

БИОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ КАК ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА РАКА ЯИЧНИКОВ III–IV СТАДИЙ

Проф. А. А. МИХАНОВСКИЙ, Ю. В. ХАРЧЕНКО, канд. мед. наук И. Н. КРУГОВАЯ,
доц. С. В. ДАНИЛЮК, Н. Н. ЩИТ, Н. В. ФЕДОРЕНКО, М. А. ТЕПЛОВА

ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины»,
Харьков, Украина

Изучены молекулярно-биологические маркеры при раке яичников, которые могут быть использованы как прогностические факторы. Иммуногистохимическим методом в ткани опухоли больных с заболеванием III–IV стадий исследованы p53, Bcl2, Ki67 и VEGF. Установлено, что экспрессия mtp53 зависит от степени распространенности злокачественного процесса. У большинства пациенток с рецидивом рака выявлена высокая экспрессия mtp53 при отсутствии экспрессии маркера апоптоза Bcl2. Есть зависимость между выраженной экспрессией VEGF и высоким уровнем опухолевого маркера CA125. Проведение неoadъювантной химиотерапии влияет на уровень экспрессии Ki67 и Bcl2 у больных раком яичников III–IV стадий.

Ключевые слова: рак яичников, молекулярно-биологические маркеры, комбинированное лечение.

В настоящее время в онкологии активно развивается новое направление — использование молекулярно-биологических маркеров (МБМ) для прогнозирования течения злокачественного процесса и выбора рациональной терапии. Определение МБМ может давать дополнительную информацию о биологическом поведении опухоли: о скорости ее роста, способности к инвазии и метастазированию, устойчивости к химиопрепаратам. Наибольшее внимание уделяется изучению МБМ, характеризующих апоптоз, пролиферацию клетки и ангиогенез, к которым относят p53, Bcl2, Ki67 и VEGF [1].

Экспрессия p53 играет важную роль в развитии агрессивности рака и может быть прогностическим фактором. Мутантная форма белка p53 (mtp53) — самое частое генетическое нарушение, при котором он уже не выполняет своих функций и деление клеток становится неуправляемым процессом [2]. Мутации гена p53 могут как инициировать канцерогенез или определять его начальные этапы, так и возникать в процессе роста опухоли, добавляя ей новые агрессивные свойства. Противоречивыми являются данные относительно уровня экспрессии Bcl2 белка и возможностей использования его в качестве прогностического фактора у больных со злокачественными опухолями яичника. Считается, что гиперэкспрессия Bcl2 приводит к неопластическому процессу [3]. В то же время показано, что низкий уровень этого белка коррелирует с плохим прогнозом при раке молочной железы и лейомиосаркоме матки, а его гиперэкспрессия — благоприятный прогностический признак при раке яичников (РЯ) [4].

Ki67 — ядерный протеин, маркер пролиферативной активности, экспрессия которого выявлена в 98% случаях при РЯ. По данным литературы,

высокая пролиферативная активность прогнозирует снижение выживаемости больных РЯ III–IV стадий [5, 6]. Именно фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) индуцирует образование новых сосудов в опухоли [7]. Экспрессия его в злокачественных опухолях яичников сочетается с усилением метастатической активности и уменьшением безрецидивного периода [8]. Однако до сих пор не определены наиболее значимые МБМ для прогнозирования течения болезни и выбора обоснованной терапии. Решение этих проблем позволит индивидуализировать лечение онкологических больных.

Цель исследования — определить уровень экспрессии МБМ в опухоли больных РЯ III–IV стадий для формирования групп повышенного риска развития рецидивов и метастазов.

МБМ опухоли яичников были изучены у 28 пациенток с заболеванием III–IV стадий ($T_{3c}N_xM_{0-1}$), которым проводилось комбинированное лечение в отделении онкогинекологии ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева АМН Украины» (Харьков).

В зависимости от программы лечения женщины были разделены на две группы. Первую группу составили 17 (60,7%) пациенток, лечение которых было начато с неoadъювантной химиотерапии (НХТ) с последующим хирургическим вмешательством. Из них 6 пациенткам ($T_{3c}N_xM_{0-1}$) на первом этапе лечения была выполнена диагностическая лапароскопия с последующим проведением внутрибрюшной НХТ. Вторая группа состояла из 11 (39,3%) больных, которым на первом этапе было выполнено оперативное вмешательство с дальнейшим проведением адъювантной химиотерапии.

