

DETERMINAREA MARKERULUI DE PROLIFERARE CELULARĂ KI-67 LA PACIENTELE CU CANCER ENDOMETRIAL.

Irina TRIPAC, d.m., Frank GHEORGHIU*, academician, profesor,
Nina BOGDANSKAIA, d.h.ş.m., Valentina STRATAN, doctor în biologie

Instituția Medico-Sanitară Publică Institutul Oncologic din Republica Moldova

*Academia Medicală de Instruire Postuniversitară Continuă „I. M. Secenov” or. Moscova

Rezumat

Unul dintre indicatorii agresivității procesului tumoral este proliferarea celulară, care poate fi estimată cu ajutorul indicelui mitotic și procentajul celulelor Ki-67 pozitive.

Expresia antigenului Ki-67 a fost estimată prin metoda imunohistochimică în endometru la 50 de paciente investigate, care suferă de CE. În cadrul analizei datelor obținute s-a constatat, că valoarea minimă a indicelui Ki-67 la pacientele cu CE a constituit 14%, maximă – 75%, iar medie – $43,6 \pm 12,4\%$. La pacientele cu CE din grupul cu risc crescut, nivelul de expresie a oscilat între 15 și 87%, valoarea medie constituind $52,4 \pm 18,2\%$.

Cuvinte-cheie: cancer endometrial, factorii de prognostic, expresia Ki-67, marker de proliferare.

Summary. Determination of the marker of proliferative activity ki-67 patients with cancer endometry.

One of the indicators of the aggressiveness of the tumor process is cell proliferation, which can be assessed using the mitotic index and the percentage of Ki-67-positive nuclei. The expression of Ki-67 antigen was determined by the immunohistochemical method in the endometrium in 50 examined patients with endometrial cancer (EC). According to the literature, a high percentage of Ki-67 is associated with a poor prognosis of the disease, according to various authors, the “threshold” Ki-67, which determines the prognosis of the course of ER, varies between 33-51%. In our study, the average Ki-67 value for patients with OE was 49%, which generally agrees with the data of several researchers. The revealed associations of Ki-67 expression with tumor differentiation, invasion into the myometrium, spread to the cervical canal and stage of the disease, similar in both subgroups, but significant mainly in the group with metabolic syndrome, seem to indicate more informative proliferation index specifically for this group, which requires additional research.

Key-words: endometrial cancer, factors of prognosis, expression of Ki-67, marker of proliferation.

Резюме. Определение маркерапролиферативной активности ki-67 у пациенток с раком эндометрия.

Одним из показателей агрессивности опухолевого процесса является клеточная пролиферация, которая может быть оценена с помощью митотического индекса и процентного содержания Ki-67-позитивных ядер. Экспрессия антигена Ki-67 определялась иммуногистохимическим методом в эндометрии у 50 обследованных пациенток с раком эндометрия (РЭ). Согласно данным литературы, высокое процентное содержание Ki-67 ассоциируется с плохим прогнозом заболевания, по данным разных авторов, «порог» Ki-67, определяющий прогноз течения РЭ, варьирует в пределах 33-51%. В нашем исследовании среднее значение Ki-67 для больных РЭ составило 49%, что в целом соответствует данным ряда исследователей. Выявленные ассоциации экспрессии Ki-67 с дифференцировкой опухоли, инвазией в миометрий, распространением на цервикальный канал и стадией заболевания, аналогичные в обеих подгруппах, но значимые в основном в группе с метаболическим синдромом, свидетельствуют, по-видимому, о большей информативности индекса пролиферации именно для этой группы, что требует дополнительных исследований.

Ключевые слова: рак эндометрия, факторы прогноза, экспрессия Ki-67, маркер пролиферации.

Introducere.

Unul dintre indicatorii agresivității procesului tumoral este proliferarea celulară, care poate fi estimată cu ajutorul indicelui mitotic și procentajul celulelor Ki-67 pozitive.

Materiale și metode.

