

DOI 10.31718/2077-1096.19.1.77

УДК: 616-006.04-076-097.3-079.4

Пославська О.В.

ПРОГНОСТИЧНІ МАРКЕРИ В ІМУНОГІСТОХІМІЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ МЕТАСТАЗІВ КАРЦИНОМ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО ФЕНОТИПУ НЕВІДОМОЇ ПЕРВИННОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро

Більшість метастазів раків невідомої первинної локалізації (80%-85%) належать до неблагоприємних прогностичних варіантів, через великий об'єм ураження та низьку чутливість до терапії. Дослідження прогностичних імуногістохімічних маркерів дають можливість розуміння біологічних особливостей стрімкої дисемінації окремих колоректальних фенотипів. В останні десятиріччя p53 і Ki-67, найбільш популярні антитіла досліджені як прогностичні фактори для колоректального раку. Білок p53 є регулюючим протеїном, який сидить на перехресті шляхів поділу і смерті клітини. Мета – дослідити особливості експресії прогностичних імуногістохімічних маркерів Ki-67, p53, β-катенін, AMACR (p503s), HER2-new в карциномах невідомої первинної локалізації колоректального фенотипу, порівняно із первинними пухлинами товстої кишки, для вдосконалення діагностичних алгоритмів. Матеріали і методи. В роботі проведено дослідження біопсійного матеріалу 37 пацієнтів (група 1) з метастазами без первинної локалізації, що після імуногістохімічного дослідження виявилися аденокарциномами колоректального фенотипу CK20+/CDX2+/CK7- віком від 28 до 81 років (середнє 58,46±12,28; медіана 58) й 41 спостереження післяопераційного матеріалу пацієнтів з первинною пухлиною товстої кишки (група 2), віком від 27 до 76 років (середнє 60,56±12,81; медіана 64). Результати дослідження. Позитивна фокальна експресія p53 була знайдена в колоректальному раку проксимальних відділів (розташованих праворуч), саме вони частіше мають мікросателітну нестабільність, порівняно із карциномами дистальних відділів. Ампліфікація гену Her-2-new (експресія на рівні 2+ і 3+) зустрічалась в 35% (13 з 37) метастазів колоректального раку, та майже в 15% (6 з 41) первинних аденокарциномах товстої кишки, що говорить про можливість використання таргетної терапії. Висновки. Ядерна транслокація β-катеніна, позитивна «фокальна» експресія p53 та ампліфікація гену Her-2-new статистично достовірно зустрічається частіше в метастазах колоректального фенотипу, порівняно із первинними аденокарциномами товстої кишки (всі p>0,05).

Ключові слова: колоректальний рак, p53, β-катенін, Her-2-new, AMACR.

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Розробка діагностичних та прогностичних критеріїв новоутворень різних локалізацій з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу» (номер державної реєстрації 0116U002827, термін виконання 2016-2018).

Більшість метастазів раків невідомої первинної локалізації (80%-85%) належать до неблагоприємних прогностичних варіантів, через великий об'єм ураження та низьку чутливість до терапії [1]. Метастази аденокарцином з колоректальним імунофенотипом (cytokeratin-20+ [CK20+], cytokeratin-7- [CK7-], CDX2+), за даними літератури, відносять до групи з можливим таргетним лікуванням, що підвищує шанси таких пацієнтів [2, 3]. Дослідження прогностичних імуногістохімічних маркерів дають можливість розуміння біологічних особливостей стрімкої дисемінації окремих колоректальних фенотипів.

В останні десятиріччя p53 і Ki-67, найбільш популярні антитіла досліджені як прогностичні фактори для колоректального раку (КРР). Білок p53 є регулюючим протеїном, який сидить на перехресті шляхів поділу і смерті клітини. Видалення та мутації p53 відіграють вирішальну роль у патогенезі надзвичайно великої кількості злоякісних новоутворень, включаючи КРР. Немає

сумнівів щодо ролі мутації p53 в прогресуванні колоректальних пухлин. Білок p53 є важливо для збереження цілісності ДНК. Втрата функції p53 через мутацію або видалення дозволяє клітинам накопичувати мутації у всьому геномі і викликає каріотипну нестабільність, припинення клітинного циклу G1 та зменшення апоптозу [2].

