^2$  Pearson’s and Mann–Whitney tests; created by the authors.

Таблица 2/Table 2

**Показатели активности белков, ответственных за репарацию ДНК и эффлюкс химиопрепаратов, после НАПХТ в серозных карциномах яичников, продемонстрировавших в дальнейшем различную чувствительность к платиносодержащим режимам АПХТ**

**Characteristics of activity of proteins responsible for DNA repair and chemotherapy efflux in serous ovarian carcinomas after NAPCT, which further demonstrated different sensitivity to platinum-containing APCT regimens**

Маркеры (белки)/ Markers (proteins)	Группы (опухоли)/ Groups (tumors)	Частота положительной экспрессии маркера/ Frequency of cases of positive marker expression	Относительное число клеток, экспрессирующих маркер Me [x <sub>min</sub> –x <sub>max</sub> ]/ Relative number of cells expressing the marker Me [x <sub>min</sub> –x <sub>max</sub> ]
ERCC1	Платиночувствительные/ Platinum sensitive	10 %	8 [0–33] %
	Платинорезистентные/ Platinum resistant	54 %* p<0,001	20 [0–80] % p=0,063
Pgr	Платиночувствительные/ Platinum sensitive	68 %	40 [4–65] %
	Платинорезистентные/ Platinum resistant	95,5 %* p=0,011	70 [40–100] %* p=0,003
BCRP	Платиночувствительные/ Platinum sensitive	80 %	35 [10–60] %
	Платинорезистентные/ Platinum resistant	91 %	65 [45–90] %* p=0,013

Примечания: \* – статистически значимо отличается от показателей платиночувствительных опухолей. Критерии  $\chi^2$  Пирсона и Манна–Уитни; таблица составлена авторами.

Notes: \* – statistically significantly differs from the indexes in platinum-sensitive tumors.  $\chi^2$  Pearson’s and Mann–Whitney tests; created by the authors.

было выражено для показателей экспрессии Ki67 и ERCC1, что ограничивало диагностическую ценность этих маркеров. Так, при высокой частоте случаев умеренных и высоких значений Ki67 в платинорезистентных опухолях (77 %) частота таких случаев среди больных с платиночувствительными опухолями была, хотя статистически и ниже (p=0,006), но все же весьма значительной – 42 % случаев (табл. 1).

Результаты экспрессии белков ERRC1, Pgr и BCRP представлены в табл. 2. Опухоли, платинорезистентные на этапе АПХТ, заметно превосходили карциномы, оставшиеся платиночувствительными, по числу случаев положительной экспрессии этих факторов и/или по относительному числу

опухолевых клеток, их экспрессирующих. При этом в случае развития платинорезистентности относительное число карцином с положительной экспрессией ERRC1 (54 %) незначительно превышало относительное число опухолей с отрицательной экспрессией (46 %), что соответствовало сведениям об отсутствии прогностического значения данного маркера для развития лекарственной резистентности [8, 9].

Более информативными оказались различия в экспрессии исследованных белков ABC-транспортеров. Несмотря на высокую частоту случаев положительной экспрессии в группе пациентов с платиночувствительными опухолями (68 % для Pgr и 80 % для BCRP), относительное

**Корреляционные связи между изученными ИГХ показателями после НАПХТ в серозных карциномах яичников, продемонстрировавших в дальнейшем различную чувствительность к платиносодержащим режимам АПХТ. Значения коэффициента Спирмена**

**Correlations between the studied immunohistochemical indexes in serous ovarian carcinomas after NAPCT, which further demonstrated different sensitivity to platinum-containing APCT regimens. Spearman coefficient values**