Возраст больных варьировал в диапазоне от 27 до 73 лет. Средний возраст составил $50,90 \pm 13,95$ года. Медиана возраста — 54,1 года.

С III стадией РЯ ($T_{3c}N_xM_0$) были 23 (82,1%) больные в возрасте 50–60 лет, пациенток с IV стадией заболевания ($T_{3c}N_xM_1$) – 5 (17,9%) в возрастной категории 41–50 лет.

До начала лечения всем больным был установлен диагноз на основании данных бимануального обследования, УЗИ, КТ, цитологического исследования асцитической и плевральной жидкости, анализа крови на СА125.

В зависимости от гистологической структуры опухоли 16 (57,1%) пациенток имели серозную цистаденокарциному; по 3 (10,7%) – эндометриоидную и муцинозную карциному; 4 (14,3%) – недифференцированную опухоль, по 1 (3,6%) случаю приходилось на низкодифференцированную карциному и выраженный терапевтический патоморфоз.

Химиотерапия проводилась с использованием препаратов платины в 1–4 цикла каждые три недели по таким схемам:

СР – цисплатин 75 мг/м² – 1 день, эндоксан 750 мг/м² – 1 день;

САР – цисплатин 75 мг/м² – 1 день, эндоксан 600 мг/м² – 1 день, доксорубин 50 мг/м² – 2 дн;

ТР – паклитаксел 175 мг/м²; цисплатин 75 мг/м² – 1 день.

Внутрибрюшную НХТ проводили следующим образом: на 5-й и 6-й дни после операции – внутривенно капельно в течение одного часа вводили 50 мг цисплатина на 500 мл физраствора (суммарная доза составляет 100 мг); в это же время внутривенно капельно проводили гидратационную терапию физраствором объемом 1–1,2 л; назначали внутривенно дексаметазон 12 мг, милдронат 5 мл, стеатель 2 мл; на 11-й день после операции внутривенно капельно вводили 1 г эндоксана в 400 мл физиологического раствора.

Критерии прогноза биологической агрессивности новообразований изучались с помощью маркера пролиферативной активности Ki67 (Mib-1) и маркеров апоптоза Bcl2 (124) и p53 с использованием первичных моноклональных антител

(МКАТ), Rady-to-Use. Неоангиогенез опухолевой стромы оценивали, используя VEGF.

Нами было установлено, что в опухолях большинства больных РЯ III–IV стадии до начала лечения отсутствовала экспрессия VEGF и Bcl2 (62,5 и 81,8%) при высоком уровне пролиферативной активности Ki67 – 91% и высокой экспрессии mtp53 – 63,6% (рис. 1).

У больных РЯ была выявлена высокая экспрессия mtp53 в обеих группах (76,5 и 63,6% соответственно). Мутации гена-супрессора p53 нарастали со степенью распространенности процесса и составили 69,6% при III стадии РЯ и 80% – при IV. Достоверного влияния НХТ на уровень p53 нами не установлено, однако есть тенденция к его возрастанию после проведения лечения.

Экспрессия негистонного белка Ki67 была выявлена в 85,7% случаях. У больных с НХТ количество Ki67-отрицательных клеток наблюдалось в 2 раза чаще (17,6%) по сравнению с группой больных без нее – 9,1%, что свидетельствует о влиянии терапии на экспрессию Ki67 (рис. 2).

Было установлено, что НХТ влияет на продукцию Bcl2 белка. У пациентов, получавших такое лечение, отсутствие экспрессии Bcl2 встречалось на 30% реже по сравнению с группой больных без нее (52,9 и 81,8% соответственно).

Влияние НХТ на уровень экспрессии VEGF нами не установлено.

Сопоставление уровня экспрессии VEGF с опухолюссоциированным маркером СА125 показало, что у больных РЯ III–IV стадий со значением опухолевого маркера СА125 до 200 ед/мл VEGF был отрицательным в 100% случаев и нарастал по мере повышения уровня СА125 (рис. 3).

Взаимосвязи между уровнем СА125 и маркерами апоптоза и пролиферации (p53, Bcl2 и Ki67) не обнаружено.