Expresia antigenului Ki-67 a fost estimată prin metoda imunohistochimică în endometru la 50 de pa-

ciente investigate, care suferă de CE. În cadrul analizei datelor obținute s-a constatat, că valoarea minimă a indicelui Ki-67 la pacientele cu CE a constituit 14%, maximă – 75%, iar medie – $43,6 \pm 12,4\%$. La pacientele cu CE din grupul cu risc crescut, nivelul de expresie a oscilat între 15 și 87%, valoarea medie constituind $52,4 \pm 18,2\%$.

La pacientele cu CE din grupul cu risc scăzut indicatorii expresiei Ki-67 s-au deosebit în mod semni-

ficativ de indicatorii pacienților cu CE din grupul cu risc crescut, valoarea medie constituind $32,1 \pm 8,7\%$ ($d=0,04$), în grupul CE cu risc intermediar indicele Ki-67 a oscilat între 11 și 48%, valoarea medie constituind $27,4 \pm 6,8\%$. La paciențele cu cancer non-endometrial ($d=9$), indicele Ki-67 a oscilat între 16 și 77%, valoarea medie a indicelui constituind $37,9 \pm 7,65\%$.

Totodată, valorile maxime ale indicelui au fost depistate la paciențele cu cancer endometrial sero-papilar, iar la paciențele cu adenocarcinom cu celule clare și carcinom mixt, indicatorii au fost identici. Pentru interpretarea datelor obținute a fost calculată, de asemenea, mediana Ki-67: în grupul pacienților cu CE mediana a constituit 49%, iar la paciențele cu cancer non-endometrial – 21%.

Pentru determinarea raportului dintre nivelul expresiei Ki-67 și particularitățile clinice și morfologice la paciențele cu CE, a fost efectuată o analiză de corelație dintre expresia Ki-67 și particularitățile funcțiilor

ilor menstruale și reproductive, gradul de diferențiere a tumorilor, profunzimea invaziei în miometru, gradul de răspândire a procesului tumoral și faza bolii. Rezultatele sunt prezentate în *tabelul 1*.

Rezultate și discuții.

La paciențele cu CE din grupul cu risc crescut, raporturile obținute confirmă dependența inversă dintre indicele expresiei Ki-67 și durata dereglărilor menstruale, debutul menopauzei și numărul de sarcini. A fost stabilit raportul de corelație direct dintre expresia Ki-67 și vârsta pacienților. La paciențele cu CE cu risc intermediar a fost depistat raportul de corelație negativ dintre indicele Ki-67 și numărul de sarcini, precum și raporturi pozitive dintre nivelul expresiei Ki-67, vârsta și durata ciclului menstrual. În grupul pacienților cu CE cu risc scăzut s-a stabilit un număr maxim de corelații: dependența pozitivă dintre indicele Ki-67 și vârsta, debutul menopauzei și durata

Tabelul 1.

Raporturi și coeficienți de corelație Spearman (r) dintre expresia Ki-67 și particularitățile funcțiilor menstruale și reproductive la paciențele cu CE.

Grupuri	Raporturi	Coeficient de corelație Spearman
Grupul cu risc crescut	Ki-67 – vârsta	0,201283
	Ki-67 – durata ciclului menstrual	-0,2764334
	Ki-67 – debutul menopauzei	-0,2320314
	Ki-67 – numărul de sarcini	-0,2345334
Grupul cu risc crescut și intermediar	Ki-67 – durata ciclului menstrual	0,454360
	Ki-67 – vârsta	0,251087
	Ki-67 – numărul de sarcini	-0,267416
Grupul cu risc intermediar	Ki-67 – vârsta	0,210340
	Ki-67 – durata ciclului menstrual	0,436219
	Ki-67 – numărul de sarcini	-0,457131
	PR – debutul menopauzei	0,234015
Grupul cu risc scăzut	Ki-67 – vârsta	0,333461
	Ki-67 – durata ciclului menstrual	-0,289684
	Ki-67 – numărul de sarcini	-0,457131
	Ki-67 – debutul menopauzei	0,234015

ciclului menstrual. Dependența inversă a fost stabilită cu numărul de sarcini.

