

ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Медицинский факультет

Кафедра онкологии

Допускается к защите

Заведующий кафедрой

*д.м.н., проф., Орлова Р.В.*

«   » \_\_\_\_\_

## **ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

# **Клинико-морфологические особенности аденокарцином желудка и ободочной кишки с гиперэкспрессией Her2/neu**

Выполнил студент

602 группы

**Крюков К.А.**

Научный руководитель:

*Д.м.н., проф. Орлова Р.В.*

Санкт-Петербург

2017 год

# Оглавление

<b>Список сокращений.....</b>	<b>3</b>
<b>Введение .....</b>	<b>4</b>
Цель исследования .....	7
Задачи.....	7
<b>Глава 1. Современные представления о прогностической и предиктивной роли гиперэкспрессии Her2/neu .....</b>	<b>8</b>
1.1.  Рецептор Her2/neu .....	8
1.2.  Роль гиперэкспрессии Her2/neu при аденокарциноме желудка .....	11
1.3.  Роль гиперэкспрессии Her2/neu при раке ободочной кишки.....	20
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования .....</b>	<b>24</b>
2.1.  Характеристики исследуемой выборки.....	24
2.2.  Методика иммуногистохимического исследования гиперэкспрессии Her2/neu.....	25
<b>Глава 3. Результаты исследования.....</b>	<b>29</b>
3.1.  Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu.....	29
3.2.  Клинические особенности, отличающие Her2/neu позитивные аденокарциномы.....	31
3.3.  Патоморфологические особенности, отличающие Her2/neu позитивные аденокарциномы ободочной кишки .....	39
3.4.  Клинический случай применения трастузумаба при Her2/neu позитивной аденокарциноме ободочной кишки.....	43
<b>Глава 4. Заключение.....</b>	<b>45</b>
<b>Выводы .....</b>	<b>47</b>
<b>Список литературы .....</b>	<b>48</b>

## Список сокращений

1. ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
2. ИГХ – иммуногистохимическое исследование
3. МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография
4. РГЭП – рак гастоэзофагеального перехода
5. РЖ – рак желудка
6. ФЭГДС – фиброэзофагогастродуоденоскопия
7. ЭУС – эндоскопическая ультрасонография
8. CDH1 – cadherin 1 (кадгерин 1)
9. ErbB-2 – avian erythroblastosis oncogene B – 2 (эритробластозный бычий онкоген B -2)
10. EGFR – epidermal growth factor receptor (рецептор эпидермального фактора роста)
11. FISH – fluorescent in situ hybridization (флуоресцентная гибридизация in situ)
12. MAPK – mitogen activated protein kinase (митоген активируемая протеинкиназа)
13. mTOR – mechanistic target of rapamycin (механистическая мишень рапамицина)
14. PFS – progression free survival (время до прогрессирования)
15. PI3K – phosphoinositide 3-kinase (фосфоинозитол-3-киназа)
16. PLC – phosphoinositide phospholipase C (фосфоинозитол фосфолипаза C)
17. PTEN - phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 (гомологи фосфатазы и тензина)
18. RSK – ribosomal s6 kinase (рибосомальная киназа s6)
19. SISH – silver in situ hybridization (серебряная гибридизация in situ)
20. TOGA – trastuzumab for gastric cancer (трастузумаб при раке желудка)

## Введение

Опухоли желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) занимают значительное место как в онкологической статистике, так и в статистике смертности от онкологических заболеваний. Наиболее распространенными среди опухолей ЖКТ являются злокачественные новообразования желудка и толстой кишки, а среди них лидирующее место принадлежит аденокарциномам. Несмотря на сходное строение, эти заболевания отличаются по прогнозу: аденокарциномы кишки обладают относительно благоприятным течением – при выявлении на ранних стадиях и адекватном лечении пятилетняя выживаемость достигает 89%, в то время как для ранних аденокарцином желудка она составляет 71% [40]. Однако, большинство вновь выявленных случаев относится к местнораспространенным или, даже, метастатическим формам, прогноз которых гораздо менее благоприятен.

В последние 30 лет наметился значительный прогресс в лечении данных патологий: новые технологические решения позволяют изготавливать современные хирургические инструменты, усовершенствуется хирургическая техника, усложняется фармацевтическое производство, позволяя производить новые препараты с более прицельным действием, чем классические цитостатики. В результате этого безрецидивная и общая выживаемость пациентов с аденокарциномами толстой кишки и желудка растет, пациенты с этими заболеваниями «перешагивают» пятилетний рубеж и считаются полностью излеченными. Когда же данные опухоли обнаруживаются на поздних стадиях, при наличии отдаленных метастазов, шанса на полное излечение у таких больных, на современном этапе развития медицинских технологий, практически не существует, и основной задачей становится продление жизни больного и улучшение ее качества. Хирургическое лечение в таких случаях носит циторедуктивный и паллиативный характер и не способно полностью излечить болезнь. Приоритетным направлением для таких больных становится системная

лекарственная терапия, способная взять под контроль заболевание в целом. За последние десятилетия была совершена революция в лечении метастатических аденокарцином желудка и ободочной кишки, так как еще 20 лет назад медиана выживаемости на IV стадии при колоректальном раке составляла не более 6 месяцев, а с появлением новых комбинаций цитостатиков и таргетных препаратов она возросла до 42 месяцев.

Исследования в области создания новых лекарственных препаратов терапии солидных опухолей в данный момент в основном сосредоточены вокруг поиска «мишеней» на опухолевых клетках: особенных молекул, присутствующих только в измененных клетках или синтезирующихся в них в большем количестве, чем в нормальной ткани. Так, широкое распространение получили разнообразные блокаторы группы тирозинкиназных рецепторов на поверхности клетки, активация которых приводит к усиленной пролиферации, сопротивлению механизмам апоптоза и, как следствие, лучшей выживаемости клетки. Увеличение экспрессии, происходящее за счет мутаций в гене, кодирующем рецепторы определенного типа приводит к увеличению злокачественности новообразования (более высокий пролиферативный индекс, большая глубина инвазии, меньшее время удвоения и т.д.) и изменению его клинико-морфологических характеристик. Одним из тирозинкиназных рецепторов, широко известных в онкологии является Her2/neu. Известно, что гиперэкспрессия данного рецептора на поверхности опухолевых клеток, коррелирующая с амплификацией гена ErbB-2, при раке молочной железы является фактором более злокачественного течения опухоли, но в то же время открывает перспективы для таргетной терапии. Показана эффективность анти-Her2/neu моноклонального антитела при раке молочной железы и раке желудка. В то же время не до конца изученным остается вопрос о частоте встречаемости и связи гиперэкспрессии Her2/neu с клиническими и морфологическими параметрами при других

злокачественных новообразованиях, при которых это явление встречается, например, при раке ободочной кишки и желудка. Таким образом изучение этого вопроса является актуальной проблемой в современной онкологии.

## **Цель исследования**

Определение статуса Her2/neu при аденокарциномах желудка и ободочной кишки и определение прогностического и предиктивного значения гиперэкспрессии данного рецептора в исследуемых группах

## **Задачи**

1. Освоить методику выявления гиперэкспрессии Her2/neu в аденокарциномах ободочной кишки и желудка.
2. Установить частоту гиперэкспрессии Her2/neu при аденокарциноме ободочной кишки и желудка
3. Выявить клинические особенности, отличающие группу пациентов с Her2 позитивными аденокарциномами ободочной кишки и желудка
4. Определить морфологические отличия Her2/neu + и Her2/neu - аденокарцином ободочной кишки и желудка

# **Глава 1. Современные представления о прогностической и предиктивной роли гиперэкспрессии Her2/neu**

## **1.1. Рецептор Her2/neu**

Ген ErbB-2, кодирующий Her2/neu расположен в локусе q21 в 17 хромосоме. Он был открыт в 1985 [11], и был назван вторым рецептором семейства эпидермального фактора роста из-за своей схожести с ним и возможность гетеродимеризоваться с другими рецепторами семейства.

Рецептор был описан спустя два года после открытия гена, кодирующего его [4].

В данное семейство также входят рецепторы EGFR (Her1), Her3, Her4, которые кодируются соответствующими генами (ErbB-1, ErbB-3, ErbB-4).

Рецептор имеет внеклеточную лиганд-связывающую часть и внутриклеточную, обладающей тирозин-киназной активностью.

Специфический лиганд для этого рецептора не обнаружен.

Her2/neu присутствует в большинстве нормальных тканей организма и обеспечивает поддержание активности важнейших клеточных процессов: пролиферации, дифференцировки, миграции. Однако в некоторых злокачественных опухолях наблюдается гиперэкспрессия данного рецептора, то есть увеличение его количества на мембране клетки. Происходит это из-за амплификации гена ErbB-2, когда количество копий данного гена увеличивается в несколько раз. Для диагностики активно применяют иммуногистохимические окраски с антителами к Her2/neu, чтобы оценить уровень гиперэкспрессии количественно. В сомнительных же случаях используют методы серебрянной или флюоресцентной гибридизации *in situ* (SISH или FISH) для установления амплификации гена ErbB-2.

После активации Her2/neu запускается процесс аутофосфорилирования тирозина, что приводит к активации ряда внутриклеточных сигнальных каскадов:



1. Активация Ras, запускающая каскад последовательных модификаций в молекулах RAF, MAPK и приводит к активации рибосомального белка S6 (RSK), индуцирующего транскрипцию генов, стимулируя рост и пролиферацию.

2. Активация сигнального пути PI3K/akt/mTOR стимулирующего рост, выживание клетки и сопротивление апоптозу.

3. Через активацию PLC оказывается влияние на кальциевый обмен.

### ***Роль для медицины***

Спустя тридцать лет после открытия Her2/neu разработка моноклонального антитела против этого рецептора революционно изменила прогноз больных с гиперэкспрессией данного рецептора. Разработка трастузумаба, который является гуманизированным антителом, направленным против внеклеточного домена Her2/neu, и внедрение его в клиническую практику, значительно улучшило прогноз таких пациентов. Эффекты, вызываемые при блокировании Her2/neu: блокада и деградация самого рецептора, подавление экспрессии новых Her2/neu, блокада сигнальных путей, цитотоксическая активность, блокада p95Her2, который является постоянно активным видом рецептора [31].

### ***Her2/neu при раке молочной железы***

После открытия семейства рецепторов эпидермального фактора роста началось бурное изучение их возможной роли в канцерогенезе.

Было обнаружено, что увеличенная (чрезмерная) экспрессия самого рецептора на поверхности опухолевых клеток является неблагоприятным прогностическим фактором при аденокарциномах молочной железы. Из-за этого иммуногистохимическое исследование для установления факта гиперэкспрессии Her2/neu вошло в стандарт диагностики рака молочной железы с 2007 года [37].

Однако помимо гиперэкспрессии Her2/neu были обнаружены также его активирующие мутации (G309A, D769H, D769Y, V777L, P780ins, V842I, и R896C) при отсутствии гиперэкспрессии рецептора, встречающиеся в 1,6 –

4,3%. Эти мутации могут стать потенциальной мишенью для новых таргетных препаратов [9].

### ***Гиперэкспрессия Her2/neu в опухолях других локализаций***

***При немелкоклеточном раке легкого:*** при аденокарциноме легкого гиперэкспрессия Her2/neu была обнаружена в 10% случаев с уровнем 1+, в 10,7% – 2+, и у 3,1% – 3+. 5-ти летняя выживаемость по группам составила соответственно 75,3%, 77,8%, 76,5%, 20%. Из 5 пациентов, имеющих уровень гиперэкспрессии 3+ четверо, умерли от рецидива рака лёгкого. Среди пациентов с плоскоклеточным раком лёгкого у 96,1% не было выявлено гиперэкспрессии Her2/neu, и у трёх пациентов была выявлена с уровнем 1+, 2+ и 3+ [35]. Однако гиперэкспрессия в данном случае не играла предиктивной роли, так как данные опухоли не отвечали на терапию трастузумабом [9].

***При раке яичников*** гиперэкспрессия Her2/neu – неблагоприятный прогностический фактор, так как не выявляется в опухолях с низкой злокачественностью или доброкачественных и сочетается с более низкой общей выживаемостью, но не является доказанным предиктивным фактором, поскольку такие опухоли не отвечают на терапию трастузумабом [9].

***При аденокарциноме слезных желез*** у 60% пациентов выявляли гиперэкспрессию Her2/neu и это сочеталось с плохим прогнозом и низкой общей выживаемостью, однако из-за малого количества пациентов в данном исследовании (5 больных) следует с осторожностью относиться к этим данным [9].

***При раке пищевода:*** при плоскоклеточном раке пищевода гиперэкспрессия белка Her2/neu наблюдается в 26-64% случаев, при этом амплификация гена наблюдается всего в 5% случаев. Для аденокарциномы пищевода гиперэкспрессия белка – 10-70%, амплификация гена – 15% [9].

## **1.2. Роль гиперэкспрессии Her2/neu при аденокарциноме желудка**

Для оценки роли гиперэкспрессии Her2/neu при аденокарциноме следует вкратце осветить основные клинико-морфологические параметры, наиболее значимые для опухоли данной локализации.