Антиген Ki-67 є негістоновим білком, корисним для виявлення проліферативних клітин. Хоча проточна цитометрія показала, що Ki-67 виражається у всіх фазах клітинного циклу крім G0, його експресія максимальна у профазі і метафазі, саме тому зростання експресії Ki-67 свідчить про зростання мітотичної активності та клітинної проліферації [3].

β-катенін - це пов'язаний з мембраною протеїн, головна функція якого є регуляція клітинної адгезії, але він ще виявляється основним посередником Wnt-сигнального шляху. Коли активуються Wnt-рецептори, кінази в комплексі активації анафази (anaphase-promoting complex, APC) пригнічуються, що призводить до накопичення цитоплазматичного β-катеніну та його транслокації до ядра. Це полегшує транскрипцію різних генів, наприклад цикліну D1, що, отже, сприяє прогресуванню пухлини [4]. Незважаючи на свою вирішальну роль при канцерогенезі КРР, попередні дослідження зміненої експресії β-катеніну як прогностичного маркера були досить суперечливими [4, 5].

Alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR або p503s) - це фермент, який відіграє важливу роль в β -окисленні розщеплених ланцюгових жирних кислот та похідних жирних кислот. Змінені рівні експресії AMACR були описані в різних раках, включаючи рак товстої кишки. В дослідженнях Мах А. із співавт. (2008) імуногістохімічна експресія AMACR була суттєво асоційована з диференціацією КРР, стадією, немущинозним фенотипом та лівою стороною локалізації пухлини (кожне $p < 0,0001$). Автори припустили, що зв'язок експресії AMACR з колоректальною локалізацією пухлини може бути пов'язаний з відмінностями в обміні речовин (впливу жирних кислот), що виникають вздовж товстої кишки [6]. А робота Shi X. із співавт. (2008) підтверджують думку про те, що експресія AMACR в КРР корелює з дифузійною пухлини [7].

Роль рецепторів до епідермального фактору росту людини 2 (HER2), як біомаркеру прогнозу КРР до кінця не визначена, але його роль для таргетної терапії раків різних локалізацій постійно зростає. Треба сказати, що HER2, як член родини EGFR, не зв'язується із лігандами, вони активуються через гетеродимеризацію з іншим ліганд-зв'язаним рецептором, з утворенням найстрогіших мітогенних сигналів через HER2-HER3 гетеродимер. Надекспресія HER2, яку ми визначаємо імуногістохімічним шляхом, здебільшого

пов'язана із ампліфікацією гена, яка дозволяє активацію HER2 за відсутності зв'язування лігандом іншого партнера. За даними літератури ампліфікацію HER2 демонструють 13-20% раків молочної залози, 7-34% раків шлунку, 1,9-14,3% раків легенів. Стосовно надекспресії HER2 в КРР, дані авторів варіюють від 2 до 11% [8].

Мета

Дослідити особливості експресії прогностичних імуногістохімічних маркерів Ki-67, p53, β -катенін, AMACR (p503s), HER2-new в карциномах невідомої первинної локалізації колоректального фенотипу, порівняно із первинними пухлинами товстої кишки, для вдосконалення діагностичних алгоритмів.

Матеріали та методи досліджень

В роботі проведено дослідження біопсійного матеріалу 37 пацієнтів (група 1) з метастазами без первинної локалізації, що після ІГХ дослідження виявилися аденокарциномами колоректального фенотипу CK20+/CDX2+/CK7- віком від 28 до 81 років (середнє 58,46 \pm 12,28; медіана 58) й 41 спостереження післяопераційного матеріалу пацієнтів з первинною пухлиною товстої кишки (група 2), віком від 27 до 76 років (середнє 60,56 \pm 12,81; медіана 64). Розподіл первинного матеріалу занесений в таблицю 1.