А. Платиночувствительные опухоли (n=59)/A. Platinum sensitive tumors (n=59)				
Параметры/Parameteres	Ki67	ERRCI	Pgp	BCRP
Ki67	1	0,206	-0,045	<b>-0,675*</b>
ERRCI	0,206	1	0,042	0,075
PgP	-0,045	0,042	1	0,325*
BCRP	<b>-0,675*</b>	0,075	0,325	1
Б. Платинорезистентные опухоли (n=22)/ B. Platinum resistant tumors (n=22)				
Параметры/Parameteres	Ki67	ERRCI	Pgp	BCRP
Ki67	1	0,000	0,313	<b>0,813*</b>
ERRCI	-0,045	1	0,329	<b>0,500*</b>
PgP	0,042	0,329	1	<b>0,500*</b>
BCRP	<b>0,813*</b>	<b>0,500*</b>	<b>0,500*</b>	1

Примечания: \* – статистически значимые связи,  $p < 0,05$ ; таблица составлена авторами.

Notes: \* – statistically significant relationships,  $p < 0.05$ ; created by the authors.

число клеток, экспрессирующих маркеры белков-транспортеров, в платинорезистентных карциномах весьма значительно превышало эти показатели в платиночувствительных опухолях ( $p \leq 0,013$ , значения медиан различались не менее чем в 1,75 раза, табл. 2). При этом более чем в половине карцином, ставших впоследствии платинорезистентными, относительное число экспрессирующих клеток было выше максимальных значений этих показателей в платиночувствительных опухолях, которые составили для BCRP и Pgp 60 и 65 % соответственно (табл. 2). Таким образом, во всех случаях превышения показателями экспрессии белков-транспортеров указанных критических значений было отмечено развитие платинорезистентности РЯ на этапе АПХТ. Ранее зарубежными исследователями показано увеличение продолжительности жизни пациенток с распространенным РЯ в случае положительной экспрессии Pgp и некоторых других ИГХ маркеров в ткани пораженных яичников [10, 12], что косвенно отражало связь транспортных процессов в серозных карциномах яичников с развитием платинорезистентности. Мы считаем, что полученный нами результат дополняет представления о такой связи.

При корреляционном анализе выявлены значимые связи между процентным числом опухолевых клеток, экспрессирующих исследованные маркеры, которые различались у пациенток с платиночувствительным и платинорезистентным РЯ по числу, выраженности и направленности. При этом наиболее тесные связи по шкале Чеддока наблюдались между Ki67 и BCRP (табл. 3).

Так, в опухолях, сохранивших платиночувствительность на этапе АПХТ, значимая корреляционная связь Ki67 – BCRP, выраженность

которой по шкале Чеддока характеризовалась как «заметная», имела отрицательный знак (-0,675,  $p < 0,05$ , табл. 3А). В опухолях, продемонстрировавших в дальнейшем платинорезистентность, эта связь оказалась более выраженной («высокой») и имела уже положительный знак (+0,813,  $p < 0,05$ ; табл. 3Б). Кроме того, при платинорезистентном РЯ была более выраженной положительная связь BCRP – Pgp («заметная» связь, +0,500,  $p < 0,05$ , табл. 3Б) по сравнению с положительной «умеренной» статистической связью в случае платиночувствительных опухолей (+0,375,  $p < 0,05$ , табл. 3А). Еще одно отличие платинорезистентного РЯ заключалось в наличии «заметной» положительной связи BCRP – ERRCI (+0,500,  $p < 0,05$ ; табл. 3Б), которая не проявилась в случае платиночувствительных опухолей яичников (+0,075,  $p > 0,05$ ; табл. 3А).

Выявленные межгрупповые различия могут указывать на изменения в клеточной регуляции серозных карцином яичников, связанные с развитием платинорезистентности. Так, заметная отрицательная корреляция между Ki67 и экспрессией BCRP в платиночувствительных опухолях может отражать замедление выведения препаратов платины из ткани серозных карцином яичников опухоли при росте пролиферативной активности клеток. Возможно, осуществление такой регуляции по принципу отрицательной биологической обратной связи, направленной на сдерживание пролиферации опухолевых клеток, способствует сохранению чувствительности опухоли к препаратам платины. Следуя этой логике, можно предположить, что развитие платинорезистентности связано с утратой такого механизма и «включением» регуляции по принципу положительной биологической обратной связи, при которой транспортные белки будут,

напротив, способствовать усилению клеточной пролиферации в опухоли путем ускорения вывода химиопрепаратов из опухолевых клеток вследствие повышения и синхронизации активности VSCR и Pgr. При этом некоторый вклад в формирование лекарственной устойчивости могла вносить синхронизация активности VSCR и ERCC1.