Astfel, în cadrul analizei datelor obținute în toate subcategoriile, s-a stabilit, că indicele expresiei Ki-67 depinde de vârsta pacientei. Totodată, la pacientele cu vârsta de peste 50 de ani, valoarea indicelui Ki-67 a fost mai mică decât mediana în 87% din cazuri, iar la pacientele cu vârsta de până la 50 de ani valoarea indicelui a fost mai mică decât mediana în 45% din cazuri. Această dependență a fost tipică atât pentru pacientele cu CE din grupul cu risc crescut, cât și pentru pacientele cu CE din grupul cu risc scăzut. De asemenea, în subcategoriile pacientelor cu CE cu risc crescut și intermediar a fost depistată dependență de durata ciclului menstrual și debutul menopauzei. Totodată, valorile maxime ale indicelui au fost determinate la pacientele care se aflau în perioada de perimenopauză și menopauză cu durata de până la 5 ani. Astfel, indicele Ki-67 la această categorie de paciente a fost mai mare decât mediana în 89% din cazuri, iar la pacientele în vârstă reproductivă indicele de proliferare a fost, de regulă, mai mic decât mediana.

A fost efectuată analiza nivelului Ki-67 în tumori, în corelație cu gradul de diferențiere a tumorilor, profunzimea invaziei în miometru, gradul de răspândire a procesului tumoral și faza bolii la pacientele cu CE.

S-a stabilit, că gradul de diferențiere a tumorilor în toate grupurile pacientelor, care suferă de cancer endometrial, este corelată cu nivelul indicelui de proliferare (rezultatele sunt prezentate în *tabelul 2*).

Tabelul 2

Dependența expresiei indicelui Ki-67 de diferențierea tumorilor la pacientele cu CE din grupul cu risc crescut.

Gradul de diferențiere a tumorilor	Nivelul Ki-67<49%		Nivelul Ki-67>49%		P
	p	%	p	%	
Scăzut (p=24)	6	25	18	75	0,049

Notă: d – nivelul valorii diferențelor conform criteriului unilateral Fisher.

La pacientele cu gradul înalt de diferențiere a adenocarcinomului endometrului, indicele Ki-67 a fost predominant mai mic decât valoarea medie a indicelui de proliferare. La 75% din paciente cu gradul scăzut de diferențiere, indicele de proliferare a fost mai mare decât mediana.

La pacientele cu CE cu risc intermediar și scăzut, indicii Ki-67 au avut aceeași tendință (*tabelul 3*).

Tabelul 3.

Dependența expresiei indicelui Ki-67 de diferențierea tumorilor la pacientele cu CE din grupul cu risc crescut.

Gradul de diferențiere	Nivelul Ki-67<49%		Nivelul Ki-67>49%		P
	p	%	p	%	
Înalt (p=10)	8	75	2	25	0,14
Moderat (p=10)	5	50	5	50<	0,11

Notă: d – nivelul valorii diferențelor conform criteriului unilateral Fisher.

Totodată, este de remarcat, că rezultatele Ki-67 în acest grupul sunt mai mari decât la pacientele cu CE din grupul cu risc intermediar (*tabelul 4*).

Tabelul 4.

Dependența expresiei indicelui Ki-67 de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu CE din grupul cu risc crescut

Profunzimea invaziei	Nivelul Ki-67<49%		Nivelul Ki-67>49%		P
	p	%	p	%	
Până la 0,5 cm (p=24)	18	73	6	27	0,12
Mai mult de 0,5 cm (p=15)	7	47	6	53	

Notă: d – nivelul valorii diferențelor conform criteriului unilateral Fisher.

În cadrul analizei datelor obținute s-a stabilit, că în cazul CE* cu profunzimea invaziei în miometru de până la 0,5 cm, în 73% din cazuri indicii de proliferare au fost mai mici decât mediana, iar în cazurile profunzimii invaziei în miometru de mai mult de 0,5 cm, indicele Ki-67 a fost deseori mai mare decât mediana (53%). Însă, nu au fost obținute diferențe semnificative (d = 0,12).