Таблиця 1
Характеристика клініко-морфологічних даних пацієнтів

Характеристика	Група 1 n ₁ =37 (100%)	Група 2 n ₂ =41 (100%)
Стать		
чоловіки	8 (22%)	17 (42%)
жінки	29 (78%)	24 (58%)
Ступінь гістологічної диференціації		
Високий G1	9 (24%)	11 (27%)
Помірний G2	23 (62%)	28 (68%)
Низький G3	5 (14%)	2 (5%)
Локалізація метастазів групи 1:		
жіноча репродуктивна система	18 (49%)	-
печінки	7 (19%)	-
легень	4 (11%)	-
канцероматоз очеревини	3 (8%)	-
мозок	1 (3%)	-
шкіра	1 (3%)	-
простата	1 (3%)	-
сечовід	1 (3%)	-
надключичний лімфатичний вузол	1 (3%)	-
Первинна локалізація пухлин групи 2		
сигмоподібна кишка	-	13 (32%)
сліпа кишка	-	8 (19%)
висхідний відділ клубової кишки	-	7 (17%)
клубова кишки (з печінкового кута)	-	6 (15%)
пряма кишка	-	5 (12%)
апендикс	-	1 (2%)
анус	-	1 (2%)

Таблиця 2
Первинні моноклональні антитіла

Первинні антитіла	Клон (розведення)	Локалізація
CDX2	EPR27649 (1:100)	Ядро
Cytokeratin 7 (CK7)	RCK105 (1:100)	Цитоплазма
Cytokeratin 20 (CK20)	Ks 20.8 (1:100)	Цитоплазма
Ki-67	SP6 (1:250)	Ядро
p53	Ab-3 (1:100)	Ядро
β-катенін	Ab-1 (1:200)	Ядро + цитоплазма
AMACR (p503s)	13H4 (1:100)	Мембрана
Her-2-new	Ab-1 (1:100)	Мембрана

Для морфологічного методу дослідження використовувалась камера мікроскопу Zeiss Primo Star – AxioCam ERC 5s з ліцензованим програмним забезпеченням ZEN 2 blue edition.

Імуногістохімічне дослідження проводилось згідно протоколів компанії ThermoScientific (TS), (США). У зрізах завтовшки 4 мкм використовували систему візуалізації Lab Vision Quanto (TS, США) з виявленням білкового ланцюга за допомогою DAB Quanto Chromogen (TS, США). Характеристики моноклональних антитіл занесені в таблицю 2.

Згідно із рекомендаціями Georgescu C. V. із співавт. (2007) оцінка маркеру p53 відбувалась за критерієм 5%, а саме інтрануклеарна експресія p53 більше ніж 5% вважалась позитивною і в діапазоні 5-50% мала характер «фокальної», 50% і більше – дифузної [2].

Згідно із рекомендаціями Melling N. із співавт. (2016) оцінка маркеру Ki-67 відбувалась за напівкількісною шкалою із критеріями 0-10% - низька проліферативна активність, 10% - 25% - помірна, 25% і більше – висока проліферативна активність [3].

Імунореактивність експресії β-катенина в ядрі вважалась позитивною на рівні вище 30%, за рекомендаціями Shizhen Zhang із співавт. (2016) [5].

Імунореактивність експресії маркеру AMACR в цитоплазмі оцінювалась за напівкількісною шкалою 0, + (слабка), ++ (помірна), +++ (висока) за рекомендаціями провідних дослідників [6-7].

Позитивні реакції маркеру Her-2-new на мембрані клітині оцінювалась за скоринговою шкалою, що була розроблена для випадків із ампліфікацією гену Her-2, де 0 і 1+ (до 10% і більше 10% клітин, відповідно, із слабким забарвленням), не мають ампліфікації, та 2+ і 3+ (більше 10% клітин із помірним та інтенсивним забарвленням мембран, відповідно) – вірогідно мають ампліфікацію цього гену [8].

Статистичний аналіз проводився в програ-

мі R version 3.4.1 (2017-06-30) – «Single Candle» Copyright (C) 2017; The R Foundation for Statistical Computing Platform: x86_64-w64-mingw32/x64 (64-bit). Розподіл характеристик груп за напівкількісними шкалами експресії всіх прогностичних маркерів був проведений точним тестом Фішера (табл. 3, 4). Статистично вірогідна різниця між групами порівняння вважалась при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Аналіз експресії маркеру p53 в обох групах виявив відсутність найвищої градації (позитивної дифузної експресії в більше ніж 50% клітин), здебільшого реакція була негативною (рис. 1), особливо в групі із первинними КРР, або фокальною позитивною (рис. 2), розподіл випадків занесений в таблиці 3 і 4.