### ***Гистологические формы***

Почти 95% злокачественных опухолей желудка – аденокарциномы. Другие злокачественные новообразования, такие как плоскоклеточный рак, мелкоклеточная карцинома, нейроэндокринные опухоли, гастроинтестинальная стромальная опухоль, лимфомы и другие подтипы встречаются значительно реже и отличаются по течению и прогнозу.

### ***Классификации***

Аденокарциному желудка классифицируют по макроскопическому виду (классификация по Боррману) [40]:

1. Полиповидный рак
2. Язвенный дефект с приподнятыми краями (блюдецобразный рак)
3. Язвенный, инфильтрирующий стенку желудка
4. Диффузно инфильтрирующие формы (Скирр)
5. Неклассифицируемые формы

Тем не менее макроскопический тип и степень клеточной дифференцировки сами по себе не играют значимой роли в прогнозе заболевания. Важнее оказалось разделение рака желудка (РЖ) на экспансивный тип, отличающийся низкой степенью злокачественности и хорошим прогнозом, и инфильтрирующий тип, который, соответственно, имеет низкую степень клеточной дифференцировки и плохой прогноз для пациента [40].

Близко к этому принципу лежит широко распространенная классификация РЖ по Лаурену, разделяющая все формы на кишечную и диффузную. При изучении большого количества опухолей было выявлено, что в основе кишечного типа лежит последовательное злокачественное

перерождение с постепенным накоплением мутаций и длительным ростом, а также связь с *Helicobacter pylori*. Для диффузных же форм ключевым событием является мутация в гене CDH1, кодирующем E-cadherin, белок, отвечающий за межклеточные взаимодействия [40].

При этом основной гистологической классификацией опухолей желудка является классификация всемирной организации здравоохранения, в которой выделяют следующие разновидности аденокарцином: тубулярную, папиллярную, муцинозную, слабо-связанную (в которую вошел перстневидно-клеточный), смешанные [10].

### ***Метастазирование***

РЖ чаще метастазирует последовательно, лимфогенным путем, изначально распространяясь в ближайшие коллекторы по малой и большой кривизне и из них дальше, в лимфоколлекторы второго и третьего порядка. Сейчас выделяют 33 основные группы лимфоузлов в клетчатке, окружающей желудок [1]. Такое разделение показало себя при проведении резекций желудка или гастрэктомии в сочетании с лимфодиссекцией ближайших групп лимфоузлов. По количеству удаленных групп лимфоузлов выделяют операцию с лимфодиссекцией D0, D1, D1+, D2 и D3 [1]. При этом пациенты подвергнутые лимфодиссекции уровня D2 показывали лучшую безрецидивную выживаемость, чем те, кто был подвергнут лимфодиссекции меньшего уровня.

Органами, в которых чаще всего обнаруживают отдаленные метастазы являются печень, легкие и лимфатические узлы.

### ***Клиническая картина***

Аденокарцинома желудка характеризуется малосимптомным течением и зачастую обнаруживает себя лишь на поздних стадиях. Чаще всего встречаются такие симптомы как потеря веса (22-60%), анорексия (5-40%), тошнота, боль в эпигастрии (62-91%), чувство тяжести после еды, изжога. Более редкими, но и более грозными симптомами являются рвота, после приема пищи с примесью крови, и мелена, свидетельствующие о

кровотечении из опухоли. Полностью бессимптомное течение отмечается у 4-17% пациентов [40]. Некоторые особенности метастазирования позволяют выявлять рак желудка на поздних стадиях на основании физикального обследования. Так многие метастазы в отдаленные лимфоузлы носят имена людей, описавших их (метастаз в яичник – Крукенберга, метастаз в надключичную область – Вирхова, метастаз в околопупочную область – сестры Мэри-Джозеф, в параректальную клетчатку – Шницлера).

### ***Диагностика и стадирование***

Основными методами для диагностики и стадирования РЖ являются: ФЭГДС, МСКТ, гистологическое исследование, ЭУС

Фиброэзофагогастродуоденоскопия является лучшим методом для выявления новообразований желудка, позволяющая взять материал для гистологического исследования, а также провести эндоскопическую резекцию небольших опухолей. Вспомогательным эндоскопическим методом диагностики является ЭУС (Эндоскопическая ультрасонография), с его помощью можно оценить глубину распространения образования, состояние регионарных лимфоузлов, наличие асцита, а также особенности кровоснабжения и предварительную визуальную оценку злокачественности новообразования.

При подозрении на рак желудка обязательным является проведение мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ), для оценки распространенности процесса: наличие отдаленных и регионарных метастазов.

Для стадирования рака желудка пользуются классификациями американского противоракового союза (AJCC) или международного объединения против рака (UICC).

К первой стадии относят опухоли не прорастающие мышечный слой стенки желудка и имеющие не более 2 метастазов в регионарных л/у (T1N0, T1N1, T2N0).

Ко второй стадии относят опухоли или прорастающие до серозного слоя, но имеющих меньше 2 метастазов в регионарных л/у, либо опухоли не прорастающие мышечный слой, но имеющие от 2 до 16 метастазов регионарных л/у (T4aN0, T3N0-1, T2N1-2, T1N3)

К третьей стадии относят только больных с опухолью, прорастающей в прилежащие к желудку структуры и/или большим количеством метастазов в регионарных л/у (T4aN1-2, T3N2, T2N3, T4bN0-1)

К четвертой стадии относят больных с отдаленными метастазами (TanyNanyM1)

Выживаемость больных напрямую зависит от стадии опухолевого процесса (при первой стадии 5-ти летняя выживаемость – 70,8%, при четвертой – 4,0%).

### ***История открытия гиперэкспрессии Her2/neu при раке желудка***

Второй злокачественной опухолью, для которой был показан значимый положительный эффект от применения анти-Her2/neu моноклональных антител была аденокарцинома желудка. Гиперэкспрессия рецептора Her2/neu и амплификация гена ErbB-2 при РЖ и пищевода была впервые показана в 1986 году. Как правило, амплификация гена предшествует появлению белка на мембране клетки [6].

С 1986 по 2010 год было проведено множество исследований, посвященных значению Her2/neu при аденокарциноме желудка, однако из-за отсутствия единой системы оценки гиперэкспрессии этого рецептора долгое время в статьях встречались противоречивые данные: от 7 до 34% Her2/neu позитивных опухолей [5].

Для того, чтобы сделать оценку гиперэкспрессии Her2/neu более объективной была разработана специальная система, отличающаяся от системы оценки при раке молочной железы, и основанная на сочетании оценки степени иммуногистохимического (ИГХ) окрашивания и гибридизации *in situ* в спорных случаях [8,16].

### ***Прогностическое и предиктивное значение***

Для аденокарциномы желудка прогностическое значение гиперэкспрессии Her2/neu остается спорным: есть данные, свидетельствующие о связи между Her2/neu позитивностью и плохим прогнозом, выражающимся в уменьшении медианы безрецидивной и общей выживаемости [20,24,38]. Однако в более современных статьях демонстрируется, что гиперэкспрессия Her2/neu не влияет на общую и безрецидивную выживаемость [15,18,19,23,36]. И есть даже данные свидетельствующие о том, что гиперэкспрессия Her2/neu напротив является положительным прогностическим признаком [21].

### ***Частота выявления***

Большое значение для понимания роли Her2/neu при РЖ сыграло исследование Trastuzumab for gastric cancer (ToGA trial) – многоцентровое международное исследование, посвященное влиянию анти-Her2/neu моноклонального антитела трастузумаба на Her2/neu позитивные аденокарциномы желудка и гастроэзофагеального перехода, завершившееся в 2010 году.

Было отобрано 3803 пациента с гистологически подтвержденным распространенным, неоперабельным, рецидивным или метастатическим РЖ или раком гастро-эзофагеального перехода (РГЭП). 3665 пациентов прошли скрининг, для включения в исследование: У 810 выявилась гиперэкспрессия Her2/neu, что составило 22,1%. На сегодняшний день этот процент считается усредненным значением частоты встречаемости HER2/ neu положительных аденокарцином желудка во всем мире. Однако, частота встречаемости отличается в разных странах: меньше всего – в Тайване (5,9%), а больше всего – в Австралии (33,1%) [5]. Таким образом, частота гиперэкспрессии Her2/neu имеет географические особенности, и невозможно экстраполировать данные международных исследований для оценки встречаемости в каждом конкретном регионе.

В исследовании TOGA, статус Her2/neu определялся ИГХ исследованием и методом FISH во всех случаях. Критерием FISH + являлся уровень амплификации гена ErbB2 > 2.

***Основные клиничко-морфологические характеристики Her2/neu позитивных аденокарцином***

В исследовании M.Aizawa выявляется более частая гиперэкспрессия Her2/neu в группе больных старше 65 лет [3].

В мета-анализе, включавшем 2492 пациента с Her2/neu позитивные аденокарциномы желудка отмечается, что нет статистически значимых изменений по глубине инвазии и размеру исследуемых опухолей [24].

Во многих исследованиях были выявлены различия встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu в зависимости от локализации первичной опухоли: было показано, что при локализации в пилорическом отделе желудка она встречается чаще, чем в опухолях гастроэзофагеального перехода [3,32].

Было показано, что в аденокарциномах кишечного типа по Лаурену гиперэкспрессия Her2/neu встречается чаще, чем в аденокарциномах диффузного типа или смешанных [23,24,42].

Кроме того, гиперэкспрессию Her2/neu связывают с большей глубиной инвазии и с большей вероятностью метастазирования в печень и отдаленные лимфатические узлы, вместе с тем реже наблюдаются метастазы по брюшине и множественные метастазы [3,12,17,24].

Также отмечается, что Her2/neu позитивные аденокарциномы чаще связаны с инвазией в сосуды [24].

Было обнаружено, что среди пациентов с Her2/neu положительными аденокарциномами желудка преобладают мужчины и эти опухоли имеют более высокодифференцированное строение [3,21,42].

Помимо клиничко-морфологических характеристик, было исследовано и предиктивное значение гиперэкспрессии и амплификации Her2/neu при раке желудка: в исследовании ToGA было рандомизировано 594 пациента, проходивших лечение в двух группах: 296 (290 вошло в анализ) пациентов



получали полихимиотерапию (по схеме Цисплатин + Фторурацил), 298 (294 вошло в анализ) пациентов получали комбинацию цитостатиков и таргетного препарата (полихимиотерапия по схеме Цисплатин + Фторурацил + Трастузумаб).

Время безрецидивной выживаемости в группе трастузумаба составило 6,7 месяцев, в контрольной – 5,5 месяцев.

Так же отличался эффект лечения в двух группах: объективный ответ был зарегистрирован в группе трастузумаба в 47% случаев (42% частичный ответ и 5 % полный ответ), тогда как в контрольной группе в 35% случаев (32% частичный ответ и 2% полный ответ).

У пациентов с FISH +, но ИГХ 0/1+ трастузумаб не улучшал результаты. В группе с FISH + и ИГХ 2+/3+ медиана общей выживаемости в группе с трастузумабом составила 16,0 месяцев, в контрольной группе – 11,8 месяцев [44]. Было отмечено, что наибольший ответ на терапию трастузумабом имели те пациенты, у которых уровень амплификации гена ErbB2 был больше 4,7 [43].

При этом качество жизни пациентов, получающих трастузумаб, было лучше, чем у тех, кто получал только химиотерапию: ухудшение качества жизни на 10 % у половины исследуемых отмечалось через 6,8 месяцев в группе, получавшей только химиотерапию и через 12,1 месяцев в группе, получавшей трастузумаб. После окончания наблюдательного периода (31,3 месяца среднее) группа пациентов, получающих трастузумаб продемонстрировала лучшую общую выживаемость на 2,5 месяцев и лучшую безрецидивную выживаемость на 2,3 месяца [26].

На основании этих данных включение трастузумаба в лечение рака желудка вошло в стандарты в США и Японии для пациентов с Her2/neu ИГХ3+ и Her2/neu ИГХ2+ с FISH+ [18].

В исследовании Yan Shi-Yan et al. [42] было обследовано 168 пациентов из 12 институтов, получавших трастузумаб при раке желудка с

гиперэкспрессией Her2/neu. Медиана общей выживаемости составила 18,5 месяцев, что подтверждает выгоду от назначения трастузумаба при Her2/neu позитивных аденокарциномах желудка. 45,8% были отнесены к хорошо дифференцированным формам и 51,2% к плохо дифференцированным. Медиана общей выживаемости имела достоверные отличия в пользу более дифференцированных форм (19,0 против 16,6 месяцев). Но в обеих группах отмечалась выгода по сравнению с пациентами, не получающими трастузумаб [42].

Помимо амплификации гена ErbB-2 существуют другие специфические мишени при раке желудка. Мутации, приводящие к возможности применения таргетной терапии находят у 37% (EGFR – 9,3%, KRAS – 8,8%, EGFR – 7,7%, ErbB-2 – 7,2%) [25].

#### ***Трастузумаб при адъювантном лечении***

После публикации результатов ToGA trial начались активные исследования по включению трастузумаба в неoadъювантные и адъювантные схемы для пациентов с гиперэкспрессией Her2/neu. Во второй фазе исследования NEONX Трастузумаб был добавлен в неoadъювантную химиотерапию для пациентов с резектабельным раком желудка. 8,3% пациентов показали полный патоморфологический регресс. PFS был на 6 месяцев больше в группе, получавшей трастузумаб [29].