### Заключение

Частота развития платинорезистентных опухолей яичников не ограничивается случаями первичнорезистентного РЯ, встречающегося в 15 % случаев. Формирование платинорезистентности наблюдается у значительной части больных распространенным РЯ после выраженного эффекта первых курсов ПХТ. В настоящем исследовании проведено изучение информативности ИГХ показателей пролиферативной активности (Ki67), эксцизионной репарации ДНК (ERCC1) и эффлюкса (ABC-транспортеры Pgr и VSCR) в серозных карциномах яичников high grade, а также статистических связей между ними после эффективной НАПХТ для прогнозирования развития платинорезистентности на этапе АПХТ. Показано, что опухоли, впоследствии утратившие чувствительность к препаратам платины на этапе АПХТ, в целом имели более высокие показатели по сравнению с карциномами, сохранившими платиночувствительность. В то же время низкая и отрицательная экспрессия наблюдались в ряде случаев и при формировании платинорезистентного РЯ, а выраженная экспрессия изученных показателей нередко отмечалась и в платиночувствительных опухолях, несмотря на эффективность НАПХТ. Это отражало изначально высокий агрессивный потенциал серозных карцином яичников и высокую пластичность процессов эксцизионной репарации ДНК и эффлюкса химиопрепаратов в опухолевых клетках, способных в последующем обеспечить развитие их платинорезистентности. Совпадение диапазонов значе-

ний показателей пролиферативной активности и эксцизионной репарации ДНК в опухолях с различной чувствительностью к препаратам платины более чем в 40 % случаев свидетельствует о недостаточной выраженности границы для валидации пациенток с высоким или низким риском развития платинорезистентного серозного РЯ по указанным показателям. При этом имеется основание для предположения о прогностическом значении уровня экспрессии белков-транспортеров, превышающих 60 % для VSCR и 65 % – для Pgr, в отношении формирования резистентного фенотипа.

Результаты корреляционного анализа указывают на связь развития платинорезистентности с перестройками регуляторных отношений между пролиферацией и активностью эффлюксных белков, что может составлять один из механизмов развития устойчивости серозного РЯ к платиносодержащим режимам АПХТ. Так, сохранению платиночувствительности опухоли может способствовать отрицательная биологическая обратная связь, направленная на сдерживание пролиферации опухолевых клеток путем замедления выведения препаратов платины из ткани опухоли при росте ее пролиферативной активности. В свою очередь, развитие платинорезистентности может быть связано с утратой такого механизма и формированием положительной биологической обратной связи, при которой ускорение вывода химиопрепаратов из опухолевых клеток с помощью изученных белков-транспортеров будет способствовать усилению клеточной пролиферации в опухоли. Экспериментальное подтверждение существования предполагаемого механизма развития резистентности РЯ к платиносодержащим режимам ПХТ может способствовать не только разработке способов прогнозирования эффекта терапии препаратами I линии, включая препараты платины, но и возможности таргетного воздействия на эти механизмы для преодоления лекарственной резистентности.