Проліферативна активність за Ki-67, навпаки, не продемонструвала нижньої градації з низькою проліферацією (0-10%), всі випадки КРР та метастазів мали помірну або високу проліферацію. Градації β-катенін, AMACR та Her-2-new отримали дві категорії градацій для тесту Фішера (табл. 3 і 4).

Рис. 2 демонструє варіант надекспресії всіх прогностичних маркерів, що був виявлений в метастазі печінки, для порівняння на рис. 1 найбільш частий імунофенотип первинного КРР з (-) ядерною експресією p53 та β-катеніну, слабкою (+) експресією p503s (AMACR) та негативною Her-2-new.

Згідно точного тесту Фішера знайдено різницю між групами 1 та 2 за експресією p53 (0,002), β-катеніну (0,0002) та p503s (0,0002). Також в групі 1 серед жінок виявилась більшість метастазів КРР з високою проліферативною активністю (+++) за Ki-67 (0,035) та з відсутністю позитивного Her-2-new (0,013), порівняно із чоловіками. Також в групі 1 серед метастазів колоректального фенотипу виявилась статистично достовірною тенденція падіння ступеня диференціювання і набуття ампліфікації Her-2-new (0,043).

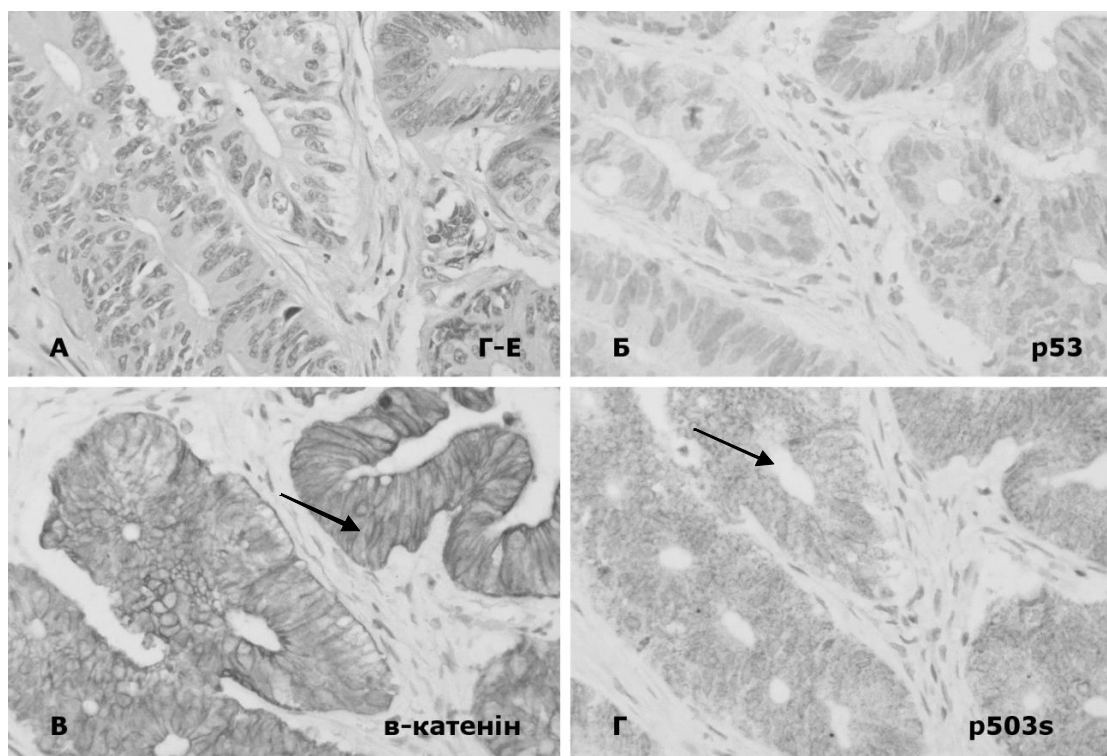


Рис. 1. А. Первинний КРР, гематоксилін – еозин (Г-Е), ($\times 400$). Б. Негативна реакція з р53, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$). В. Мембранна (-) реакція з β -катеніном, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$). Г. Слабка (+) експресія р503s, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$).