#### ***Механизмы резистентности к трастузумабу***

Но даже несмотря на успехи трастузумаба в лечении Her2/neu позитивного рака желудка, медиана длительности ответа остается достаточно скромной. Многие пациенты, со временем развивают резистентность к трастузумабу и поэтому понимание того какими молекулярными механизмами достигается эта резистентность крайне важно. Одним из таких механизмов является внутриопухолевая гетерогенность — частая находка при аденокарциномах желудка. Было показано, что в 79,3% РЖ имеется внутриопухолевая гетерогенность по гиперэкспрессии Her2/neu и в 44% по амплификации гена Her2/neu [13]. При анализе данных, полученных из

исследования ToGA, все пациенты с гиперэкспрессией Her2/neu по ИГХ были разделены по опухолевой гетерогенности на тех, у кого окрасилось меньше 30% опухолевых клеток, и тех, у кого окрасилось больше 30% клеток. И было показано, что опухоли более 30% клеток в которых окрашивались положительно чаще отвечали на проводимую терапию. Уровень амплификации гена ErbB-2 при этом не влиял на выживаемость [13].

Другой важный механизм резистентности – дисрегуляция молекулярного пути PI3K/Akt/mTOR. Так мутации PIK3CA и инактивация PTEN могут влиять на эффективность Her2/neu таргетной терапии [18].

### **1.3. Роль гиперэкспрессии Her2/neu при раке ободочной кишки**

#### ***Гистологическая классификация***

Больше 90% злокачественных опухолей ободочной кишки – аденокарциномы. При этом для аденокарцином ободочной кишки прогностическое значение играет степень клеточной дифференцировки. Разделяют высокодифференцированные (G1), умереннодифференцированные (G2) и низкодифференцированные формы (G3), однако многие упрощают данную классификацию до low-grade аденокарцином (G1 и G2) и high-grade аденокарцином (G3).

Еще одним важным параметром является оценка инвазии опухоли в лимфатические и/или кровеносные сосуды. Наличие данных параметров является достоверным фактором более плохого прогноза [40].

#### ***Клинические проявления***

Пациенты с колоректальным раком чаще всего жалуются на кровь в стуле, изменение характера стула, боли в животе, потерю веса, изменение аппетита, слабость. При этом тяжесть симптомов не всегда коррелирует со стадией заболевания. Выделяют несколько клинических типов течения колоректального рака: геморрагический, энтероколитический, токсико-анемический, болевой, обструктивный.

При физикальном осмотре может быть выявлено пальпируемое образование в брюшной полости, увеличение печени и лимфатических узлов.

Наиболее часто встречающимися осложнениями являются: кровотечение, острая кишечная непроходимость, перфорация и нарушение работы других органов метастатическими поражениями.

#### ***Диагностика и стадирование***

Для постановки корректного диагноза и назначения соответствующего лечения пациенту должна быть выполнена колоноскопия с биопсией и компьютерная томография органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза.

Выделяют 4 клинические стадии колоректального рака: первой соответствует опухоль, не достигающая субсерозного слоя и не имеющая метастазов в лимфатических узлах и отдаленных метастазов. Вторая стадия - Опухоль, прорастающая субсерозный слой, висцеральную брюшину или врастающая в другие органы, но не имеющая метастазов в лимфатических узлах и отдаленных метастазов. К третьей стадии относят опухоли, имеющие метастазы в лимфатических узлах, но не имеющие отдаленных метастазов. Опухоли, имеющие отдаленные метастазы относятся к четвертой стадии. Данное стадирование было разработано для формирования лечебной тактики и напрямую соотносится с прогнозом пациентов.

#### ***История открытия гиперэкспрессии Her2/neu при аденокарциномах ободочной кишки***

После успеха герцептина в лечении Her2/neu позитивного рака желудка по результатам ToGA trial [5] началось бурное исследование роли этого рецептора во многих опухолях различных локализаций [37].

По итогам экспериментов с ксенографтами аденокарциномы ободочной кишки свою неэффективность продемонстрировали все известные тирозинкиназные ингибиторы Her2/neu в режиме монотерапии, а эффективными оказались комбинации трастузумаба и лапатиниба и пертузумаба и лапатиниба [7]. Последняя комбинация, однако, была признана слишком токсичной для проведения клинических исследований. Поэтому было принято решение исследовать влияние комбинации трастузумаба и лапатиниба у пациентов с метастатическим раком ободочной кишки, имеющих гиперэкспрессию Her2/neu подтвержденную ИГХ и методом флуоресцентной гибридизации *in situ*, получавших ранее терапию ингибиторами EGFR и имеющих дикий тип K-RAS. Исследование было названо HERACLES trial и началось в 2012 году [28].

### ***Особенности оценки гиперэкспрессии Her2/neu при аденокарциномах ободочной кишки.***

При изучении аденокарциномы ободочной кишки было выявлено, что существующие системы оценки гиперэкспрессии Her2/neu как для РЖ, так и для рака молочной железы не являются объективными для кишечника. В исследованиях, в которых гиперэкспрессия Her2/neu оценивалась по этим параметрам частота Her2/neu позитивных случаев колебалась от 0 до 83% [14], что, конечно же, не могло быть использовано для исследований.

В контрольном исследовании по специально сформированным критериям для кишечника было выявлено, что среди пациентов с аденокарциномой ободочной кишки гиперэкспрессия Her2/neu оказывается положительной в 5,6% случаев [39]. Ещё в нескольких работах указывается, что около 5% пациентов с аденокарциномой ободочной кишки являются Her2/neu позитивными [14,33]. При этом в большинстве таких образцов отмечается опухолевая гетерогенность по экспрессии этого рецептора [33]. В исследовании HERACLES trial было отобрано 48 из 914 пациентов с гиперэкспрессией Her2/neu (5,25%) [28]. Эти данные позволяют предполагать, что истинная доля Her2/neu позитивных пациентов находится около 5% и, соответственно, таргетная анти-Her2/neu терапия может оказаться эффективной у очень малого количества больных, что, учитывая высокую стоимость таргетных препаратов, является скорее плюсом.

### ***Влияние гиперэкспрессии Her2/neu на течение заболевания***

При исследовании тканей, полученных от пациентов, перенесших гемиколэктомию по поводу рака ободочной кишки было выявлено, что те, опухоли, в которых есть гиперэкспрессия Her2/neu имеют более высокую стадию заболевания, а также гиперэкспрессия Her2/neu коррелировала со снижением медианы пяти и трехлетней общей выживаемости, но оно было недостоверным ( $p > 0,05$ ) [41]. В других исследованиях не было обнаружено никакой корреляции между Her2/neu статусом и общей выживаемостью,

полом, локализацией опухоли, статусом по TNM, степенью лимфогенного метастазирования, степенью клеточной дифференцировки [27,30,34].

При исследовании тканей Her2/neu –позитивных аденокарцином ободочной кишки у 8% выявлялись мутации в гене, кодирующем этот рецептор. Как правило, это такие же мутации, как те, что обнаруживаются в других Her2/neu-позитивных опухолях (мутации киназного домена V842I, V777L, L755S, а также мутация внеклеточного домена S310F). Мутации Her2/neu встречались как изолировано, так и в сочетании с мутациями K-RAS, BRAF. Большая часть этих опухолей не характеризовалась микростаеллитной нестабильностью (80%).

Еще было выяснено, что все 4 мутации обладают активирующим влиянием на внутриклеточные сигнальные каскады (особенно MAPK). Активнее всего оказалась мутация V777L [22].

#### ***Ответ на лечение трастузумабом и лапатинибом***

По результатам исследования HERACLES trial были получены следующие данные: у одного пациента был зафиксирован полный ответ (4%), у семи – 26%) частичный ответ, и у 12 – стабилизация (44%). Тем не менее у двух пациентов (8%) уже при втором контрольном обследовании было зафиксировано прогрессирование заболевания. У 84% пациентов отмечалось уменьшение образования на МсКТ [28].

Таким образом, несмотря на длительную историю интереса к проблеме к гиперэкспрессии Her2/neu в аденокарциномах желудка и ободочной кишки, многие вопросы до сих пор остаются без ответа; даже эпидемиологические данные значительно отличаются в разных работах, а клиническое значение гиперэкспрессии Her 2/neu при опухолях данной локализации нуждается в проведении дополнительных исследований.

## **Глава 2. Материалы и методы исследования**

### **2.1. Характеристики исследуемой выборки**

Исследование проводилось на базе СПб ГБУЗ «Городской клинический онкодиспансер» и имело наблюдательный ретроспективный характер.

Работа была выполнена на основе анализа историй болезни, гистологических заключений больных раком желудка и раком ободочной кишки. Для исследования использовалась выборка пациентов с определенной стадией по классификации TNM: для рака желудка – Т любое, N любое, M1, для пациентов с раком ободочной кишки – Tлюбое NлюбоеM1. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от статуса Her2/neu в опухоли по данным иммуногистохимического исследования.

Средний возраст пациентов с аденокарциномами желудка составил 57,87 ± 13 лет.

Среди больных было 11 женщин и 8 мужчин

Средний возраст пациентов с аденокарциномами ободочной кишки 62 ± 12,88 лет

Среди больных было 12 женщин и 8 мужчин.

У большинства больных локализацией метастазов были печень (58,6%), отдаленные лимфатические узлы (34%), легкие (20,5%) и по брюшине (17,2%), также встречались пациенты с отдаленными метастазами в головной мозг (6,8%), кости (3,4%), селезенку (3,4%) и яичники (3,4%)

Были выявлены следующие локализации первичной опухоли: для желудка (19 пациентов) – кардиальный отдел 4, тело желудка -15, для ободочной кишки (20 пациентов) – слепая - 4, восходящая ободочная - 1, печеночный угол - 0, поперечная ободочная - 1, селезеночный угол - 2, нисходящая ободочная - 1, сигмовидная 11, которые были разделены на правую (слепая, восходящая ободочная, печеночный угол, поперечная ободочная): 6 (30%) (и левую половины (селезеночный угол, нисходящая ободочная, сигмовидная): 14 (70%).



## **2.2. Методика иммуногистохимического исследования гиперэкспрессии Her2/neu**

Согласно первой задаче была освоена методика оценки гиперэкспрессии Her2/neu при аденокарциномах желудка и ободочной кишки.

Гистологический материал от пациентов был получен из архива патологоанатомического отделения СПб ГБУЗ ГКОД в виде парафиновых блоков. Материал был перезалит и перерезан в патологоанатомическом отделении ФГБУ РНЦРНХТ, с блоков были изготовлены препараты, окрашенные базовой окраской гематоксилином-эозином. После чего производился пересмотр препаратов для подтверждения гистологического диагноза и обнаружения локусов с максимальным скоплением злокачественных клеток.

После подбора подходящих блоков, использовался прибор TMA Master. Данный прибор автоматизирует создание тканевых микрочипов путем переноса образцов тканевых масс из четырех блоков доноров за один сеанс [2]. Создание тканевого микрочипа проходило в несколько этапов:

- I. Создание блока реципиента (из пустого парафинового блока размерами 78\*46\*12 мм, путем просверливания отверстий круглой формы, диаметром 2 мм. Количество отверстий варьировало от 15 до 20).
- II. Подготовка блоков доноров (сопоставление локусов с максимальным количеством опухолевой ткани с соответствующим местом на парафиновом блоке)
- III. Загрузка 1 блока реципиента и 4 блоков доноров в аппарат TMA Master
- IV. Перенос столбиков ткани в блок реципиент

Затем с готового тканевого микрочипа изготавливали срез, который окрашивали гематоксилином и эозином, для подтверждения наличия в образцах опухолевой ткани.

С данного блока также нарезались срезы толщиной 4 микрон, которые помещали на стекла с поли-L-лизиновым покрытием. Срезы подсушивались, депарафинизировались и подвергались демаскировке антигенов при помощи

цитратного буфера в условиях водяной бани при температуре 95°C в течение тридцати минут. После чего происходило охлаждение срезов при комнатной температуре, и промывание трис-буфером с твином. Каждый срез обводился парафиновым карандашом, после чего осуществлялось ингибирование эндогенной пероксидазы 3% перекисью водорода в течение 20 минут. Производилось окрашивание с использованием моноклональных кроличьих анти-Her2/neu антител (клон Ventana 4B5). Инкубирование проводилось в течение 12 часов при температуре +2 - +8°C (в условиях холодильной камеры), демаскировка антигенов на данном срезе не производилась.

Оценка экспрессии Her2/neu производилась для рака желудка производилась по методике, использовавшейся в исследовании ToGA (Таблица 1) [5,16].

Окрашивание со степенью 3+ считается положительным, со значением 2+ - сомнительным и требует подтверждения амплификации гена ErbB-2 методами гибридизации *in situ*, и значения 1+ и 0+ считаются отрицательными.