Рецидив заболевания в течение первого года отмечался у 11 (39,3%) пациенток (таблица). Исследование уровня МБМ у больных с рецидивом РЯ с НХТ показало тенденцию к возрастанию

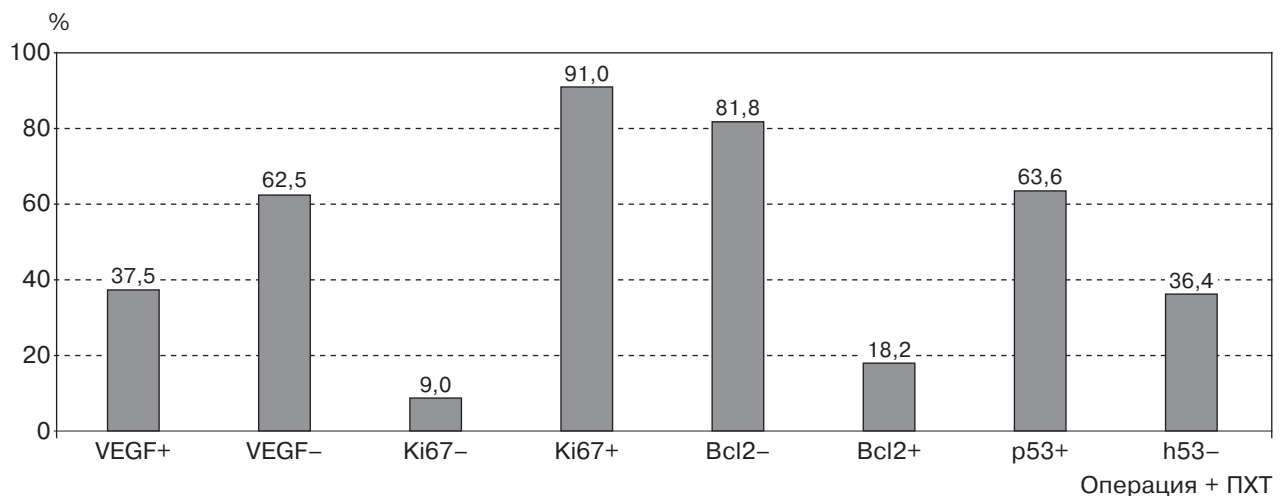


Рис. 1. Уровень экспрессии молекулярно-биологических маркеров в опухоли больных раком яичников

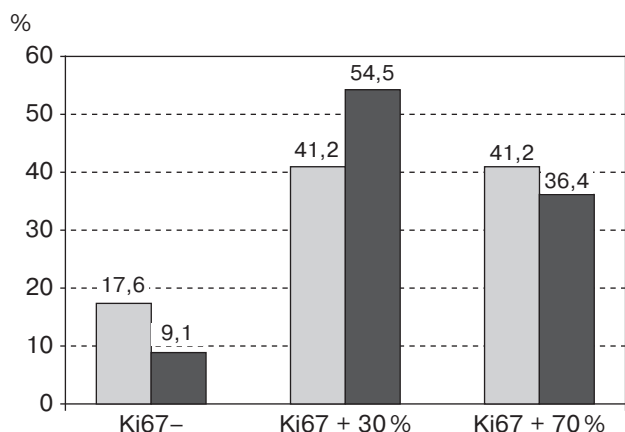


Рис. 2. Влияние неoadъювантной химиотерапии на пролиферативный индекс Ki67: □ – ХТ + операция; ■ – операция + ХТ

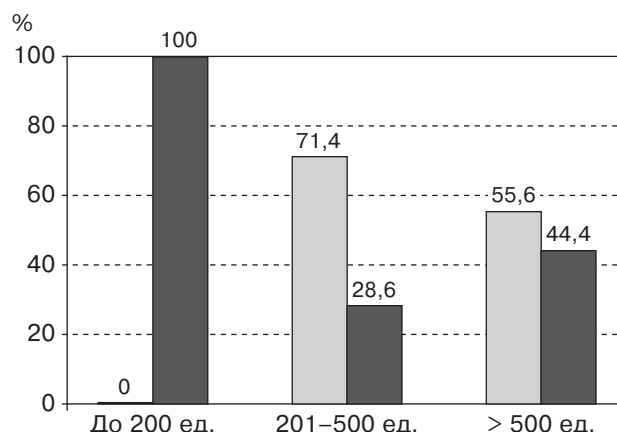


Рис. 3. Уровень экспрессии VEGF в зависимости от значения опухолевого маркера СА125: □ – VEGF+; ■ – VEGF-

