

## СУДАЛГАА, ШИНЖИЛГЭЭ

### БИОАНАГААХ

#### Өндгөвчийн хортой хавдрын иммуногистологи-дархангистохимийн судалгаа

Одонзул Ц.<sup>1</sup>, Авирмэд Д.<sup>2</sup>, Эрдэнэцогт Д.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>"Ач" Анагаах ухааны их сургууль, <sup>2</sup>Хавдар судлалын үндэсний төв,

<sup>3</sup>Анагаахын шинжлэх ухааны үндэсний их сургууль

e-mail: Odonzul@ach.edu.mn

#### Abstract

#### Immunohistology and immunohistochemistry study of ovarian cancer

Odonzul Ts.<sup>1</sup>, Avirmed D.<sup>2</sup>, Erdenetsogt D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>"Ach" Medical University, <sup>2</sup>National Cancer Center,

<sup>3</sup>Mongolian National University of Medical Sciences

#### Introduction

The occurrence of ovarian cancer had a trend of younger in recent years. Due to no obvious clinical symptoms in the early period, most ovarian cancer was found at later period. The main screening methods are transvaginal ultrasonography, serum CA-125 and so on. About 60-70% of ovarian cancer patients are already in phase III-IV or with abdominal metastasis when diagnosed. Therefore, the early diagnosis of ovarian cancer is still in the research, and there is no definite markers, which can be used in clinical.

#### Goal

To determine the immunohistology of ovarian tumor and perform immunohistochemical analysis

#### Materials and Methods

A total of epithelial ovarian cancer paraffin-embedded tissue blocks 30 collected. The hematoxylin and eosin stained histopathology slides of each of the cases were reviewed to confirm the original diagnosis, and to assess the histological grade of the neoplasm. Our study was performed on 30 ovarian epithelial cancer tissues obtained at the time of first surgery. The staining procedure for HER2 overexpression was performed using a monoclonal antibody.

#### Results

Analysis histological subtypes of ovarian malignant cancer, 90% of ovarian epithelial ovarian cancer, 6.7% of sex cord-stromal and 3.3% of germ cell tumor. (G1) well differentiated, (G2) moderately differentiated, (G3) poorly differentiated were 23.3%, 40.0% and 36.7% respectively. There is statistically significant direct, medium correlation immunohistochemical examination, the HER2 protein over expression ( $r=0.38$ ,  $p=0.022$ ), and HER2 protein 3+ was higher in 66.7 percent were in poorly differentiated.

#### Conclusion:

In our study ovarian cancer based on the morphological architecture of tissue stained by H&E histological subtypes of epithelial ovarian cancer (90%). By immunohistochemical 93.3% positive and 6.7% negative ovarian cancer in determine HER2 expression

Keywords: Ovarian cancer, immunohistochemistry, HER2, IHC, ovary

Pp. 8-12 Tables 4, References 15

### Үндэслэл

Өндгөвчний хортой хавдраар бүх насны эмэгтэйчүүд өвчилдөг. Сүүлийн жилүүдэд залуу насны эмэгтэйчүүдийн өвчлөл нэмэгдэж байна [1, 2]. Өндгөвчийн хортой хавдрын эрт үед эмнэлзүйн шинж тэмдэг илэрдэггүй учир өндгөвчийн хортой хавдартай өвчтөнүүдийн 60-70 хувь нь III-IV шат буюу үсэрхийлсэн үедээ хожуу шатандаа оношлогддог [3]. Орчин үед өндгөвчийн хортой хавдрыг эрт илрүүлэхэд хэт авиан шинжилгээ болон ийлдсэнд CA-125 үзэх, маркерийн шинжилгээний аргуудыг өргөн ашиглаж байгаа боловч төдийлөн үр дүнд хүрэхгүй байна [4]. `Tumor/blood</keyword><keyword>CA-125 Antigen/blood</keyword><keyword>Female</keyword><keyword>Humans</keyword><keyword>Mass Screening/*methods/statistics & numerical data/trends</keyword><keyword>Metabolomics</keyword><keyword>Oligonucleotide Array Sequence Analysis</keyword><keyword>Ovarian Neoplasms/blood/*diagnosis/diagnostic imaging/prevention & control</keyword><keyword>Proteomics</keyword><keyword>Ultrasonography</keyword></keywords><dates><year>2004</year></dates><isbn>0065-7778` (Print. Иймд өндгөвчийн хавдрыг эрт найвдартай оношлох арга эмнэлзүйн практикт зайлшгүй шаардлагатай байна. Хөхний хорт хавдрын 77%, умайн хүзүүний хорт хавдрын 83% -ийг эрт оношлож байхад өндгөвчний хавдрын дөнгөж 23% хувь нь эрт оношлогддог байна [5]. Энэ хавдрын тавилан эндэгдлийн зонхилох шалтгаанд тодорхой генийн мутаци нөлөөлж байгаа эсэхийг шалгах шаардлагатай байна [6].