Таблица 1

Оценка гиперэкспрессии Her2/neu в препаратах желудка иммуногистохимическим методом [5]

	Оценка операционного материала	Оценка биопсийного материала	Значение Her2/neu гиперэкспрессии
0	Нет окрашивания или мембранное окрашивание <10% опухолевых клеток	Нет мембранного окрашивания опухолевых клеток	Негативное

1+	Слабое или едва заметное окрашивание >10% опухолевых клеток/ окрашивание только части мембраны опухолевой клетки	Кластер (больше 5 клеток) опухолевых клеток со слабым или едва заметным мембранным окрашиванием	Негативное
2+	Умеренное окрашивание >10% опухолевых клеток	Кластер (больше 5 клеток) опухолевых клеток умеренным мембранным окрашиванием	Сомнительное
3+	Сильное полное, базальное или базолатеральное мембранное окрашивание >10% опухолевых клеток	Кластер (больше 5 клеток) опухолевых клеток сильным полным, базальным или базолатеральным мембранным окрашиванием	Положительное

Для колоректального рака на данный момент нет общепринятого стандарта оценки гиперэкспрессии Her2/neu, поэтому были использованы рекомендации, использовавшиеся в исследовании HERACLES (таблица 2). [39]. Данная система оценки отличается от таковых для рака желудка и рака молочной железы, что скорее всего вызвано более высоким естественным уровнем экспрессии Her2/neu в ободочной кишке:

Таблица 2

Система оценки гиперэкспрессии Her2/neu при опухолях ободочной  
кишки [39]

Нет окрашивания	Негативный
Слабое или едва заметное окрашивание любого количества опухолевых клеток	Негативный
Умеренное окрашивание <50% опухолевых клеток	Негативный
Умеренное окрашивание >50% опухолевых клеток	Сомнительный (требуется подтверждение методами гибридизации in situ)
Сильное полное, базальное или базолатеральное мембранное окрашивание <10% опухолевых клеток	Негативный
Сильное полное, базальное или базолатеральное мембранное окрашивание 10-50% опухолевых клеток	Сомнительный (требуется подтверждение методами гибридизации in situ)
Сильное полное, базальное или базолатеральное мембранное окрашивание >50% опухолевых клеток	Позитивный

При статистической обработке данных использовался пакет анализа данных для Microsoft Excel 2016. Для оценки достоверности различий возраста пациентов в исследуемых группах использовался двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями. Для оценки достоверности различий в частоте встречаемости Her2/neu в исследуемых группах использовался угловой критерий Фишера.

### Глава 3. Результаты исследования

В исследование было включено 39 пациентов, получавших лечение в СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер».

#### 3.1. Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu

Согласно второй задаче у всех пациентов оценивала степень гиперэкспрессии Her2/neu, с целью определения частоты позитивных случаев.

По результатам гистологического и ИГХ исследования пациенты были разделены на 4 группы (рис.1,2):

- a. Her2/neu позитивные аденокарциномы желудка (5)
- b. Her2/neu негативные аднеокарциномы желудка (14)
- c. Her2/neu позитивные аденокарциномы ободочной кишки (2)
- d. Her2/neu негативные аднеокарциномы ободочной кишки (18)

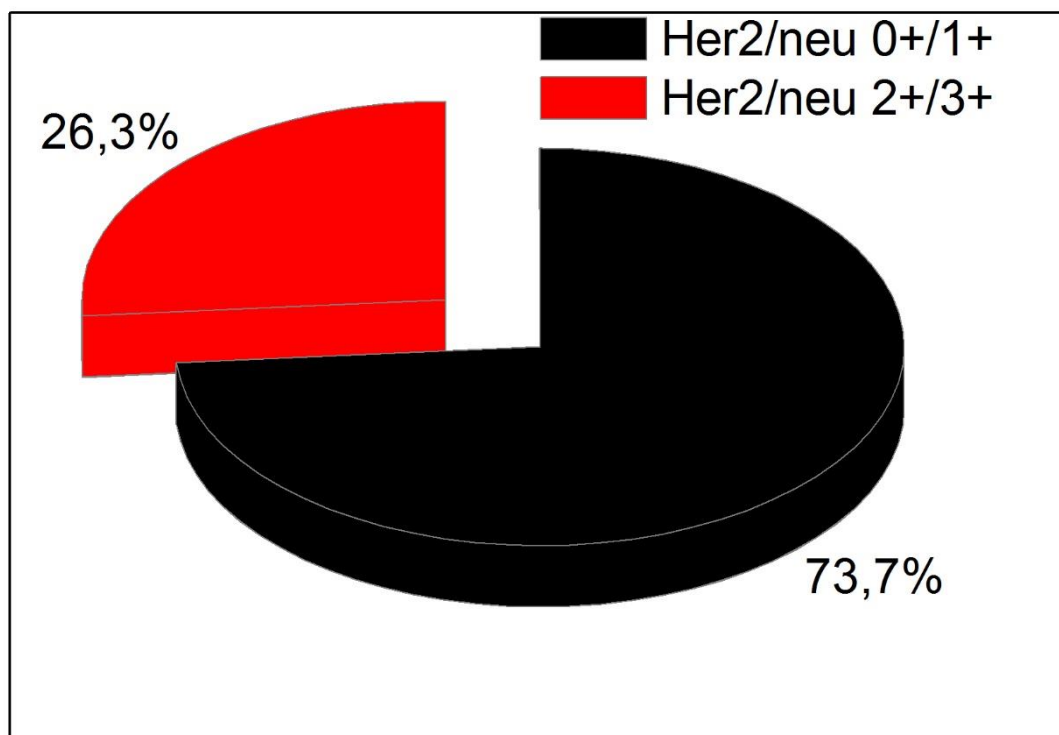


Рис. 1. Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu в аденокарциномах желудка.

Доля Her2/neu позитивных опухолей составила 26,32%. Это несколько больше чем в литературных данных о распространённости Her2/neu

гиперэкспрессии в мире (22,1%), и может быть объяснено особенностями исследуемой популяции или недостаточным объемом выборки [5]. По этим данным можно сделать вывод, что такое ИГХ исследование должно проводиться всем больным с РЖ, чтобы иметь возможность назначать более эффективное лечение таким пациентам.

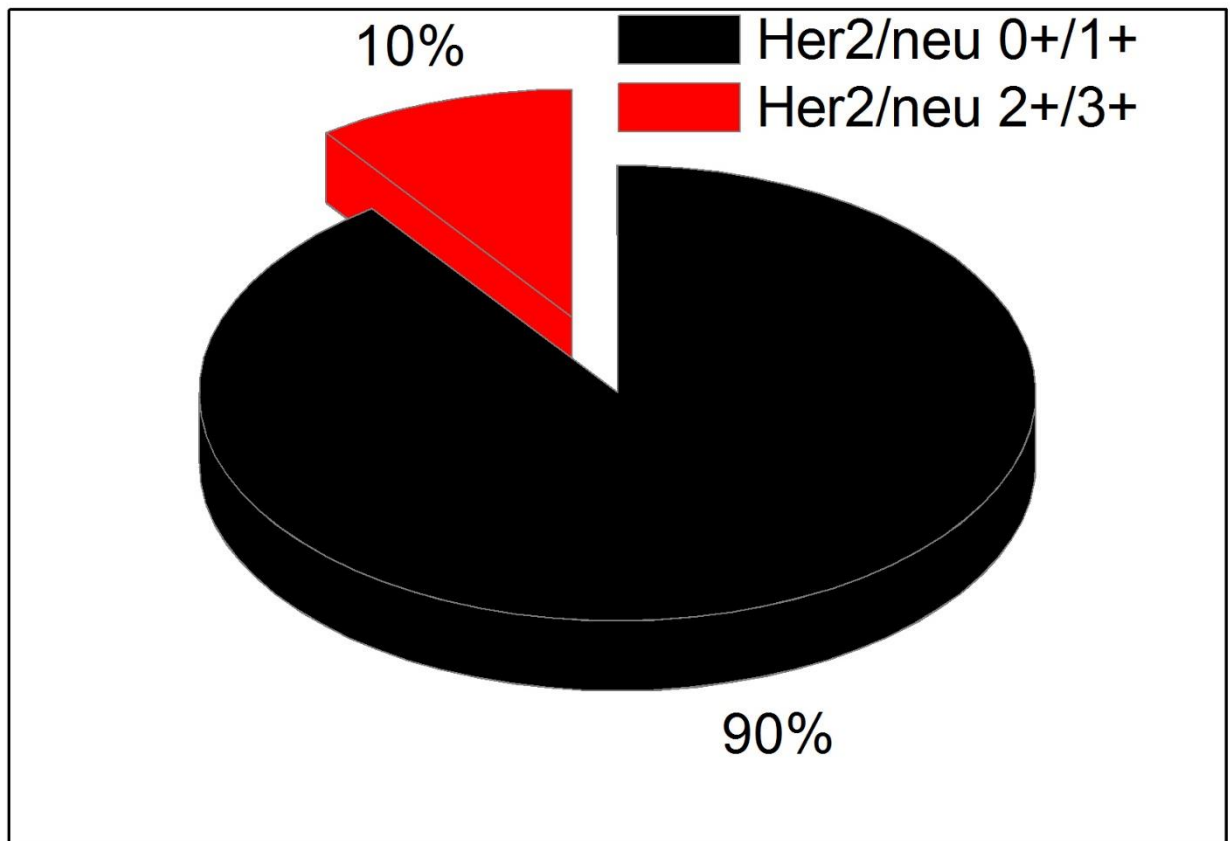


Рис. 2. Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu в аденокарциномах ободочной кишки

Доля Her2/neu позитивных опухолей составила 10%. Это несколько больше чем в литературных данных о распространённости Her2/neu гиперэкспрессии в мире (5,25%) [14,28,33,39], и может быть объяснено особенностями исследуемой популяции или недостаточным объемом выборки.

### 3.2. Клинические особенности, отличающие Her2/neu позитивные аденокарциномы

Согласно третьей задаче у всех пациентов оценивались такие параметры как пол, возраст, диагноз, локализация опухоли, характер метастазирования.

Так как при раке молочной железы Her2/neu позитивные опухоли чаще выявляются у более молодых пациентов [40], сравнивался средний возраст пациентов в исследуемых группах (рис 3,4).

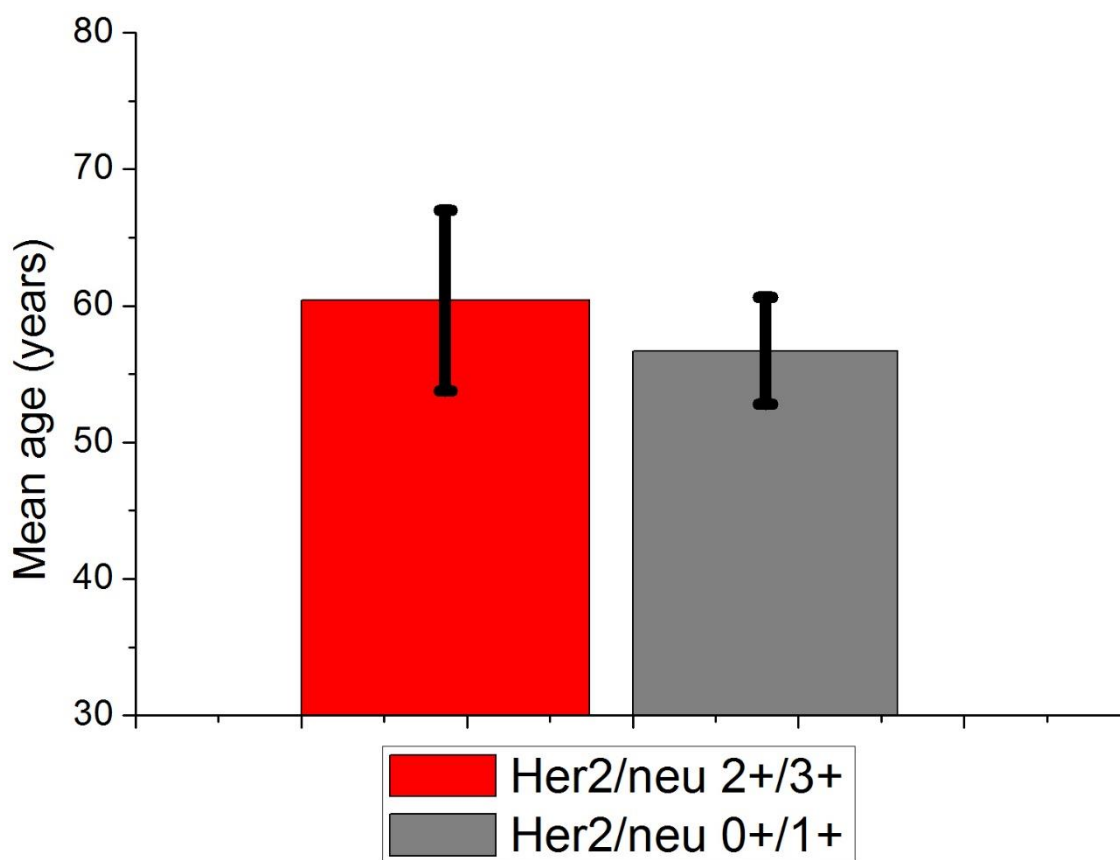


Рис. 3. Средний возраст пациентов с гиперэкспрессией Her2/neu и без нее при аденокарциномах желудка

Средний возраст пациентов с гиперэкспрессией Her2/neu при раке желудка составил 60,4 года, без гиперэкспрессии- 56,7 лет, достоверных различий обнаружено не было ( $p=0,92$ ).