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Юнусова Н.В., Фесик Е.А. Молекулярно-генетические подтипы рака яичников: перспективы дальнейших исследований. Вопросы онкологии. 2019; 65(1): 56–62. [Villert A.B., Kolomiets L.A., Yunusova N.V., Fesik E.A. Molecular and genetic subtypes of ovarian cancer: prospects for further studies. *Problem in Oncology*. 2019; 65(1): 56–62. (in Russian)].
2. Motohara T., Yoshida G.J., Katabuchi H. The hallmarks of ovarian cancer stem cells and niches: Exploring their harmonious interplay in therapy resistance. *Semin Cancer Biol*. 2021; 77: 182–93. doi: 10.1016/j.semcancer.2021.03.038.
3. Колесников Е.Н., Максимов А.Ю., Кит О.И., Кутилин Д.С. Зависимость общей и безрецидивной выживаемости больных от молекулярно-генетического подтипа плоскоклеточного рака пищевода. Вопросы онкологии. 2019; 65(5): 691–700. [Kolesnikov E.N., Maksimov A.Yu., Kit O.I., Kutilin D.S. Dependence of overall and relapse-free patient's survival from molecular genetic subtype of esophageal squamous cell cancer. *Problem in Oncology*. 2019; 65(5): 691–700. (in Russian)]. doi: 10.37469/0507-3758-2019-65-5-691-700.
4. Yu L., Jiang R., Chen W., Liu Ya., Wang, G., Xin Gong X., Wang Yo. Novel prognostic indicator combining inflammatory indicators and tumor markers for gastric cancer. *World J Surg Onc*. 2023; 21(1). doi: 10.1186/s12957-023-02926-w.
5. Golubeva V.A., Nepomuceno T.C., Monteiro A.N.A. Germline Mismatch Variants in BRCA1: New Trends and Challenges for Clinical Annotation. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(4): 522. doi: 10.3390/cancers11040522.
6. Steffensen K.D., Smoter M., Waldstrom M., Grala B., Bodnar L., Stec R., Szczylik C., Jakobsen A. Resistance to first line platinum paclitaxel chemotherapy in serous epithelial ovarian cancer: The prediction value of ERCC1 and Tau expression. *Int J Oncol*. 2014; 44(5): 1736–44. doi: 10.3892/ijo.2014.2311.
7. Бозуш Т.А., Попова А.С., Дудко Е.А., Бозуш Е.А., Тюляндина А.С., Тюляндин С.А., Давыдов М.И. ERCC1 как маркер резистентности рака яичников к препаратам платины. Антибиотики и химиотерапия. 2015; 60(3–4): 42–50. [Bogush T.A., Popova A.S., Dudko E.A., Bogush E.A., Tyulyandina A.S., Tyulyandin S.A., Davydov M.I. ERCC1 as a marker of ovarian cancer resistance to platinum drugs. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2015; 60(3–4): 42–50. (in Russian)].
8. Бозуш Т.А., Стенина М.Б., Бозуш Е.А., Заркуа В.Т., Калюжный С.А., Мамичев И.А., Тюляндина А.С., Тюляндин С.А. Количественные показатели экспрессии ERCC1 в ткани серозного рака яичников и эффективность I линии химиотерапии с включением препаратов платины. Антибиотики и химиотерапия. 2018; 63(1–2): 24–31. [Bogush T.A., Stenina M. B., Bogush E.A., Zarkua V.T., Kalyuzhny S.A., Mamichev I.A., Tyulyandina A.S., Tyulyandin S.A., Polotsky B.E., Davydov M.M. The Quantitative Indices of ERCC1 Expression in Serous

Ovarian Cancer Tissue and the Efficacy of First-Line Platinum-Based Chemotherapy. Antibiotics and Chemotherapy. 2021; 63(1–2): 24–31. (in Russian)].

9. Bao Y., Yang B., Zhao J., Shen S., Gao J. Role of common ERCC1 polymorphisms in cisplatin-resistant epithelial ovarian cancer patients: A study in Chinese cohort. Int J Immunogenet. 2020; 47(5): 443–53. doi: 10.1111/iji.12484.

10. Lu D., Shi H.C., Wang Z.X., Gu X.W., Zeng Y.J. Multidrug resistance-associated biomarkers PGP, GST-pi, Topo-II and LRP as prognostic factors in primary ovarian carcinoma. Br J Biomed Sci. 2011; 68(2): 69–74. doi: 10.1080/09674845.2011.11730326.

11. Xiao H., Zheng Yo., Ma L., Tian L., Sun Q. Clinically-Relevant ABC Transporter for Anti-Cancer Drug Resistance. Front Pharmacol. 2021; 12. doi: 10.3389/fphar.2021.648407.