Сүүлийн жилүүдэд өндгөвчний хорт хавдрыг эрт илрүүлэх хавдрын маркеруудыг дархангистохимийн аргаар тодорхойлох арга хавдар судлалын практикт өргөн хэрэглэгдэж байна. Тухайлбал, өндгөвчийн хортой хавдрын үед хавдрын эдэд илрэх HER2 биомаркерыг дархангистохимийн аргаар ялган оношилж, мэдрэг химийн эмийг сонгох боломж бий болж байгаа нь өндгөвчийн хортой хавдрыг эрт илрүүлэх, эмчилгээний үр дүнг нэмэгдүүлэхэд чухал ач холбогдол өгч байна [7]. Гэтэл манай оронд энэ чиглэлээр хийгдсэн судалгааны ажил хомс байгаа нь энэхүү судалгааны ажлыг хийх үндэслэл болсон юм.

### Зорилго

Манай улсад тохиолдож буй өндгөвчийн хортой хавдрын эмгэг бүтэц зүйн хэлбэрүүдэд HER2-ын илрэлийг тодорхойлох

### Зорилт:

1. Өндгөвчийн хортой хавдрын эдийн бүтэц зүйн гистологийн хэлбэр, хавдрын үе шат, хавдрын эсийн ялгаралыг суурь будгийн аргаар тодорхойлох
2. Өндгөвчийн хортой хавдрын эдэд HER2-уургийн илрэлийг дархангистохимийн аргаар тогтоох

### Материал, арга зүй

**Судалгааны материал:** ХСҮТ-д 2014-2016 оны хооронд өндгөвчийн хортой хавдар оношлогдож, мэс засалд орсон өвчтөний зохих журмын дагуу хадгалагдаж байсан 218 эдийн материалаас санамсаргүй түүвэрлэлтийн аргаар 30 тохиолдлыг сонгон судалсан. Тус судалгааг “Ач” АУИС-ийн дэргэдэх Судалгааны Ёс зүйн хорооны 2017 оны 5 дугаар сарын 19-ний хурлын судалгааны ажил хийх ёс зүйн зөвшөөрөл (протокол №2017/08) дор хийж гүйцэтгэсэн. Өвчтөний хувийн мэдээллийг нууцлах үүднээс тусгай кодоор нэр өгч, анагаах ухааны ёс зүйн хэм хэмжээний дагуу судалгааг явуулсан.

**Эдийн гистологийн суурь будгийн арга:** KEDEE хагас автомат микротомоор парафин эдээс 2 мкм зүссэн бэлдэцээ шууд будах аргаар гематоксилин-эозинээр (H&E) будсан.

**Дархангистохимийн шинжилгээний арга (ИНС):** Парафин цутгамагийг 2-4 μм-ийн зузаантай микротомоор зүсэж 40°C-ийн усан баннд тавиур шилэн дээр нааж, тасалгааны хэмд шөнийн турш хатаасан. ИНС-г уламжлалт богино долгионы аргыг ашиглан **heat-induced epitope retrieval (HIER)** явуулах замаар эдийн эсрэгтөрөгчийг сэргээх зарчмаар хийв. Эдийн иммуноантиген урвалыг Dako, Denmark фирмийн эсрэгбиеийн бэлдмэлийн (mouse monoclon antibody HER2) цомгийг ашиглалаа.

### Үр дүн

**Гистологийн суурь будгийн аргаар өндгөвчийн хортой хавдрын эсийн хэлбэр, онцлогийг тодорхойлсон дүн:** Өндгөвчийн хортой хавдраас бэлтгэсэн эдийн лааны тосон зүсмэгийг (парафин) стандартын дагуу бэлтгэн, гистологийн суурь будгийн аргаар (H&E) будаж, ДЭМБ-ын ангилалын дагуу ангилж үзэхэд: өндгөвчийн хучуур эдийн хавдар 90 хувь (27), бэлгийн татлагын-холбогч эдийн хавдар 6.7 хувь (2), үр хөврөлийн эсийн гаралтай хавдар 3.3 хувь (1) тус тус тодорхойлогдлоо (Хүснэгт 1).