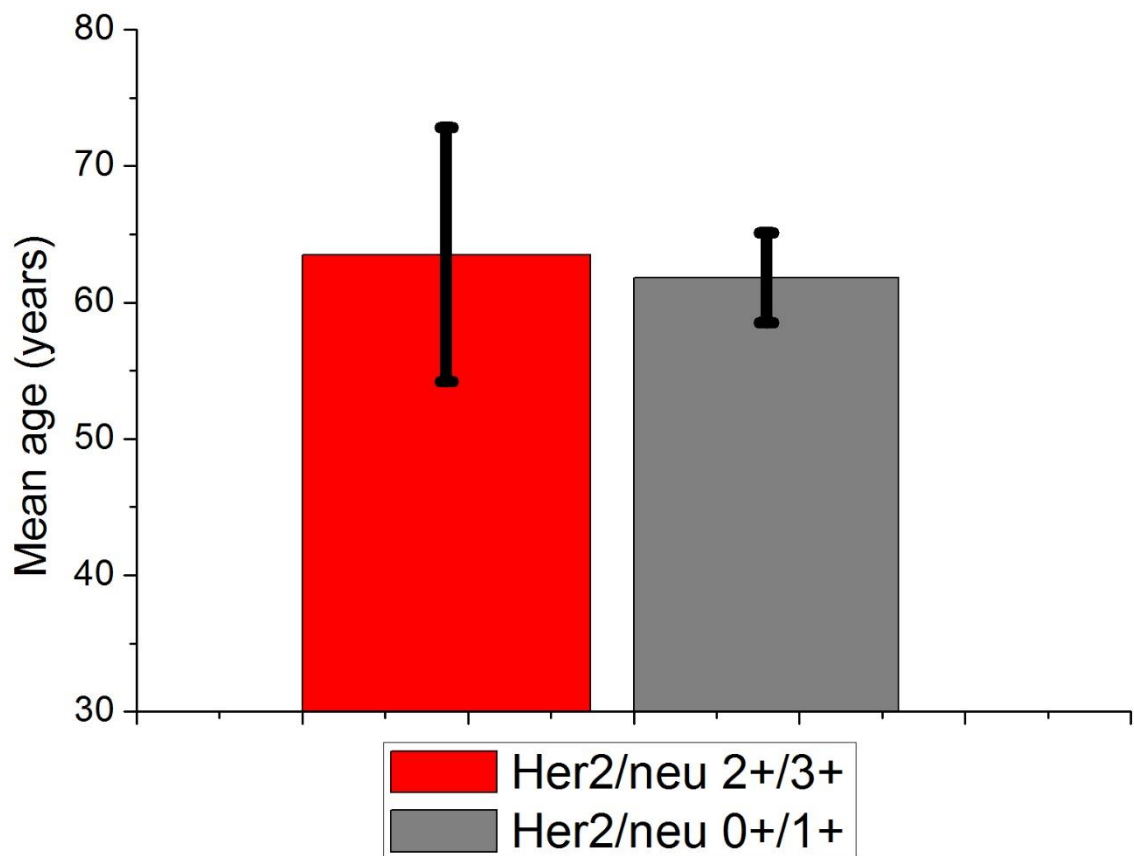


Рис. 4. Средний возраст пациентов с Her2/neu позитивной и Her2/neu негативной аденокарциномой ободочной кишки

Средний возраст пациентов с Her2/neu позитивными опухолями составил 65,5 лет, а пациентов с Her2/neu негативными опухолями – 61,8 лет, однако достоверных различий между группами выявлено не было ( $p=0,26$ )



Для выявления возможных гендерных различий в экспрессии Her2/neu сравнивались пациенты разного пола по этому параметру (рис 5,6).

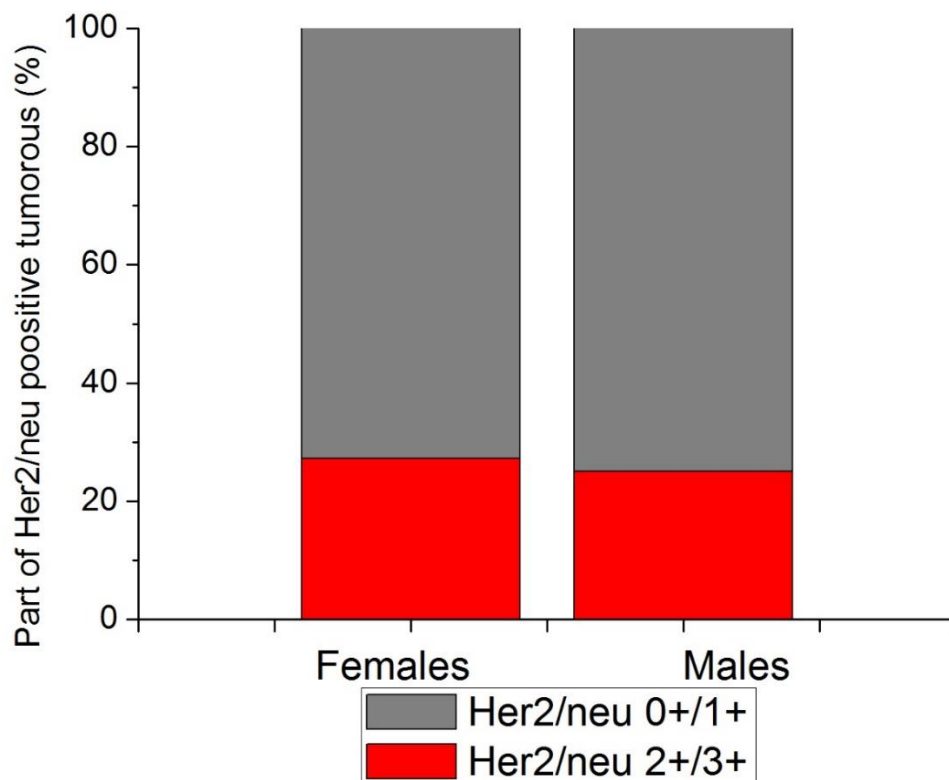


Рис. 5. Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu при аденокарциномах у мужчин и женщин.

В выборке было 11 женщин, у 3 из них была выявлена гиперэкспрессия Her2/neu (27,27%). В то же время, среди 8 мужчин гиперэкспрессия была обнаружена у 2 пациентов (25%). Выявленные различия были незначимы ( $\phi=0,114$ ).

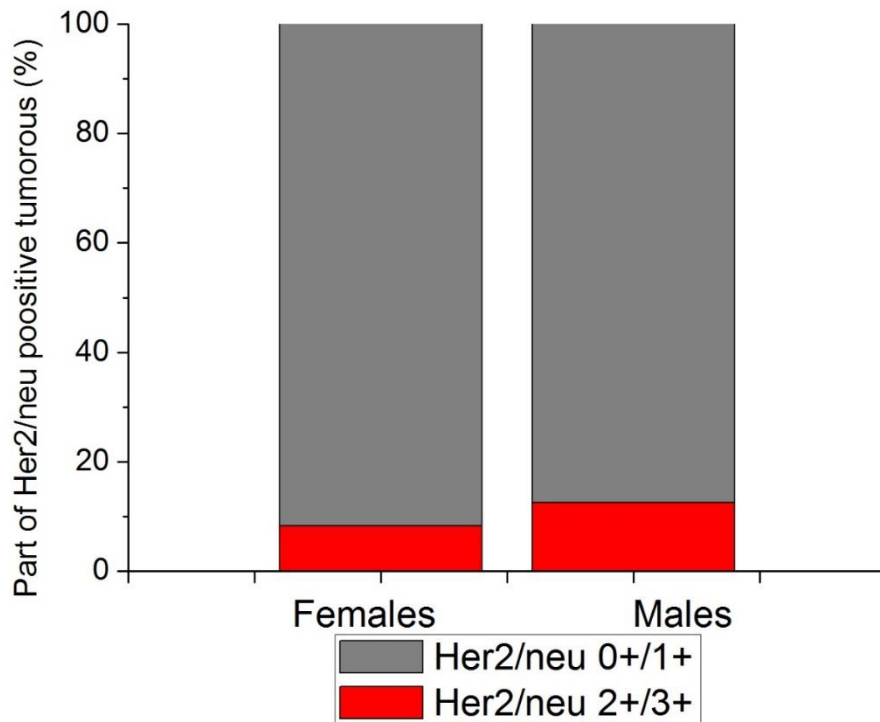


Рис.6. Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu при аденокарциномах ободочной кишки у мужчин и женщин.

В выборке было 12 женщин, и у одной была выявлена гиперэкспрессия Her2/neu (8,3%). Среди 8 мужчин у одного также встретилась гиперэкспрессия Her2/neu (12,5%). Как можно видеть есть некоторые различия между полами, которые, однако были недостоверными ( $\phi=0,305$ ).

Так как при аденокарциномах желудка в литературе встречаются данные о различной частоте гиперэкспрессии Her2/neu в кардиальном отделе и теле желудка, оценивалась также зависимость от локализации опухоли (рис 7) [3,32].

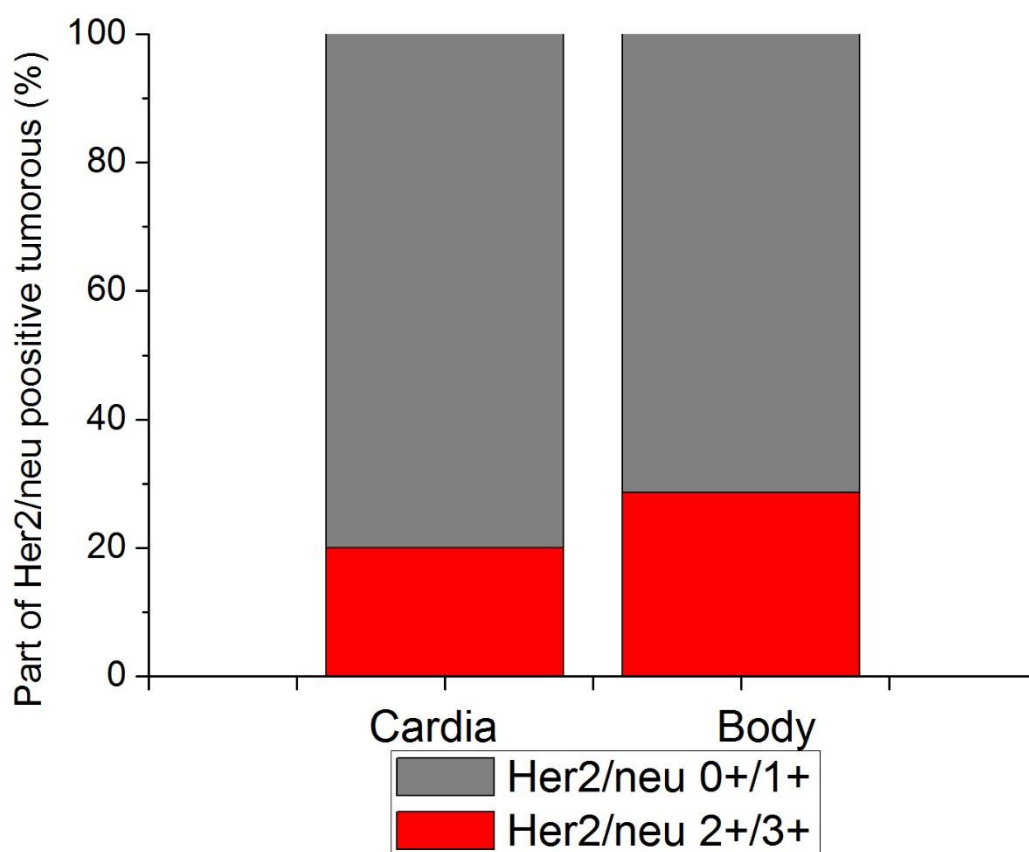


Рис. 7. Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu при локализации первичной опухоли в кардиальном отделе и теле желудка.

В исследуемой выборке встретилось 5 аденокарцином в кардиальном отделе желудка, в одной из них была отмечена гиперэкспрессия Her2/neu (20%), что меньше, чем частота в теле желудка, где Her2/neu позитивными было 4 из 14 аденокарцином (28,6%), что соотносится с данными литературы [3,32].

Также исследовалась экспрессия Her2/neu при разных локализациях опухоли в ободочной кишке. При этом разделяли ее на правую (Слепая, восходящая ободочная, печеночный угол, поперечная ободочная) и левую (селезеночный угол, нисходящая ободочная, сигмовидная) половины (рис 8).