12. Muriithi W., Macharia L.W., Heming C.P., Echevarria J.L., Nyachio A., Filho P.N., Neto V.M. ABC transporters and the hallmarks of cancer: roles in cancer aggressiveness beyond multidrug resistance. Cancer Biol Med. 2020; 17(2): 253–69. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0284.

13. Glass L. Synchronization and rhythmic processes in physiology. Nature. 2001; 410(6825): 277–84. doi: 10.1038/35065745.

14. Михайлов Н.Ю., Гаркави Л.Х., Мащенко Н.М., Жукова Г.В. Исследование связи параметров лейкоцитарной формулы крови с частотными характеристиками сигнала пульсовой волны. Биофизика. 2012; 57(1): 99–104. [Mikhailov N.Yu., Garkavi L.Kh., Mashchenko N.M., Zhukova G.V. High-frequency oscillations in a pulse wave signal and their

relation to differential blood leucocyte counts. Biophysics. 2012; 57(1): 99–104. (in Russian)]. doi: 10.1134/S0006350912010150.

15. Тюляндина А.С., Коломиец Л.А., Морхов К.Ю., Нечушкина В.М., Покатаев И.А., Румянцев А.А., Тюляндин С.А., Урманчиева А.Ф., Хохлова С.В. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака яичников, первичного рака брюшины и рака маточных труб. Злокачественные опухоли. 2022; 12(3s2-1): 198–211. [Tyulandina A.S., Kolomiets L.A., Morkhov K.Yu., Nechushkina V.M., Pokataev I.A., Rumyantsev A.A., Tyulyandin S.A., Urmancieva A.F., Khokhlova S.V. Practical recommendations for drug treatment of ovarian cancer, primary peritoneal cancer and fallopian tube cancer. Malignant tumors. 2022; 12(3s2-1): 198–211. (in Russian)]. doi: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s2-198-211.

16. Rodolakis I., Pergialiotis V., Lontos M., Haidopoulos D., Loutradis D., Rodolakis A., Bamias A., Thomakos N. Chemotherapy Response Score in Ovarian Cancer Patients: An Overview of Its Clinical Utility. J Clin Med. 2023; 12(6): 2155. doi: 10.3390/jcm12062155.

17. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю., Двинских Н.Ю. Патоморфоз опухолей человека. М., 2021. 224 с. [Lushnikov E.F., Abrosimov A.Yu., Dvinskikh N.Yu. Pathomorphosis of human tumors. Moscow, 2021. 224 p. (in Russian)].

18. Guo C., Lu M., Chen J. An evaluation of time series summary statistics as features for clinical prediction tasks. BMC Med Inform Decis Mak. 2020; 48. doi: 10.1186/s12911-020-1063-x.

Поступила/Received 21.07.2023

Одобрена после рецензирования/Revised 24.06.2024

Принята к публикации/Accepted 08.07.2024

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Жукова Галина Витальевна**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1887-7415. Researcher ID (WOS): Y-4243-2016. Author ID (Scopus): 7005456284. ORCID: 0000-0001-8832-8219.

**Ульянова Елена Петровна**, научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1243-9475. Author ID (Scopus): 57203357998. ORCID: 0000-0001-5226-0152.

**Меньшенина Анна Петровна**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела опухолей репродуктивных органов, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6845-4794. Author ID (Scopus): 57191983118. ORCID: 0000-0002-7968-5078.

**Моисеенко Татьяна Ивановна**, доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник отдела опухолей репродуктивных органов, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6341-0549. Author ID (Scopus): 57194270696. ORCID: 0000-0002-9683-2164.

**Златник Елена Юрьевна**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4137-7410. Author ID (Scopus): 6603160432. ORCID: 0000-0002-1410-122X.

**Непомнящая Евгения Марковна**, доктор медицинских наук, профессор, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 8930-9580. Author ID (Scopus): 6603292428. Researcher ID (WOS): AАН-6917-2020. ORCID: 0000-0003-0521-8837.