**Table 1. Total cases included in the study histological types**

Histological type	Number of cases, n (%)
Epithelial ovarian cancer:	
Mucinous adenocarcinoma	5(16.6)
Serous adenocarcinoma	3(10.0)
Clear cell carcinoma, brenner and mixed tumor	3(10.0)
Undifferentiated carcinoma	16(53.4)
Sex cord-stromal tumor:	
Granulosa cell tumor	2(6.7)
Germ cell tumor:	
Immature teratoma	1(3.3)
<b>Total</b>	<b>30 (100)</b>

Бид иммуногистохимээр ийнхүү ялган онош-  
лосны дараа өндгөвчийн хортой хавдрыг үе  
шатаар нь ангилгахад (FIGO ангилал) IA-IIc  
шат 30.1 хувь (10), 68.8 (20) хувь нь хожуу  
буюу IIIA-IV үеийн хавдрууд байлаа. Хортой  
хавдар оношлогдсон хавдрын эдэд HER2  
маркерыг илрүүлэн судлахад хожуу шатанд  
HER2 тогтмол өндөр илэрсэн ч хавдрын эрт Ia-  
IIc шатанд HER2 уургийн дунд эерэг илрэл 20

хувь, хүчтэй эерэг илрэл 10 хувь илэрсэн байгаа  
нь тус уураг өндгөвчийн хортой хавдрын эрт үед  
үүсдэг болохыг илтгэж байна. Иймд өндгөвчийн  
хортой хавдрыг эрт илрүүлэхэд HER2 уургийн  
илрэл ач холбогдолтой болохыг харуулж байна.  
HER2 уургийн илрэл хавдрын эмнэлзүйн үе шат  
хоорондын хамаарал нь: статистикийн хувьд  
магадлал бүхий, шууд дунд зэргийн үзүүлэлттэй  
( $r=0.57$ ,  $p=0.001$ ) байлаа (Хүснэгт 2).

**Table 2. Relationship between International Federation of Gynecologists and Obstetrics staging and human epidermal receptor 2 expression**

FIGO Stage	HER2 expression (%)			
	-	1+	2+	3+
Ia	3.3		6.7	6.7
Ib			3.3	
IIa			6.7	
IIc			3.3	3.3
IIIa		6.7	10.0	
IIIb		6.7	3.3	3.3
IIIc			3.3	13.3
IV	3.3	10.0	3.3	3.3
<b>Total</b>	<b>6.7</b>	<b>23.3</b>	<b>40.0</b>	<b>30.0</b>

**FIGO:** International Federation of Gynecologists and Obstetrics, **HER2:** human epidermal receptor

Мөн бид хавдрын эсийн ялгаралыг HER2  
уургийн илрэлтэй холбон судалсан юм. Судал-  
гаанаас харахад 76.7 хувь (23) сул болон  
дунд ялгаралтай хавдар, 23.3 хувь (7) нь тод

ялгаралтай хавдар эзэлж байв. HER2 уургийн  
илрэлийг хавдрын эсийн ялгаралтай хир  
хамааралтай байгааг Хүснэгт 3-т үзүүлээ.

**Table 3. Relationship between grading and human epidermal receptor 2 expression**

Histological grade	HER2 expression (%)			
	-	1+	2+	3+
Well differentiated (G1)		28.6	28.6	28.6
Moderate differentiated(G2)		0	50	33.3
Poorly differentiated (G3)		0	0	45.5

**HER2:** human epidermal receptor

Хүснэгт 3-т тод ялгаралтай хавдруудад HER2 уураг 1+, 2+, 3+ илэрснээс гадна сөрөг будагдалт өгсөн нь ажиглагдаж байв. Хавдрын эсийн сул болон дунд ялгаралтай хавдарт давамгайлсан HER2 уураг эерэг илэрч байгаагаас харахад хортой хавдрын ялган оношлогоонд дархангистохимийн арга ач холбогдолтой байж болох юм. Өндгөвчийн хортой хавдрын эсийн

ялгарал, HER2 уургийн илрэл хоорондын хамаарал статистик магадлал бүхий, шууд дунд хамааралтай ( $r=0.38$ ,  $p=0.002$ ) байлаа.