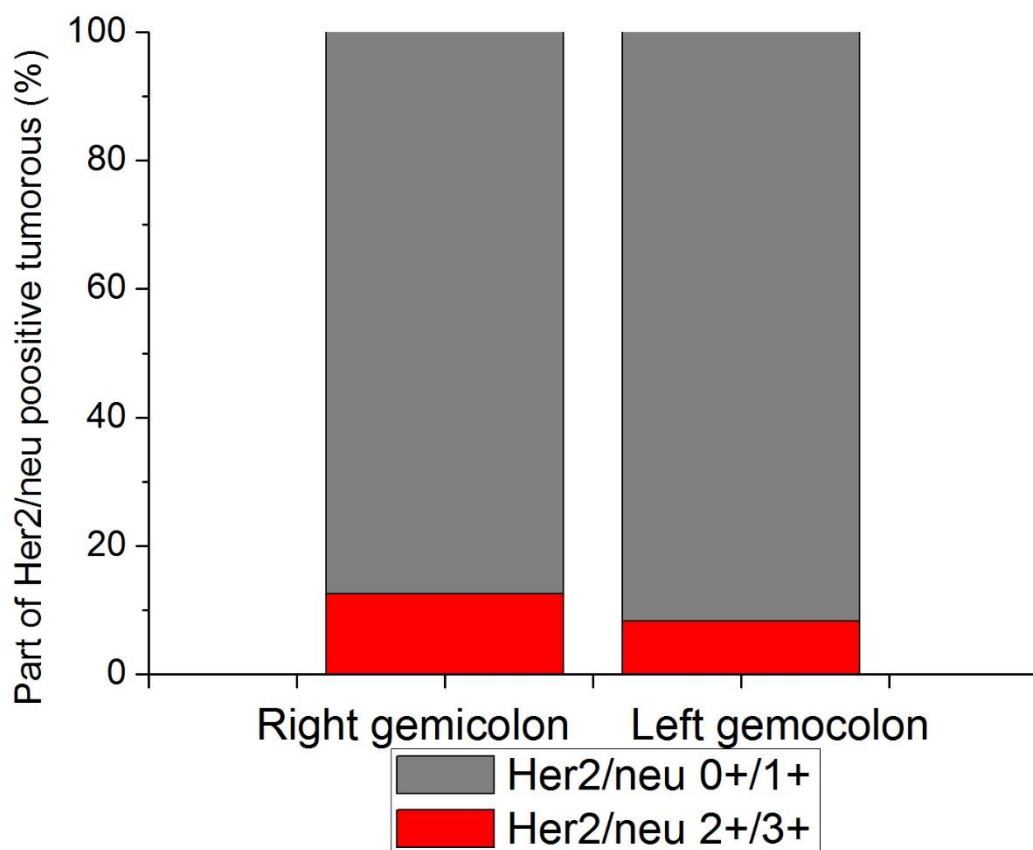


Рис. 8. Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu в правом и левом гемиколоне.

В правой половине ободочной кишки гиперэкспрессия Her2/neu встречалась в 1 случае из 8 (12,5%), а в левой половине в 1 случае из 12 (8,3%). Таким образом можно отметить, что в правой половине ободочной кишки чаще встречаются Her2/neu позитивные опухоли, однако эти различия были недостоверны ( $\phi=0,305$ ) возможно из-за малого объема выборки.

Для оценки возможных различий в характере метастазирования сравнивались Her2/neu позитивные и негативные опухоли по локализациям отдаленных метастазов (рис 9,10)

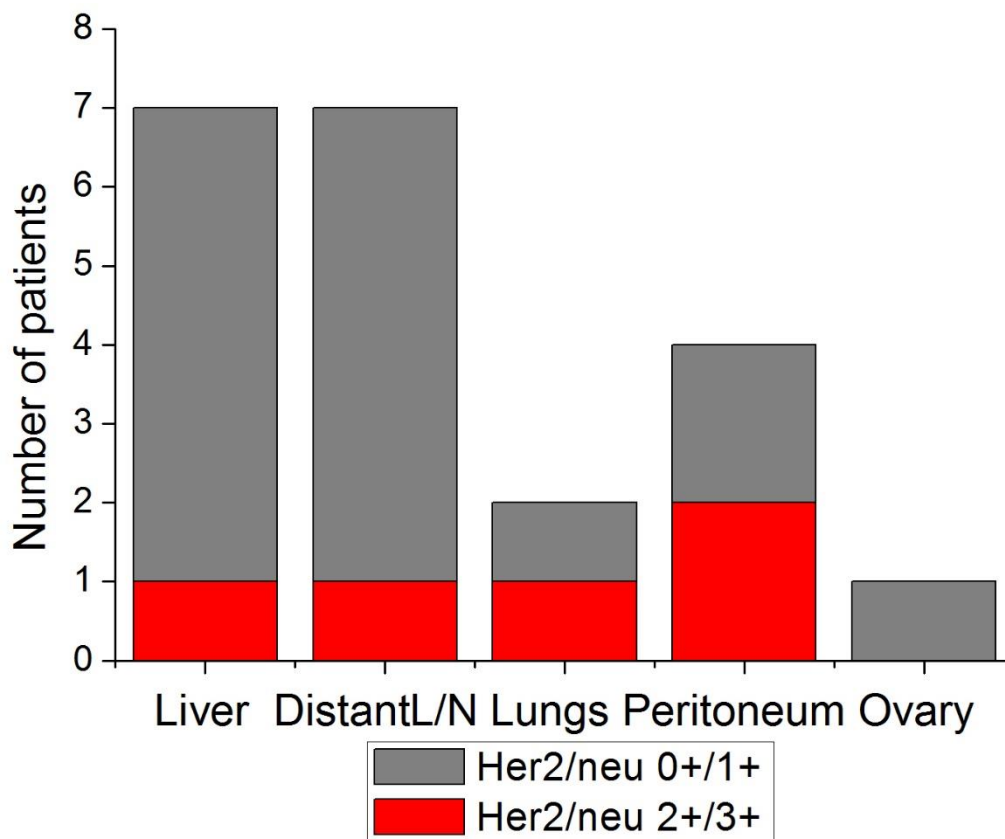


Рис. 9. Локализация метастазов в Her2/neu позитивных и Her2/neu негативных опухолях желудка

Несмотря на то, что при аденокарциноме желудка чаще встречаются метастазы в печень и отдаленные лимфатические узлы, при Her2/neu позитивных опухолях чаще обнаруживались метастазы в легкие и по брюшине (20 и 40 % соответственно).

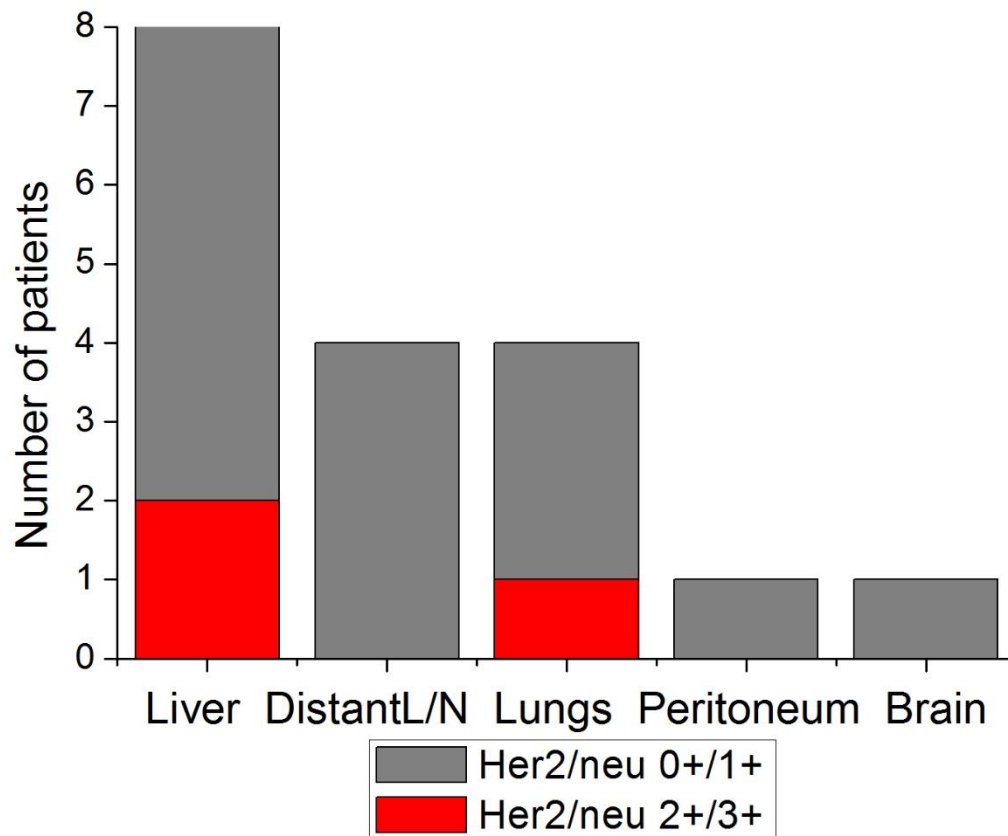


Рис. 10. Локализация метастазов при Her2/neu позитивных и Her2/neu негативных опухолях ободочной кишки.

В выявленных случаях Her2/neu позитивной аденокарциномы ободочной кишки не было обнаружено метастазов в отдалённые л/у.

### 3.3. Патоморфологические особенности, отличающие Her2/neu позитивные аденокарциномы ободочной кишки

Согласно четвертой задаче у всех пациентов оценивались такие параметры как гистологический подтип и степень клеточной дифференцировки.

По классификации ВОЗ аденокарциномы разделяются на несколько подтипов (тубулярная, папиллярная, муцинозная) и, также, отдельно выделяют слабо-связанную (poorly-cohesive) аденокарциному, в которую вошли перстневидно-клеточный рак и диффузные формы [10]. Важным является определение гиперэкспрессии Her2/neu в аденокарциномах и слабо-связанных аденокарциномах, поскольку эти формы отличаются по прогнозу и течению (рис. 11)

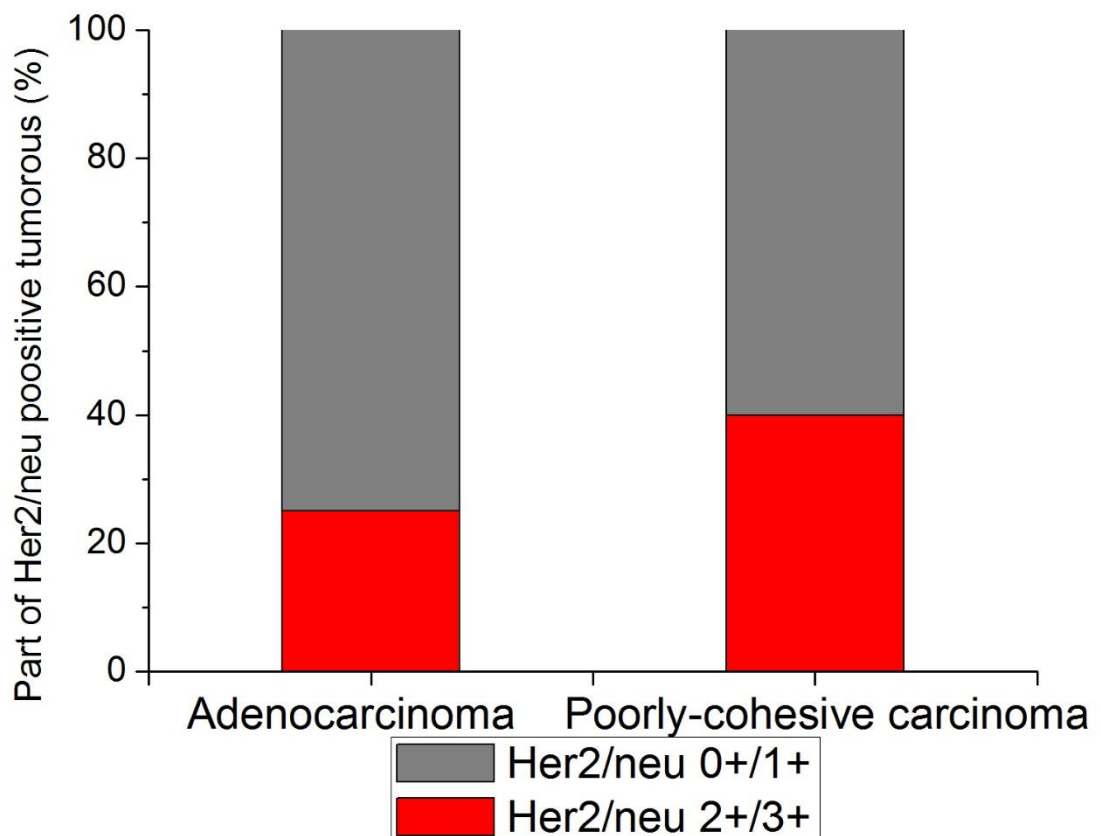


Рис.11. Распределение пациентов в зависимости от гистологического подтипа при аденокарциномах желудка.

При слабо-связанных аденокарциномах желудка гиперэкспрессия Her2/neu отмечалась чаще: доля опухолей с гиперэкспрессией составила 40%, чем при других подтипах (25%).