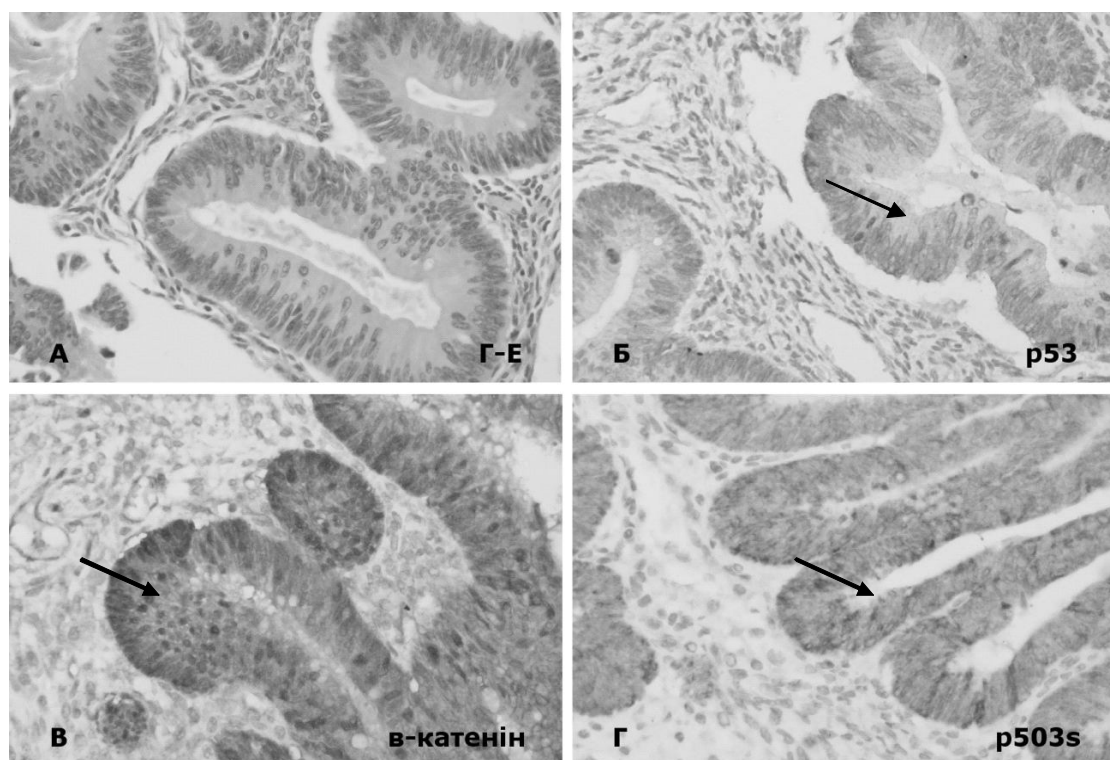


Рис. 2. А. Метастаз КРР, (Г-Е), ($\times 400$). Б. «Фокальна» (+) реакція з р53, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$). В. Цитоплазматично-ядерна (+) реакція з β -катеніном, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$). Г. Помірна ++ експресія р503s, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$).