Бид өндгөвчийн хортой хавдрын гистологийн эмгэг бүтэц зүйн хэлбэрүүдийг, HER2 уургийн илрэлтэй холбон судалж, үр дүнг Хүснэгт 4-т харууллаа.

**Table 4. Immunohistochemical the HER2 protein is expression ovarian paraffin-embedded tissue**

Histological type	HER2 expression, %				Total
	-	1+	2+	3+	
Epithelial ovarian cancer	-	1+	2+	3+	Total
Mucinous adenocarcinoma		3.3	6.7	6.6	16.7
Serous adenocarcinoma		3.3		6.6	10.0
CCC, brenner tumor, mixed tumor	3.35			6.6	10.0
Undifferentiated carcinoma	3.35	16.7	20.0	13.3	53.4
Sex cord-stromal tumor					
Granulosa cell tumor		3.3	3.3		6.6
Germ cell tumor					
Immature teratoma			3.3		3.3
Total	6.7	26.7	33.3	33.3	100

Хүснэгт 4-өөс харахад өндгөвчийн хучуур эдийн хавдруудад сул эерэг 23.3 хувь, дунд эерэг 26.7 хувь, хүчтэй эерэг 33.3 хувь, харин мөхлөгт эсийн хавдрын тохиолдолд сул ба дунд эерэг 6.6 хувь, хөгжил гүйцээгүй тератомд HER2 уураг дунд эерэг 3.3 хувь илэрлээ. Өндгөвчийн хучуур эдийн хавдруудаас ийлдэст аденокарцином болон ялгаралгүй карциномад илүү илэрсэн бөгөөд HER2 уураг нийт хавдрын 6.7 хувьд нь сөрөг, 93.3 хувьд нь эерэг илэрлээ. өндгөвчийн хортой хавдрын гистологийн эмгэг бүтэц зүйн хэлбэрүүдийг, HER2 уургийн илрэлтэй холдбон судлахад: бүлэг хооронд статистик магадлал бүхий ялгаа үгүй, шууд сул хамааралтай ( $r=0.221$ ,  $p=0.228$ ) байлаа.

#### Хэлцэмж

Европ болон Азид өндгөвчийн хортой хавдрын гистологийн хэлбэрээс хучуур эдийн гаралтай хортой хавдар зонхилон тохиолдож байдаг ч, хучуур эдийн хавдрын доторх төрлүүд нь ялгаатай байна (2017) [8-11]. Судлаач Valerie McGuire, Christine A (2002) нар Испани, Америк-Африк, Хятад, Япон, Филиппин зэрэг орнуудад өндгөвчийн хортой хавдар оношлогдсон 38012 тохиолдлыг нэгтгэж боловсруулалт хийн, өндгөвчийн хортой хавдрын элбэг тохиолдох эсийн хэлбэрийг судалсан байна. Тэдний судалгааны үр дүнгээр өндгөвчийн хучуур эдийн гаралтай хавдар ийлдэст

аденокарцинома (serous adenocarcinoma) 18013, ялгаралгүй карцинома (undifferentiated carcinoma) 9487, салиархаг аденокарцинома (mucinous adenocarcinoma) 4413, эндометроид (endometroid) 4780, тунгалаг эст карцинома (CCC) 1319 илэрчээ. Бидний судалгаанд хавдрын 90 орчим хувийг өндгөвчийн хучуур эдийн хавдар (EOC) эзэлсэн нь тус судалгаатай дүйж байна [12]. Hogdall EV (2003) нарын эрдэмтэд өндгөвчийн хучуур эдийн хортой хавдартай (EOC) 185 өвчтөнөөс 95(52.5%) нь HER2 уураг сөрөг ба сул эерэг (-/1+) 39.2 хувь, дунд ба хүчтэй эерэг (2+/3+) 13.3 хувь илэрсэн байна. Бэлгийн татлагын-холбогч эдийн хавдрыг дархангистохимийн аргаар судлахад: Adult мөхлөгт эсийн сийвэнгийн будагдалт 43.5 хувь, мембраны будагдалт 13 хувь HER2 сул эерэг (1+), дунд эерэг (2+) хамгийн их илрэл тус судалгаанд ажиглагдсан байна [13]. Тус уургийн илрэлийг FIGO үе шаттай хамааруулж судлахад хавдрын I-III шатанд байгаа өвчтөнүүдэд HER2 дунд, хүчтэй (2+/3+) илэрсэн ялгаа ажиглагдсан байна ( $P=0.009$ ) [14]. Судлаач Ajania, Salamia (2016) нарын судалгаанд өндгөвчийн хортой хавдартай 90 парафин эдийн хавдрын эсийн ялгаралыг HER2 уургийн илрэлтэй хамааруулж судлахад: статистикийн хувьд ач холбогдол үгүй байсан ч сайн ялгаралтай 7, дунд ялгаралтай 12, муу ялгаралтайд 14 тохиолдолд HER2 эерэг илэрсэн байна. Бидний судалгаанд хавдрын