**Сагакянц Александр Борисович**, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7272-1408. Researcher ID (WOS): M-8378-2019. Author ID (Scopus): 24329773900. ORCID: 0000-0003-0874-5261.

**Вереникина Екатерина Владимировна**, доктор медицинских наук, заведующая отделением онкогинекологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6610-7824. Author ID (Scopus): 57194271506. ORCID: 0000-0002-1084-5176.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

**Жукова Галина Витальевна**: написание текста, интерпретация результатов.

**Ульянова Елена Петровна**: статистическая обработка, анализ и интерпретация результатов.

**Меньшенина Анна Петровна**: анализ и интерпретация результатов.

**Моисеенко Татьяна Ивановна**: разработка концепции исследования.

**Златник Елена Юрьевна**: участие в интерпретации результатов с внесением ценного интеллектуального содержания.

**Непомнящая Евгения Марковна**: интерпретация результатов.

**Сагакянц Александр Борисович**: научное редактирование.

**Вереникина Екатерина Владимировна**: научное редактирование.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

**Финансирование**

*Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.*

**Конфликт интересов**

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

**Соответствие принципам этики**

*Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра онкологии (Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63), протокол № 358 от 15.12.2021 г.*

**Информированное согласие**

*Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных и фотоматериалов в медицинском журнале, включая его электронную версию.*

**ABOUT THE AUTHORS**

**Galina V. Zhukova**, DSc, Senior Researcher, Laboratory for Studying the Pathogenesis of Malignant Tumors, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): Y-4243-2016. Author ID (Scopus): 7005456284. ORCID: 0000-0001-8832-8219.

**Elena P. Ulyanova**, Researcher, Laboratory of Tumor Immunophenotyping, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57203357998. ORCID: 0000-0001-5226-0152.

**Anna P. Menshenina**, MD, PhD, Leading Researcher, Department of Tumors of the Reproductive Organs, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57191983118. ORCID: 0000-0002-7968-5078.

**Tatyana I. Moiseenko**, MD, Professor, Senior Researcher, Department of Tumors of the Reproductive Organs, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57194270696. ORCID: 0000-0002-9683-2164.

**Elena Yu. Zlatnik**, MD, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Tumor Immunophenotyping, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 6603160432. ORCID: 0000-0002-1410-122X.

**Evgenia M. Nepomnyashchaya**, MD, Professor, Pathologist, Pathology Department, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 6603292428. Researcher ID (WOS): AAH-6917-2020. ORCID: 0000-0003-0521-8837.

**Alexander B. Sagakyants**, PhD, Head of the Laboratory of Tumor Immunophenotyping, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): M-8378-2019. Author ID (Scopus): 24329773900. ORCID: 0000-0003-0874-5261.

**Ekaterina V. Verenikina**, MD, DSc, Head of the Department of Gynecological Oncology, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57194271506. ORCID: 0000-0002-1084-5176.

**AUTHOR CONTRIBUTIONS**

**Galina V. Zhukova**: writing of the manuscript, interpretation of results.

**Elena P. Ulyanova**: statistical processing, analysis and interpretation of results.

**Anna P. Menshenina**: analysis and interpretation of results.

**Tatyana I. Moiseenko**: development of the research concept.

**Elena Yu. Zlatnik**: participation in the interpretation of the results with the introduction of valuable intellectual content.

**Evgenia M. Nepomnyashchaya**: interpretation of the results.

**Alexander B. Sagakyants**: scientific editing.

**Ekaterina V. Verenikina**: scientific editing.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

**Funding**

*This study required no funding.*

**Conflict of interests**

*The authors declare that they have no conflict of interest.*

**Compliance with Ethical Standards**

*The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of National Medical Research Institute of Oncology (63, 14-th Liniya St., Rostov-on-Don, 344037, Russia), protocol No. 358 dated December 15, 2021.*

**Voluntary informed consent**

*Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data and photographs in medical journal.*