Таблиця 3
Розподіл експресії прогностичних маркерів за характеристиками груп дослідження (n), p

Група	Характеристика дослідження (n)	p53		Ki-67		β-катенін		AMACR		Her-2-new	
		(-)	(+) фокальна	10% - 25%	більше 25%	(-), (я) < 30%	(я) > 30%	0, + (слабка)	++, (помірна), +++	0 і 1+	2+ і 3+
Група 1 n ₁ =37	ч (8)	2	6	5	3	4	4	3	5	2	6
	ж (29)	14	15	6	23	14	15	9	20	22	7
p		0,423		0,035		1,000		1,000		0,013	
Група 2 n ₂ =41	ч (17)	11	6	7	10	15	2	13	4	15	2
	ж (24)	21	3	12	12	21	3	18	6	20	4
p		0,128		0,752		1,000		1,000		1,000	
Група 1 n ₁ =37	G1 (9)	6	3	4	5	7	2	6	3	8	1
	G2 (23)	8	15	7	16	10	13	5	18	15	8
	G3 (5)	2	3	0	5	1	4	1	4	1	4
p		0,275		0,265		0,104		0,067		0,043	
Група 2 n ₂ =41	G1 (11)	10	1	5	6	11	0	9	2	11	0
	G2 (28)	21	7	9	19	24	4	22	6	23	5
	G3 (2)	1	1	0	2	1	1	0	2	1	1
p		0,236		0,524		0,093		0,108		0,125	
Група 1: n ₁ =37		16	21	11	26	18	19	12	25	24	13
Група 2: n ₂ =41		32	9	14	27	36	5	31	10	35	6
p		0,002		0,809		0,0002		0,0002		0,063	

Примітка: ч - чоловіки, ж - жінки, (я) – ядерна експресія, статистично вірогідна різниця вважалась при p<0,05.

Таблиця 4
Розподіл експресії прогностичних маркерів за локалізаціями в групах дослідження (n), p

Група	Локалізація дослідження (n)	p53		Ki-67		β-катенін		AMACR		Her-2-new	
		(-)	(+) фокальна	10% - 25%	25%	(-), (+) < 30%	(+) > 30%	0, +	++, (помірна), +++	0 і 1+	2+ і 3+
Група 1: n ₁ =37	ЖРС (18)	8	10	6	12	10	8	8	10	12	6
	печінка (7)	4	3	2	5	2	5	1	6	5	2
	легені (4)	2	2	1	3	2	2	2	2	2	2
	КО (3)	1	2	1	2	1	2	1	2	2	1
	мозок (1)	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0
	шкіра (1)	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0
	простата (1)	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1
	сечовід (1)	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0
НЛВ (1)	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	
Всього:		16	21	11	26	18	19	12	25	24	13
p		0,983		0,967		0,632		0,749		0,806	
Група 2: n ₂ =41	сліпа кишка (8)	6	2	3	5	7	1	6	2	7	1
	висхідний відділ клубової кишки (7)	5	2	2	5	5	2	4	3	6	1
	клубова кишки (з печінкового кута) (6)	5	1	3	3	5	1	4	2	5	1
	Сигмоподібна кишка (13)	10	3	5	8	12	1	10	3	12	1
	пряма кишка (5)	4	1	1	4	5	0	5	0	4	1
	апендикс (1)	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1
	анус (1)	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0
Всього:		32	9	14	27	36	5	31	10	35	6
p		1,000		0,968		0,779		0,768		0,477	

Примітка: ЖРС - жіноча репродуктивна система, КО - канцероматоз очеревини, НЛВ - надключичний лімфатичний вузол, статистично вірогідна різниця вважалась при p<0,05.

Результати та їх обговорення

Колоректальний рак відповідальний за 774,000 нових смертей щорічно, за даними ВООЗ 2017 року [1]. Найбільш ефективним підходом до лікування вважається оперативне втручання, хіміо- та променева терапія в комбінації, але якщо первинне джерело такої карциноми не знайдено, виживаність пацієнтів різко знижується. Канцерогенез КРР – це стадійний процес набуття хромосомної нестабільності, мікросателітної нестабільності та метілювання острівця CpG. За даними літератури, хромосомна нестабільність КРР відбувається за рахунок му-

тації К-гас, втрати p53 та гетерозиготності за довгим плечем 18 хромосоми. 65-70% такого канцерогенезу відповідає за спорадичне виникнення КРР та сімейний аденоматозний поліпоз.