Aceleași rezultate au fost obținute în cadrul cercetării dependenței nivelului de expresie a Ki-67 de profunzimea invaziei în miometru la pacientele cu CE din grupul cu risc intermediar.

Rezultatele analizei corelației dintre nivelul Ki-67 și gradul răspândirii procesului tumoral pe canalul cervical sunt prezentate în *tabelul 6*.

În cadrul analizei datelor obținute s-a stabilit, că nivelul markerului de proliferare la pacientele cu CE cu risc crescut, în cazul răspândirii pe canalul cervical, în 56% din cazuri a fost mai mare decât nivelul mediane*, iar în absența leziunilor pe canalul cervi-

cal, în 86% din cazuri, indicele de proliferare a fost mai mic decât nivelul mediane.

Tabelul 5.

Dependența expresiei indicelui Ki-67 de profunzimea invaziei în miometru la paciențele cu CE din grupul cu risc scăzut

Profunzimea invaziei	Nivelul Ki-67<49%		Nivelul Ki-67>49%		P
	p	%	p	%	
Până la 0,5* cm (p=16)	10	66	6	34	0,19
Mai mult de 0,5 cm (p=10)	5	50	5	50	

Notă: d – nivelul valorii diferențelor conform criteriului unilateral Fisher.

Tabelul 6.

Dependența expresiei indicelui Ki-67 de gradul de răspândire a procesului tumoral pe canalul cervical la paciențele cu CE din grupul cu risc crescut

Extinderea pe canalul cervical	Nivelul Ki-67<49%		Nivelul Ki-67>49%		P
	p	%	p	%	
Prezentă (p=16)	7	44	9	56	0,08
Lipsește (p=14)	12	86	2	14	

Notă: d – nivelul valorii diferențelor conform criteriului unilateral Fisher.

În grupul paciențelor cu CE cu risc scăzut s-a constatat aceeași tendință (rezultatele sunt prezentate în tabelul 7).

Tabelul 7.

Dependența expresiei indicelui Ki-67 de gradul de răspândire a procesului tumoral pe canalul cervical la paciențele cu CE din grupul cu risc scăzut.

Extinderea pe canalul cervical	Nivelul Ki-67<49%		Nivelul Ki-67>49%		P
	p	%	p	%	
Prezentă (p=13)	5	38	8	62	0,1
Lipsește (p=14)	10	67	4	33	

Notă: d – nivelul valorii diferențelor conform criteriului unilateral Fisher.

În cadrul cercetării dependenței expresiei indicelui de proliferare celulară s-a constatat, că în toate subcategoriile paciențelor cu CE, valoarea indicelui crește în funcție de răspândirea procesului tumoral pe canalul cervical. Totodată, în grupul paciențelor cu CE cu risc scăzut, indicele total Ki-67 a fost mai mic decât la paciențele cu CE din grupul cu risc cres-

cut, deși, nu au fost obținute diferențe semnificative ($d > 0,05$).

A fost determinată dependența indicelui expresiei Ki-67 de faza bolii (rezultatele sunt prezentate în tabelul 9).

S-a constatat, că la grupul de paciențe cu CE cu risc crescut în prima fază a bolii, în 65% din cazuri, indicele de proliferare a fost sub valoarea medie. În cea de-a doua fază a CE indicele de proliferare a fost predominant mai mare de 49%.

Tabelul 8.

Dependența expresiei indicelui Ki-67 de stadia la paciențele cu CE din grupul cu risc crescut.

Stadia CE	Nivelul Ki-67<49%		Nivelul Ki-67>49%		P
	p	%	p	%	
I (p=22)	18	65	4	35	0,049
II (p=18)	8	47	10	53	

Notă: d – nivelul valorii diferențelor conform criteriului unilateral Fisher.

În grupul paciențelor cu CE cu risc scăzut au fost obținute rezultate similare (tabelul 9).

Tabelul 9.