При аденокарциномах ободочной кишки по классификации ВОЗ также помимо аденокарциномы выделяют особенные группы, такие как муцинозные карциномы и слабо-связанные (перстневидно-клеточные) [10]. Имеет значение определение гиперэкспрессии Her2/neu в аденокарциномах, муцинозных аденокарциномах и слабо-связанных аденокарциномах, поскольку они отличаются по прогнозу и течению (рис. 12)

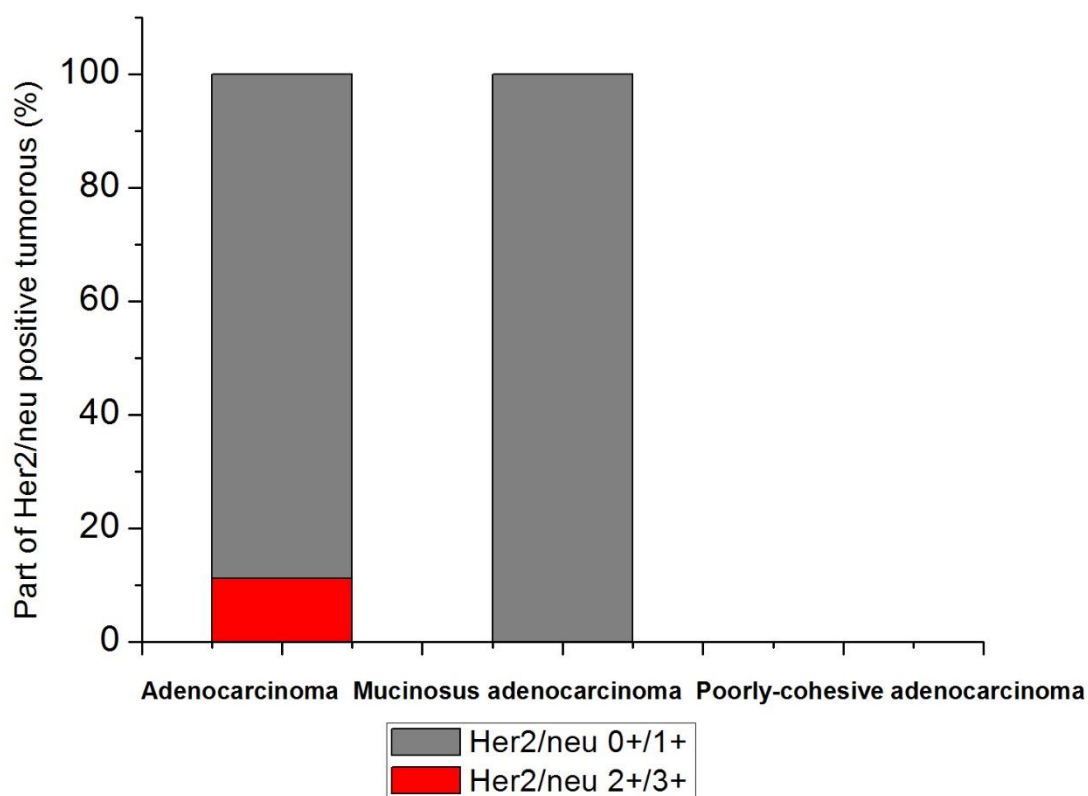


Рис. 12. Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu при разных гистологических формах рака ободочной кишки

При раке ободочной кишки гиперэкспрессия Her2/neu встречалась только в простых аденокарциномах, и не встречалась в муцинозных аденокарциномах. Слабо-связанных аденокарцином ободочной кишки в выборке не оказалось.



Аденокарциномы желудка разделяются по степени клеточной дифференцировки, что играет роль для прогноза у больных данными заболеваниями (чем ниже дифференцировка опухоли – тем хуже прогноз для пациента). Поэтому сравнивалась степень клеточной дифференцировки исследуемых опухолей (рис. 13)

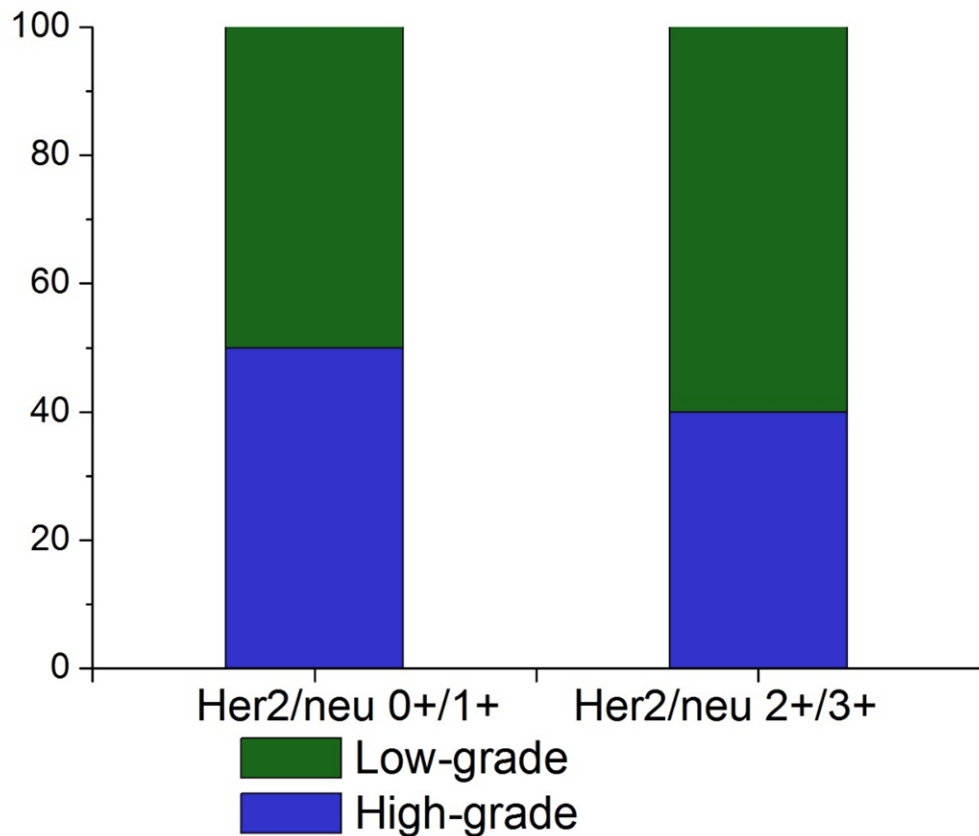


Рис. 13. Распределение пациентов по степени клеточной дифференцировки при аденокарциномах желудка

Было выявлено, что среди Her2/neu позитивных опухолей несколько чаще встречаются низкодифференцированные формы (G3) (60%), чем среди Her2/neu негативных (50%).

Аденокарциномы ободочной кишки также разделяются по степени клеточной дифференцировки, что имеет прогностическое значение (чем ниже дифференцировка опухоли – тем хуже прогноз для пациента) (рис. 14)

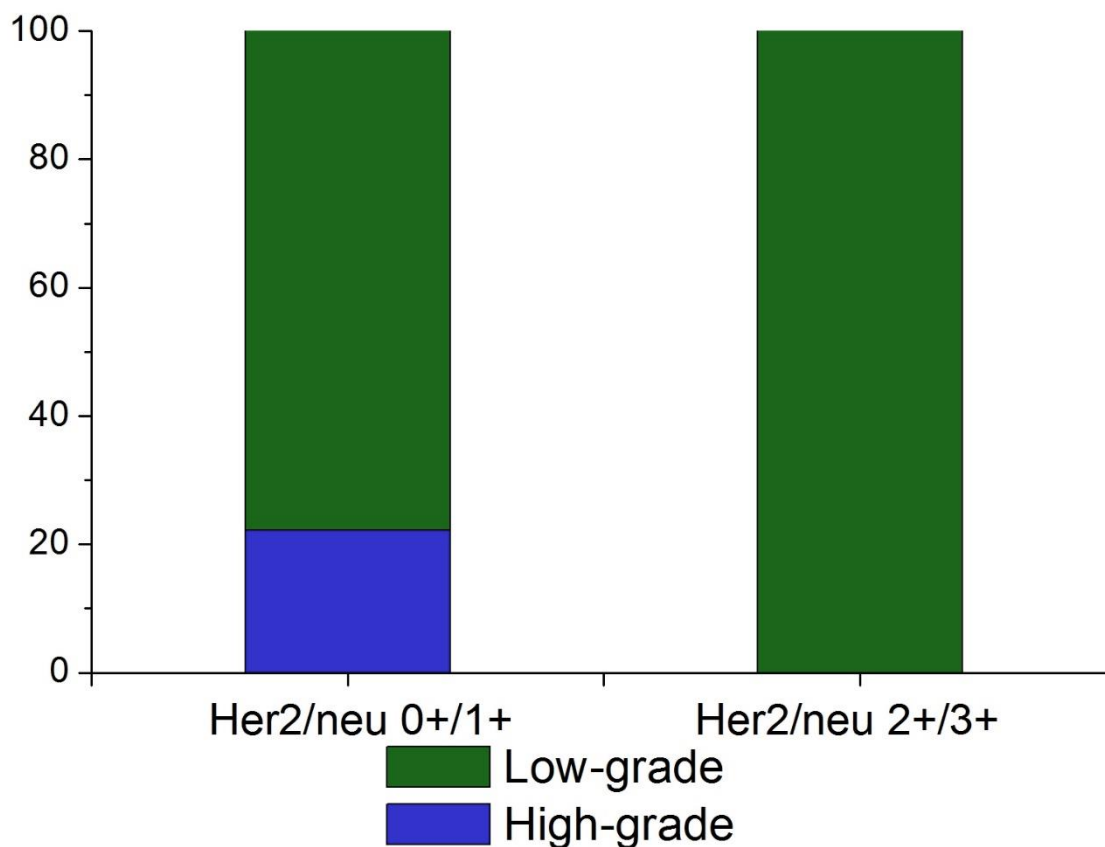


Рис. 5. Распределение пациентов по степени клеточной дифференцировки при аденокарциномах ободочной кишки

Было выявлено, что среди Her2/neu позитивных опухолей встречались только высоко- и умереннодифференцированные (G1 или G2, low-grade), а низкодифференцированных опухолей с гиперэкспрессией Her2/neu не было обнаружено, тогда как среди Her2/neu негативных опухолей доля низкодифференцированных опухолей (G3, high-grade) составляла 22,2%.

### **3.4. Клинический случай применения трастузумаба при Her2/neu позитивной аденокарциноме ободочной кишки**

Эффективность анти-Her2/neu терапии при аденокарциномах молочной железы и желудка была доказана во многих крупных клинических исследованиях [5,37,40]. В то же время работ по применению такой терапии при Her2/neu позитивных опухолях ободочной кишки пока не так много, но в большинстве из них было показано, что назначение анти-Her2/neu препаратов оказалось неэффективным для лечения метастатических аденокарцином толстой кишки.

Среди пациентов с выявленной гиперэкспрессией Her2/neu при аденокарциноме ободочной кишки, вошедших в выборку, один больной получал терапию анти-Her2/neu препаратом.

Пациент Л, 60 лет, в апреле 2015 года обратился с жалобами на длительные запоры, перемежающиеся с диареей, потерю массы тела около 12%, боли в левой подвздошной области.

Пациенту была выполнена колоноскопия, в ходе которой было выявлено образование сигмовидной кишки. Гистологическое заключение: высокодифференцированная аденокарцинома сигмовидной кишки. После дообследования был поставлен диагноз: рак сигмовидной кишки cT3N1M0.

22.06.15 была выполнена резекция сигмовидной кишки. По данным гистологического исследования операционного материала была подтвержден клинический диагноз: высокодифференцированная аденокарцинома сигмовидной кишки с метастазами в 3 из 13 лимфатических узлов, в клетчатке, окружающей сигмовидную кишку, pT3 pN1 G1 R0. В адьювантном режиме пациенту было проведено 4 цикла полихимиотерапии по схеме FOLFOX4. В декабре 2015 года по данным КТ органов грудной клетки, брюшной полости было зарегистрировано прогрессирование заболевания: появление метастазов в печень. Было проведено молекулярно-генетическое исследование, при котором был выявлен дикий тип K-RAS и N-

RAS, отсутствие микросателлитной нестабильности и амплификация гена ErbB-2.

В качестве терапии второй линии пациенту было рекомендовано проведение монотерапии трастузумабом – с января 2016 года по ноябрь 2016 года было проведено 15 циклов терапии с максимальным эффектом лечения частичный регресс. В ноябре 2016 года при контрольном обследовании было выявлено прогрессирование заболевания: появление очагов вторичного генеза в костях. Таким образом PFS составило 11 месяцев при применении трастузумаба.

С декабря 2016 года по настоящее время пациент получает полихимиотерапию по схеме FOLFIRI + трастузумаб, на данный момент максимальный эффект лечения - стабилизация процесса.

Таким образом, несмотря на данные других клинических случаев и исследований, у пациента, вошедшего в выборку, монотерапия анти-Her2/neu препаратом оказалась весьма эффективной, что может свидетельствовать о наличии малой подгруппы пациентов, для которых наличие гиперэкспрессии Her2/neu является положительным предиктивным фактором. Однако, для выявления специфических молекулярно-генетических и клинико-морфологических характеристик такой подгруппы необходимо проведение дальнейших исследований.

## Глава 4. Заключение

Проблема злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта заключается в чрезвычайно высокой встречаемости и нередким поздним выявлением, что приводит к низким показателям выживаемости. Для увеличения продолжительности жизни таких пациентов необходима эффективная системная терапия, в связи с чем поиск возможных мишеней для лекарственного воздействия становится одним из наиболее перспективных направлений для исследования. Her2/neu – один из возможных кандидатов, так как гиперэкспрессия этого рецептора встречается при опухолях различной локализации и благодаря доказанной роли в процессах канцерогенеза.