Звернувшись до клінічних та патологоанатомічних особливостей первинних локалізацій КРР, за даними останніх досліджень, визначається різниця в профілі мутацій, епідеміології та прогнозі пухлин, розташованих праворуч чи ліворуч, а саме проксимальні відділи (розташовані праворуч) більш вірогідно будуть гіперметильовані та мати мікросателітну нестабільність, порівняно із карциномами дистальних відділів. В

нашому дослідженні позитивна фокальна експресія p53 була знайдена в ККР сліпої кишки (2), висхідного відділу клубової кишки (2), клубової кишки (з печінкового кута) (1) сигмоподібної кишки (3) та прямої кишки (1), тобто також частіше в проксимальних відділах, але розподіл за локалізаціями не показав статистично вірогідної різниці, можливо через недостатньо велику вибірку.

Стосовно іншого шляху канцерогенезу, ядерна транслокація β-катеніна виявилась в половині випадків метастазів КРР та тільки в 5 з 41 (12%) первинних КРР, що підтверджує думку про зв'язок активної дисемінації ККР із активацією Wnt-сигнального шляху.

Висновки

1. Ядерна транслокація β-катеніна, позитивна «фокальна» експресія p53 та ампліфікація гену Her-2-new статистично достовірно зустрічається частіше в метастазах колоректального фенотипу, порівняно із первинними аденокарциномами товстої кишки (всі $p > 0,05$).

2. Ампліфікація експресії Her-2-new (експресія на рівні 2+ і 3+) зустрічається в 35% (13 з 37) метастазів КРР, та майже в 15% (6 з 41) первинних аденокарциномах товстої кишки, що говорить про можливість використання таргетної терапії.

3. Серед жінок виявилась більшість метастазів КРР з високою проліферативною активністю (+++) за Ki-67 (0,035) та з відсутністю ампліфікації Her-2-new (0,013), порівняно із чоловіками.

Література

1. Choi J, Nahm JH, Kim SK. Prognostic clinicopathologic factors in carcinoma of unknown primary origin: a study of 106 consecutive cases. *Oncotarget*. 2017; 8(37):62630-62640.
2. Georgescu CV, Săftoiu A, Georgescu CC, Ciurea R, Ciurea T. Correlations of Proliferation Markers, p53 Expression and Histological Findings in Colorectal Carcinoma. *J Gastrointest Liver Dis*. 2007; 16(2):133-139.
3. Melling N, Kowitz CM, Simon R, Bokemeyer C, Terracciano L, Sauter G, Izbicki JR, Marx AH. High Ki67 expression is an independent good prognostic marker in colorectal cancer. *J Clin Pathol*. 2016;69(3):209-14.
4. Wangefjord S, Brändstedt J, Lindquist KE, Nodin B, Jirström K, Eberhard J. Diagn Pathol. Associations of beta-catenin alterations and MSI screening status with expression of key cell cycle regulating proteins and survival from colorectal cancer. 2013;8:10.
5. Zhang Sh, Wang Z, Shan J, Yu X, Li L, Lei R, Lin D, Guan S, Wang X. Nuclear expression and/or reduced membranous expression of β-catenin correlate with poor prognosis in colorectal carcinoma. A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(49):e5546.
6. Marx A, Simon P, Simon R, Mirlacher M, Izbicki JR, Yekebas E, Kaifi JT, Terracciano L, Sauter G. AMACR expression in colorectal cancer is associated with left-sided tumor localization. *Virchows Arch*. 2008;453(3):243-8.
7. Shi X, Gong E, Wu X. Alpha-methylacyl-CoA racemase/P504S overexpression in colorectal carcinoma is correlated with tumor differentiation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2007;15(2):175-80.
8. Choi J, Nahm JH, Kim SK. Targeting the human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) oncogene in colorectal cancer. *Annals of Oncology*. 2018; 29: 1108-19.

Реферат

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ МЕТАСТАЗОВ КАРЦИНОМ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО ФЕНОТИПА НЕИЗВЕСТНОЙ ПЕРВИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Пославская А.В.

Ключевые слова: колоректальный рак, p53, β-катенин, Her-2-new, AMACR.