Уровень экспрессии VEGF, Bcl2 и mtp53 у больных с рецидивом рака яичников

Вид лечения	VEGF+		VEGF-		Bcl2+		Bcl2-		p53+		p53-	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
ХТ + операция, n = 7	3	42,8	4	57,2	2	28,6	5	71,4	5	71,4	2	28,6
Операция + ХТ, n = 4	1	50,0	1	50,0	0	0	4,0	100,0	3	75,0	1	25,0

отрицательного значения VEGF, снижение экспрессии Bcl2 и наличие mtp53.

Исследование экспрессии МБМ в зависимости от возраста показало, что у пациенток до 50 лет наблюдается повышенная экспрессия VEGF, Bcl2 и mtp53 по сравнению с больными более старшего возраста (рис. 4).

Таким образом, можно сделать выводы о том, что экспрессия mtp53 зависит от степени распространенности злокачественного процесса: чем она выше, тем больше мутации. У большинства пациенток с рецидивом РЯ была обнаружена высокая

экспрессия mtp53 при отсутствии экспрессии маркера апоптоза Bcl2. Наиболее ярко эта особенность проявлялась в возрастной категории больных старше 50 лет. Проведение ХТ влияет на уровень экспрессии Ki67 и Bcl2 у больных РЯ III-IV стадий, что может быть использовано для оценки индивидуальной чувствительности опухоли к химиотерапии. Взаимосвязь между выраженной экспрессией VEGF и высоким уровнем опухолевого маркера СА125 свидетельствует о большой метастатической активности опухоли, что является негативным фактором прогноза РЯ III-IV стадий.

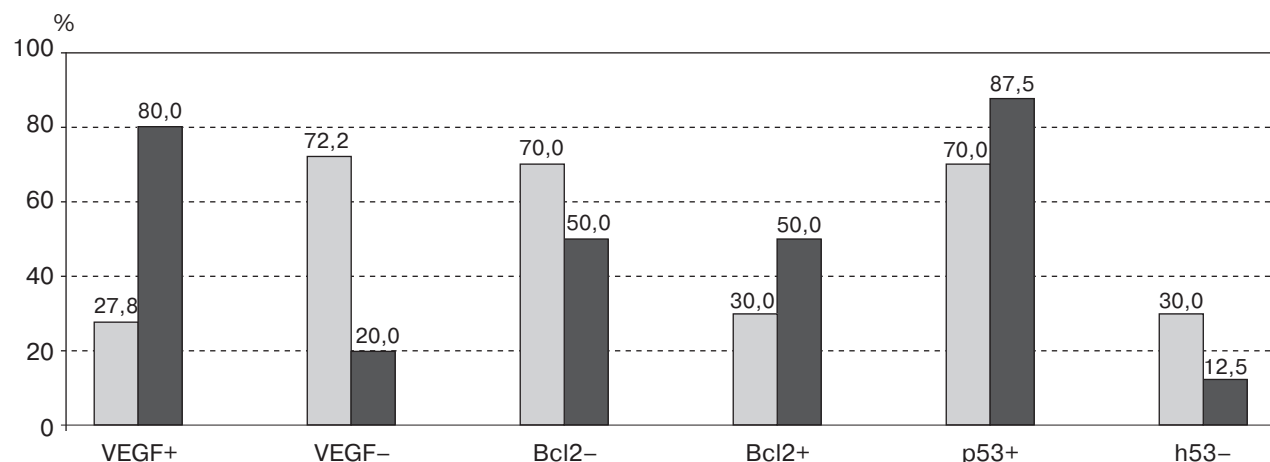


Рис. 4. Экспрессия молекулярно-биологических маркеров в зависимости от возраста: □ – до 50 лет; ■ – 51-70 лет