Во многих литературных источниках встречаются данные о том, что при гиперэкспрессии Her2/neu выявляются некоторые отличия в клиническом течении и морфологической картине опухолей различных локализаций [3,12,15,17-21,23,24,32,36,38,42]. Так, при раке желудка отмечена связь более частым метастазированием в печень и более частой гиперэкспрессией в более дифференцированных тубулярных аденокарциномах пилорического отдела у пациентов старше 65 лет [3,12,17,21,23,24,32,42,]. В то же время большинство исследований, посвященных аденокарциномам ободочной кишки не описывает различий в клинико-морфологических характеристиках опухолей [27,30,34]

В настоящем исследовании оценка гиперэкспрессии Her2/neu проводилась методом иммуногистохимической реакции и оценивалась в соответствии с международными рекомендациями. Также применялась технология создания тканевых микрочипов, с помощью которой удавалось получать до 25 окрашенных препаратов, с израсходованием всего одной дозы антител.

В ходе исследования было выявлено, что гиперэкспрессия Her2/neu при раке желудка встречается в 26,3% случаев и этот показатель соотносится с данными литературы [16]. В то же время частота гиперэкспрессии при раке ободочной кишки составила 10%, что несколько выше, чем по данным исследований, проведенных с большим количеством пациентов и по модифицированной системе оценки [14,28,33,39].

Также было выявлено, что гиперэкспрессия Her2/neu не коррелирует с возрастом и полом пациента.

Морфологическая оценка опухоли показала, что гиперэкспрессия Her2/neu при раке желудка чаще встречается при перстневидно-клеточных аденокарциномах, чем при других. В то же время для ободочной кишки все Her2/neu позитивные опухоли были аденокарциномами, тогда как муцинозных или слабо-связанных карцином с гиперэкспрессией HER2/neu обнаружено не было.

При оценке степени клеточной дифференцировки было отмечено, что Her2/neu позитивные опухоли желудка чаще бывают низкодифференцированными, чем Her2/neu отрицательные. В то же время среди аденокарцином ободочной кишки с гиперэкспрессией Her2/neu низкодифференцированных форм не встречалось.

Таким образом, были обнаружены клиничко-морфологические различия Her2/neu позитивных аденокарцином желудка и ободочной кишки, от Her2/neu негативных опухолей тех же локализаций, однако для более полного представления о характере и значимости этих различий необходимо продолжить исследование.

## Выводы

1. Была освоена методика выявления гиперэкспрессии Her2/neu в образцах рака желудка и ободочной кишки на основании международных рекомендаций методом иммуногистохимической реакции [16,39].
2. Была установлена частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu: в аденокарциномах желудка она составила 26,3%, в аденокарциномах ободочной кишки - 10%.
3. Были выявлены клинические особенности Her2/neu позитивных аденокарцином желудка: они чаще локализованы в теле желудка, чаще метастазируют по брюшине и в легкие и реже метастазируют в печень и лимфатические узлы.  
Her2/neu позитивные аденокарциномы ободочной кишки отличаются более редким метастазированием в отдаленные лимфоузлы и более частым метастазированием в кости и печень.  
Частота встречаемости гиперэкспрессии Her2/neu не зависит от пола и возраста пациентов при аденокарциномах как желудка, так и ободочной кишки.
4. Были определены морфологические отличия аденокарцином с гиперэкспрессией Her2/neu: аденокарциномы желудка чаще являются слабо-связанными аденокарциномами, однако являются более высокодифференцированными.  
Среди аденокарцином ободочной кишки, в свою очередь, гиперэкспрессия Her2/neu встречалась только при низких и умереннодифференцированных немутационных и неперстневидноклеточных опухолях.

## Список литературы

1. Орлова Р.В., Кашенко В.А.; рак желудка: практические рекомендации; СПб.: издательство "X-PRINT", 2014-60с.
2. Руководство пользователя TMA Master 1.14; 2009.
3. Aizawa M. N., A.Kitada K Kuwata T Fujii S Kinoshita T Ochiai A; Evaluation of HER2-based biology in 1,006 cases of gastric cancer in a Japanese population; Gastric Cancer. 2014 Jan;17(1):34-42
4. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, et al. The product of the human c-erbB-2 gene: A 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. Science. 1986;232:1644-1646
5. Bang Yung-Jue, Van Cutsem E., Feyereislova A., Chung H.C., et al.; Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial; Lancet 2010; 376: 687–97
6. Begnami M.D., Fukuda E., Fregnani J.H.T.G., Nonogaki S. et al; Prognostic Implications of Altered Human Epidermal Growth Factor Receptors (HERs) in Gastric Carcinomas: HER2 and HER3 Are Predictors of Poor Outcome; J Clin Oncol 29:3030-3036.
7. Bertotti A, Migliardi G, Galimi F et al. A molecularly annotated platform of patient-derived xenografts ("xenopatients") identifies HER2 as an effective therapeutic target in cetuximab-resistant colorectal cancer. Cancer Discov 2011;1:508–523.
8. Boku N.; Her2-positive gastric cancer; Gastric Cancer. 2014 Jan;17(1):1-12
9. Bose R., Kavuri S.M., Searleman A.C., Shen W. et al.; Activating HER2 mutations in HER2 gene amplification negative breast cancer; Cancer Discov. 2013 February ; 3(2): 224–237.
10. Bosman, F.T., Carneiro, F., Hruban, R.H., Theise, N.D.; World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. IARC Press; Lyon 2010
11. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. Science. 1985;230:1132-1139
12. De Silva N., Schulz L., Paterson A., Qain W. et al.; Molecular effects of Lapatinib in the treatment of HER2 overexpressing oesophago-gastric adenocarcinoma; British Journal of Cancer (2015), 1–8.
13. Eric Van Cutsem, Yung-Jue Bang, Feng Feng-yi, Jian M. Xu, et al.; HER2 screening data from ToGA: targeting HER2 in gastric and gastroesophageal junction cancer; Gastric Cancer (2015) 18:476–484.



14. Fanotto V, Ongaro E., Rihawi K., Avallone A., Silvestris N. et al.; HER-2 inhibition in gastric and colorectal cancers: tangible achievements, novel acquisitions and future perspectives; *Oncotarget*. 2016 Aug 12
15. Gu J., Zheng L., Wang Y., Zhu M., et al.; Prognostic significance of HER2 expression based on trastuzumab for gastric cancer (ToGA) criteria in gastric cancer: an updated meta-analysis; *Tumour Biol*. 2014 Jun;35(6):5315-21
16. Hofmann M., Stoss O., Shi D., et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008; 52: 797–805
17. Janjigian Y. Y. and Cornell W.; Lapatinib in Gastric Cancer: What Is the LOGiCal Next Step? *Journal of Clinical Oncology*, Vol 34, No 5 (February 10), 2016: pp 401-403
18. Janjigian Y. Y., Werner D., Pauligk C., Steinmetz K. et al.; Prognosis of metastatic gastric and gastroesophageal junction cancer by HER2 status: a European and USA International collaborative analysis; *Ann Oncol*. 2012 Oct;23(10):2656-62.
19. Jomrich G. and Schoppmann S.F., Targeting HER 2 and Angiogenesis in Gastric Cancer, *Expert Rev Anticancer Ther*. 2016;16(1):111-22.
20. Jørgensen J.T. and Hersom M.; HER2 as a Prognostic Marker in Gastric Cancer - A Systematic Analysis of Data from the Literature; *Journal of Cancer* 2012; 3: 137-144.
21. Jørgensen J.T. et al.; Role of human epidermal growth factor receptor 2 in gastric cancer: Biological and pharmacological aspects; *World J Gastroenterol* 2014 April 28; 20(16): 4526-4535
22. Kavuri S.M., Jain N., Galimi F., Cottino F.; HER2 activating mutations are targets for colorectal cancer treatment; *Cancer Discov*. 2015 August ; 5(8): 832–841
23. Kim K.M., Bilous M., Chu K.M., Kim B.S., Kim W.H., Park Y.S., Ryu M.H., Sheng W., Wang J., Chao Y., Ying J., Zhang S.; Human epidermal growth factor receptor 2 testing in gastric cancer: recommendations of an Asia-Pacific task force.; *Asia Pac J Clin Oncol*. 2014 Dec;10(4):297-307
24. Liang J.W., Zhang J.J., Zhang T., Zheng Z.C.; Clinicopathological and prognostic significance of HER2 overexpression in gastric cancer: a meta-analysis of the literature.; *Tumour Biol*. 2014 May;35(5):4849-58
25. Mihmanli M., Ilhan E., Oguz I.E., Alemdar A., Demir U.; Recent developments and innovations in gastric cancer; *World J Gastroenterol* 2016 May 7; 22(17): 4307-4320
26. Peng Ye, Meizhuo Zhang, Shuqiong Fan, Tianwei Zhang, et al.; Intra-Tumoral Heterogeneity of HER2, FGFR2, cMET and ATM in Gastric Cancer: Optimizing Personalized Healthcare through Innovative Pathological and Statistical Analysis; *PLoS One*. 2015 Nov 20;10(11)

27. Richman S.D., Southward K., Chambers P., Cross D., Barrett J. et al.; HER2 overexpression and amplification as a potential therapeutic target in colorectal cancer: analysis of 3256 patients enrolled in the QUASAR, FOCUS and PICCOLO colorectal cancer trials; *J Pathol* 2016; 238: 562–570
28. Sartore-Bianchi A., Trusolino L., Martino C., Bencardino K., Lonardi S., et al.; Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial; *Lancet Oncol.* 2016 Jun;17(6):738-46
29. Saton T., Yung-jue Bang, Gotovkin E., Hamamoto Y., et al.; Quality of Life in the Trastuzumab for Gastric Cancer Trial; *The Oncologist* 2014;19:712–719
30. Sheng-wen Wu, Cong-chao Ma and Wen-hui Li; Does overexpression of HER-2 correlate with clinicopathological characteristics and prognosis in colorectal cancer? Evidence from a meta-analysis; *Diagnostic Pathology* (2015) 10:144
31. Shimoyama S. et al.; Unraveling trastuzumab and lapatinib inefficiency in gastric cancer: Future steps (Review); *MOLECULAR AND CLINICAL ONCOLOGY* 2: 175-181, 2014
32. Smyth E.C. and Cunningham D.; Targeted Therapy for Gastric Cancer; *Current Treatment Options in Oncology* (2012) 13:377–389
33. Stahl P.R., Schnellert J., Koop C., Simon R., Marx A., et al; Determination of Tumor Heterogeneity in Colorectal Cancers Using Heterogeneity Tissue Microarrays; *Pathol Oncol Res.* 2015 Sep;21(4):1183-9
34. Styczen H., Nagelmeier I, Beissbarth T, Nietert M., Homayounfar K., et al.; HER-2 and HER-3 expression in liver metastases of patients with colorectal cancer; *Oncotarget*, Vol. 6, No. 17; April 13, 2015
35. Takenaka M., Hanagiri T., Shinohara S., Kuwata T. et al; The Prognostic Significance of HER2 Overexpression in Non-small Cell Lung Cancer; *Anticancer research* 31: 4631-4636 (2011)
36. Terashima M., Kitada K., Ochiai A., Ichikawa W., et al.; Impact of Expression of Human Epidermal Growth Factor Receptors EGFR and ERBB2 on Survival in Stage II/III Gastric Cancer; *Clin Cancer Res*; 18(21) November 1, 2012
37. Thibault C., Khodari W., Lequoy M., Gligorov J., Belkacémi Y.; HER2 status for prognosis and prediction of treatment efficacy in adenocarcinomas: A review; *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 88 (2013) 123–133
38. Thiel A. and Risamaki A.; Targeted therapy in gastric cancer; *APMIS* 2015; 123: 365–372.
39. Valtorta E., et al.; Assessment of a HER2 scoring system for colorectal cancer: results from a validation study; *Modern Pathology* 2015 Nov;28(11):1481-91

40. Vincent T. DeVita, Jr., Theodore S. Lawrence, Steven A. Rosenberg with 404 contributing authors; DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer : principles & practice of oncology—10th edition; Wolters Kluwer Health / Lippincott Williams & Wilkins.
41. Wen-Juan Yang, Xing-Jie Shen, Xiao-Xia Ma, Zhi-Gang Tan, et al.; Correlation of human epidermal growth factor receptor protein expression and colorectal cancer; World J Gastroenterol 2015 July 28; 21(28): 8687-8696
42. Yan Shi-Yan, Ying Hu, Jian-Gao Fan, Guo-Quan Tao et al.; Clinicopathologic significance of HER-2/neu protein expression and gene amplification in gastric carcinoma; World J Gastroenterol 2011 March 21; 17(11): 1501-1506
43. Yazici O., Sendur N., Ozdemir N., Aksoy S.; Targeted therapies in gastric cancer and future perspectives; World J Gastroenterol 2016 January 14; 22(2): 471-489
44. Yi J.H., Kang J.H., Hwang I.G., Ahn H.K. et al.; A Retrospective Analysis for Patients with HER2-Positive Gastric Cancer Who Were Treated with Trastuzumab-Based Chemotherapy: In the Perspectives of Ethnicity and Histology; Cancer Res Treat. 2016 Apr;48(2):553-60.