Большинство метастазов раков неизвестной первичной локализации (80% -85%) относятся к неблагоприятным прогностическим вариантам, из-за большого объема поражения и низкой чувствительности к терапии. Исследования прогностических иммуногистохимических маркеров дают возможность понимания биологических особенностей стремительной диссеминации отдельных колоректальных фенотипов. В последние десятилетия p53 и Ki-67, наиболее популярные антитела, исследованы как прогностические факторы для колоректального рака. Белок p53 является регулирующим протеином, который сидит на перекрестке путей разделения и смерти клетки. Цель - исследовать особенности экспрессии прогностических иммуногистохимических маркеров Ki-67, p53, β-катенин, AMACR (p503s), HER2-new в карциномах неизвестной первичной локализации колоректального фенотипа по сравнению с первичными опухолями толстой кишки для совершенствования диагностических алгоритмов. Материалы и методы. В работе проведено исследование биопсийного материала 37 пациентов (группа 1) с метастазами без первичной локализации, после иммуногистохимического исследования оказались аденокарциномами колоректального фенотипа CK20 + / CDX2 + / CK7- в возрасте от 28 до 81 лет (среднее $58,46 \pm 12,28$; медиана 58) и 41 наблюдения послеоперационного материала пациентов с первичной опухолью толстой кишки (группа 2), в возрасте от 27 до 76 лет (среднее $60,56 \pm 12,81$; медиана 64). Результаты. Положительная фокусная экспрессия p53 была найдена в колоректальных раках проксимальных отделов (расположенных справа), именно они чаще имеют микросателлитную нестабильность, по сравнению с карциномами дистальных отделов. Амплификация гена Her-2-new (экспрессия на уровне 2+ и 3+) встречалась в 35% (13 из 37) метастазов колоректальных раков, и почти в 15% (6 из 41) первичных аденокарциномах толстой кишки, говорит о возможности использования таргетной терапии. Выводы. Ядерная транслокация β-катенина, положительная «фокальная» экспрессия p53 и амплификация гена Her-2-new статистически достоверно встречается чаще в метастазах колоректального фенотипа по сравнению с первичными аденокарциномами толстой кишки (все $p > 0,05$).

Summary

PROGNOSTIC MARKERS IN IMMUNOHISTOCHEMICAL DIAGNOSIS OF METASTASES OF COLORECTAL PHENOTYPE CARCINOMA OF UNKNOWN PRIMARY

Poslavska O.V.

Key words: colorectal cancer, p53, β -catenin, Her-2-new, AMACR.

Most metastases of cancers of unknown primary (80% -85%) are known as having unfavourable prognostic variants due to their large extent and low susceptibility to the therapy. Studies of prognostic immunohistochemical markers will provide an opportunity to understand the biological features of the rapid dissemination of individual colorectal phenotypes. In recent decades, p53 and Ki-67, the most popular antibodies have been investigated as prognostic factors for colorectal cancer. The p53 protein is a regulatory protein that is at the crossroads of cell division and cell death. The goal of this study is to explore the expression features of prognostic immunohistochemical markers Ki-67, p53, β -catenin, AMACR (p503s), HER2-new in carcinomas of unknown primary of the colorectal phenotype compared with primary tumours of the colon, to improve diagnostic algorithms. Materials and methods. A study of biopsy material taken from 37 patients aged 28 to 81 years (mean 58.46 ± 12.28 ; median 58), group 1, with metastases without primary localization was carried out; the immunohistochemical investigation revealed adenocarcinomas of the colorectal phenotype CK20 + / CDX2 + / CK7; the investigation of postoperative material in 41 patients aged 27 to 76 years (mean 60.56 ± 12.81 ; median 64), group 2, revealed primary colon tumour. Results. Positive focal expression of p53 was found in the colorectal cancers of the proximal sections (located to the right), it is they that more often have microsatellite instability, compared to distal carcinomas. Amplification of the Her-2-new gene (expression at the level of 2+ and 3+) was found in 35% (13 of 37) of metastasis of colorectal cancers, and in almost 15% (6 of 41) of primary colon adenocarcinomas that suggests the appropriateness in applying targeted therapy. Conclusions. Nuclear translocation of β -catenin, positive "focal" expression of p53 and amplification of the Her-2-new gene are statistically significantly more common in colorectal phenotype metastases compared with primary colon adenocarcinomas (all $p > 0.05$).