Dependența expresiei indicelui Ki-67 de faza bolii la paciențele cu CE din grupul cu risc scăzut

Stadia bolii	Nivelul Ki-67<49%		Nivelul Ki-67>49%		P
	p	%	p	%	
I (p=18)	9	50	9	50	0,14
II (p=13)	6	46	7	54	

Notă: d – nivelul valorii diferențelor conform criteriului unilateral Fisher.

Astfel, în urma analizei datelor obținute s-a constatat, că la paciențele cu CE din grupul cu risc crescut, valoarea indicelui de proliferare a fost semnificativ mai mică în prima stadiu a bolii, în comparație cu cea de-a doua stadiu, iar la 65% din paciențe în prima stadiu a bolii, indicele a fost sub valoarea medie ($d=0,049$). La paciențele cu CE din grupul cu risc scăzut nu au fost obținute diferențe semnificative, deși, în acest grup persistă tendință similară (creșterea expresiei Ki-67 în funcție de evoluția bolii).

Astfel, nivelul expresiei markerului de proliferare Ki-67 la paciențele cu CE a avut aceeași tendință: în toate subcategoriile a fost constatată dependență semnificativă de vârsta paciențelor, caracterul și du-

rata ciclului menstrual, de unii parametri ai parităţii ginecologice şi debutul menopauzei. De asemenea, s-a stabilit, că valoarea expresiei Ki-67 se schimbă în funcţie de diferenţiere a tumorii, gradul de invazie în miometru, gradul de răspândire pe canalul cervical şi faza bolii. Totodată, s-a constatat, că valorile markerului de proliferare în totalitate sunt mai mari la pacienlele cu CE din grupul cu risc crescut.

Potrivit surselor, procentajul înalt al Ki-67 se asociază cu prognosticul negativ al bolii. Mai mulţi autori consideră, că „pragul” Ki-67, care determină prognosticul evoluţiei CE, variază între 33-51% [3, 5, 7]. În cercetarea noastră valoarea medie a Ki-67 la pacienlele cu CE a constituit 49%, ce corespunde în totalitate datelor unor cercetători [1, 2, 4, 6].

Concluzii.

Asocierile depistate ale expresiei Ki-67 cu diferenţierea tumorii, invazie în miometru, răspândire pe canalul cervical şi stadia CE, care sunt similare în toate grupurile, însă semnificative, în principal, în grupul cu risc crescut, atestă aparent caracterul informativ mai pronunţat al indicelui de proliferare anume pentru acest grup, ce necesită cercetări suplimentare.

Bibliografie.

1. Altman D.G., McShane L.M., Sauerbrei W. et al. *Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies (REMARK): explanation and elaboration*. PLoS Med 2012; 9: e1001216.
2. Economou M., Schoni L., Hammer C. et al. *Proper paraffin slide storage is crucial for translational research projects involving immunohistochemistry stains*. Clin Transl Med. 2014; 3: 4.
3. Gassel A.M., Backe J., Krebs S., Schon S. et al. *Endometrial carcinoma: immunohistochemically detected proliferation index is a prognosticator of long-term outcome*. //J. Clin. Pathol. -2016. - Vol. 51. - P. 25-29.
4. Morsi H.M., Leers M.P., Jager W. et al. *The patterns of expression of an apoptosis-related CK18 neoepitope, the bcl-2 proto-oncogene, and the Ki67 proliferation marker in normal, hyperplastic, and malignant endometrium*. Int. J. Gynecol. Pathol. 2000; 19: 118–126.
5. Scholzen T., Gerdes J. *The Ki-67 protein: from the known and the unknown*. J. Cell. Physiol. 2000; 182: 311–322
6. Salvesen H.B. *Prognostic significance of angiogenesis and Ki-67, p53, and p21 expression: a population-based endometrial carcinoma study*. / Oxford Journal, 2018
7. Wu Y.X., Wang J.H., Wang H., Yang X.Y. *Study on expression of Ki-67, early apoptotic protein M30 in endometrial carcinoma and their correlation with prognosis* //Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. - 2016. - Vol. 32.-P. 311-318.