Список літератури

1. Перспективы использования молекулярных маркеров при раке яичников / А. А. Михановский, Ю. В. Харченко, О. В. Долгая [и др.] // Междунар. мед. журн.— 2015.— Т. 21, № 4 (84).— С. 61–65.
2. Theophylline and cisplatin synergize in down regulation of Bcl-2 induction of apoptosis in human granulose cells / Y. Yoshida, K. Hosokawa, A. Dantes [et al.] // Int. J. Oncol.— 2000.— Vol. 17, № 2.— P. 227–235.
3. Экспрессия p53, Bcl-2 и Вах при раке яичника III–IV стадии / Ю. В. Шишкин, Ж. Н. Дбар, Е. В. Степанова [и др.] // Онкология: прилож. к журн. «Экспериментальная онкология».— 2003.— Т. 5, № 2.— С. 135–136.
4. Петров С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека; под ред. С. В. Петрова, Н. Т. Райхлина / С. В. Петров.— Казань, 2013.— 624 с.
5. Levine A. J. The p53 tumor suppressor gene / A. J. Levine, J. Momandand, C. A. Finley // Nature.— 1991.— Vol. 351.— P. 453–456.
6. Новак О. Є. Фактор росту ендотелію судин у сироватці крові хворих на рак яєчника / О. Є. Новак, І. О. Лісняк, В. Ф. Чехун // Онкологія: прилож. к журн. «Експериментальна онкологія».— 2003.— Т. 5, № 4.— С. 288–291.
7. Garzetti G. Vascular Endothelial Growth Factor Expression as a Prognostic Index in Serous Ovarian Cystadenocarcinomas: Relationship with MIB 1 Immunostaining / G. Garzetti, A. Ciavattini, G. Lucarnini // Gynecol. Oncol.— 1999.— Vol. 73, № 3.— P. 396–401.
8. Clinical implications of expression of vascular endothelial growth factor in metastatic lesions cancers / J. Fujimoto, H. Sakaguchi, I. Aoki [et al.] // Br. J. Cancer.— 2001.— Vol. 85, № 3.— P. 313–316.

БИОМОЛЕКУЛЯРНІ МАРКЕРИ ЯК ЧИННИКИ ПРОГНОЗУ РАКУ ЯЄЧНИКІВ III–IV СТАДІЙ

О. А. МИХАНОВСЬКИЙ, Ю. В. ХАРЧЕНКО, І. М. КРУГОВА, С. В. ДАНИЛЮК,
Н. Н. ЩИТ, Н. В. ФЕДОРЕНКО, М. А. ТЕПЛОВА

Вивчено молекулярно-біологічні маркери при раку яєчників, які можна використовувати як прогностичні фактори. Імуногістохімічним методом у тканині пухлини хворих на рак яєчників III–IV стадій досліджено p53, Bcl2, Ki67 і VEGF. Установлено, що експресія mtp53 залежить від ступеня поширення злоякісного процесу. У більшості пацієток із рецидивом раку виявлено високу експресію mtp53 за відсутності експресії маркера апоптозу Bcl2. Є залежність між вираженою експресією VEGF і високим рівнем пухлинного маркера CA125. Проведення неoad'ювантної терапії впливає на рівень експресії Ki67 і Bcl2 у хворих на рак яєчників III–IV стадій.

Ключові слова: рак яєчників, молекулярно-біологічні маркери, комбіноване лікування.

BIOMOLECULAR MARKERS AS FACTORS OF PROGNOSIS OF STAGE 3–4 OVARIAN CANCER

O. A. MIKHANOVSKIY, Yu. V. KHARCHENKO, I. M. KRUGOVA,
S. V. DANYLIUK, N. N. SHCHYT, N. V. FEDORENKO, M. A. TEPLOVA

Molecular biological markers at ovarian cancer, which can be used as prognostic factors, were investigated. Immunohistochemistry was used to examine p53, Bcl2, Ki-67 and VEGF in the tumor tissue of patients with stage 3–4 ovarian cancer. It was found that expression of mtp53 depends on the malignancy extent. The majority of patients with recurrent ovarian cancer showed a high expression of mtp53 in combination with the absence of Bcl2 expression of markers of apoptosis. There is a relationship between VEGF expression and a high level of tumor marker CA125. Neoadjuvant chemotherapy affected the level of expression of Ki67 and Bcl2 in patients with stage 3–4 ovarian cancer.

Key words: ovarian cancer, molecular-biological markers, combination treatment.

Поступила 16.06.2016