эсийн ялгаралыг HER2 уургийн илрэл хооронд статистикийн ач холбогдол бүхий утга гарсан ( $p=0.002$ ) [15].

#### Дүгнэлт:

1. Өндгөвчийн хортой хавдрын эдийн бүтэц зүйн хэлбэрүүдийг гистологийн суурь будгаар тодорхойлоход өндгөвчийн хучуур эдийн хавдар илүү (90%) тохиолдож байна.
2. Өндгөвчийн хортой хавдрын үед дархан-гистохимийн аргаар HER2 уургийн илрэлийг тодорхойлоход 93.3%-д нь эерэг, 6.7% нь сөрөг илэрч байна.
3. Өндгөвчийн хортой хавдрын хожуу шатанд 70%, эрт үе шатанд HER2 уураг 30% илэрч, сул болон дунд ялгаралтай хавдарт тодорхойлогдлоо.

#### Ном зүй

1. Lee, JY et al. Trends in gynecologic cancer mortality in East Asian regions. J Gynecol Oncol, 2014. 25(3):p.174-82.
2. Kim K et al. Current status of gynecological cancer in China. J Gynecol Oncol, 2009. 20(2): p.72-6.
3. Argento, M. Hoffman, and A.S. Gauchez, Ovarian cancer detection and treatment: current situation and future prospects. Anticancer Res, 2008. 28(5B): p.3135-8.
4. Bast, RC et al. Early detection of ovarian cancer: new technologies in pursuit of a disease that is neither common nor rare. Trans Am Clin Climatol Assoc, 2004. 115:p.233-47; discussion 247-8.
5. Taylor, DD et al. Patient-derived tumor-reactive antibodies as diagnostic markers for ovarian cancer. Gynecol Oncol, 2009. 115(1): p.112-120.
6. Permuth-Wey, J Epidemiology of ovarian cancer. Methods Mol Biol, 2009. 472: p. 413-37.
7. Ogiso, H et al. Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. Cell, 2002. 110(6): p.775-87.
8. Chung, H.Het al. Ovarian cancer incidence and survival in Korea: 1993-2002. Int J Gynecol Cancer, 2007. 17(3): p.595-600.
9. Wong, K.Het al. Incidence, mortality, and survival trends of ovarian cancer in Hong Kong, 1997 to 2006: a population-based study. Hong Kong Med J, 2012. 18(6): p. 466-74.
10. Sperling, C et al. Comorbidity is an independent prognostic factor for the survival of ovarian cancer: a Danish register-based cohort study from a clinical database. Gynecol Oncol, 2013. 129(1): p.97-102.
11. Gram, I.Tet al. Cigarette smoking and risk of histological subtypes of epithelial ovarian cancer in the EPIC cohort study. Int J Cancer, 2012. 130(9): p.2204-10.
12. McGuire, V., C.A. Jessor, and A.S. Whittemore, Survival among U.S. women with invasive epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol, 2002. 84(3): p.399-403.
13. Higgins, P.A et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR), HER2 and insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) status in ovarian adult granulosa cell tumours. Histopathology, 2014. 64(5): p.633-8.
14. Hogdall, E.V et al. Distribution of HER-2 overexpression in ovarian carcinoma tissue and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma: from the Danish MALOVA Ovarian Cancer Study. Cancer, 2003. 98(1): p 66-73.
15. Ajanja, M et al. The expression status of human epidermal growth factor receptor 2 in epithelial ovarian cancer in Ibadan, Nigeria. Southern African Journal of Gynaecological Oncology, 2016. 8(1): p.9-13.

*Танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:  
Анагаах ухааны доктор Х.Гэрэлээ*