

ОСНОВНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ

Камышов С.В. Email: Kamishov642@scientifictext.ru

*Камышов Сергей Викторович - кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник,
отдел химиотерапии,
Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии
Министерство Здравоохранения Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан*

Аннотация: целью исследования явилось изучение экспрессии молекулярно-биологических маркеров опухоли у больных раком шейки матки и их влияние на течение сопроводительной терапии.

Материал и методы: Наибольший эффект в увеличении 5-летней выживаемости больных РШМ оказывала схема сопроводительной иммунотерапии, включающая экстракорпоральную иммунофармакотерапию (ЭИФТ) с плазмаферезом: такое влияние данного метода проявлялось как при положительных, так и при отрицательных уровнях рассматриваемых онкомаркеров.

Результаты и обсуждение. Проведённый анализ корреляции уровня онкомаркеров и 5-летней выживаемости больных, позволяет сделать вывод о том, что положительный уровень p53, VEGF и Ki-67 у больных РШМ, наряду с высокой пролиферативной активностью опухоли, может служить основанием для проведения данной категории пациенток сопроводительной иммунотерапии с ЭИФТ, что может существенно увеличить эффективность стандартных схем противоопухолевого лечения.

Вывод: При положительном уровне данных онкомаркеров, наряду с высокой пролиферативной активностью опухоли, можно рекомендовать проведение сопроводительной иммунотерапии с ЭИФТ с плазмаферезом.

Ключевые слова: рак шейки матки, адаптивный клеточный иммунитет, молекулярно-биологические маркеры, иммунотерапия.

MAIN MOLECULAR-BIOLOGICAL MARKERS IN CERVICAL CANCER Kamishov S.V.

*Kamishov Sergey Viktorovich - MD, PhD, Senior Researcher,
CHEMOTHERAPY DEPARTMENT,
REPUBLICAN SPECIALIZED SCIENTIFIC AND PRACTICAL MEDICAL CENTER OF ONCOLOGY AND RADIOLOGY,
MINISTRY OF HEALTH OF THE REPUBLIC OF UZBEKISTAN,
TASHKENT, REPUBLIC OF UZBEKISTAN*

Abstract: the aim of the study was to study the expression of molecular-biological tumor markers in patients with cervical cancer, and their effect on the course of accompanying therapy.

Material and methods: The greatest effect in increasing the 5-year survival of patients with cervical cancer was provided by a scheme of accompanying immunotherapy, including EIPHT with plasmapheresis: this effect of the method manifested itself in both positive and negative levels of oncomarkers.

Results and discussion. The analysis of the correlation of the tumor markers level and 5-year survival of patients allows us to conclude that the positive level of p53, VEGF and Ki-67 in patients with cervical cancer, along with high proliferative activity of the tumor, may serve as a basis for conducting this category of patients of accompanying immunotherapy with EIPHT, which can significantly increase the effectiveness of standard antitumor treatment regimens.

Conclusion: In case of a positive level of these markers, along with high proliferative activity of the tumor, it is possible to recommend carrying out accompanying immunotherapy with EIPHT with plasmapheresis.

Keywords: cervical cancer, adaptive cellular immunity, molecular-biological markers, immunotherapy.

УДК:615.028-614.03.46-8

Актуальность. Открытия в области биологии клетки и экспериментальной онкологии определили развитие нового раздела онкологии. Стали известны многие механизмы контроля клеточного деления и апоптоза, поддержания генетической стабильности, путей передачи сигнала от рецепторов в ядро и др. [2, 3, 8, 10]. В настоящее время выявлены различные гены, белки и другие соединения, которые рассматриваются в качестве дополнительных прогностических факторов у больных злокачественными опухолями, в том числе и при онкогинекологических заболеваниях. Они обозначены как иммунологические и молекулярно-биологические маркеры. Большое внимание уделяется изучению молекулярно-биологических маркеров, характеризующих апоптоз, пролиферацию клетки и ангиогенез [1, 4, 5, 6, 7, 14]. К ним относятся p53, Bcl-2, Вах, Раз1, Кл67, УЕВР, Нег2/пей. Изучение степени

амплификации этих генов и экспрессии соответствующих рецепторов и белков стало одним из приоритетных разделов онкологии и для общей популяции больных злокачественными новообразованиями яичников. Вместе с тем, в специальной литературе встречаются лишь единичные публикации, посвященные клиническому значению этих маркеров у больных раком яичников [1, 2, 3, 9, 12]. Применение современных методов иммунотерапии в лечении онкогинекологических заболеваний с использованием новых возможностей изучения молекулярно-биологических маркеров, может дать информацию о прогнозе течения заболевания, содействовать назначению рационального и эффективного лечения, что и определяет актуальность данного исследования [4, 6]. Иммунотерапия со временем может оказаться наиболее перспективным методом лечения опухолей, так как является физиологически адекватным методом, восстанавливающим естественные силы организма больного для борьбы с неопластическим процессом и инфекционными осложнениями, нередко возникающими при лечении. Получение новых уникальных иммуномодулирующих препаратов создало качественно новую основу для коррекции нарушений иммунитета, появилась возможность воздействовать более избирательно на отдельные компоненты и звенья этой системы [1, 5, 10, 11]. Перспективным направлением в лечении злокачественных новообразований на современном этапе развития иммунотерапии является сочетание методов активации специфического и неспецифического иммунитета [8, 10, 11, 12, 14]. В отличие от обычных методов иммунотерапии, когда иммуномодулирующие препараты принимаются в виде таблеток, либо вводятся внутримышечно или внутривенно, использование методов экстракорпоральной иммунофармакотерапии (ЭИФТ) позволяет селективно выделить из крови непосредственно клетки иммунной системы – лейкоциты. Это направление иммунотерапии имеет большие перспективы в онкологической практике в связи с возможностью снимать последствия раковой и химиолучевой интоксикации, а также активировать собственную систему противоопухолевой защиты организма [3, 9, 11, 14]. Однако, в литературе крайне мало сведений об использовании метода ЭИФТ в лечении онкологических заболеваний. Многие методы иммунотерапии в области онкологии, используются пока еще эмпирически, отсутствуют четкие критерии показаний и противопоказаний в лечении злокачественных опухолей различных локализаций. Определение оптимальных доз препаратов, последовательности различных воздействий на иммунную систему, их длительности, а также влияние методов иммунотерапии на ближайшие и отдаленные результаты противоопухолевой терапии, требуют усилий многих исследователей.

Исходя из вышесказанного, **целью исследования** явилось изучение экспрессии молекулярно-биологических маркеров опухоли у больных раком шейки матки и раком яичников, и их влияние на течение сопроводительной терапии.

Материал и методы исследования. Были обследованы молекулярно-биологические маркеры опухоли у больных раком шейки матки (РШМ) T₂₋₃N₀₋₁M₀ стадий (II-III клинические стадии), которые находились на госпитализации в отделениях онкогинекологии и химиотерапии в 2008-2012 гг. Иммуногистохимические методы исследования были проведены на гистологических препаратах операционно-биопсийного материала первичной опухоли больных, полученные до начала терапии. Образцы опухолевой ткани фиксировали в нейтральном забуференном формалине с обычной стандартной проводкой и заливкой в парафин. Гистологические препараты окрашивали обычными способами и проводили иммуногистохимические исследования. Парафиновые срезы депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали DAB+систему [DakoCytomation, Дания]. Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа «Leica» (Германия) под увеличением x10; x20; x40. Для маркера оценивали локализацию окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма, мембрана). Количество положительных клеток оценивали в зонах, содержащих их максимальное количество. У больных РШМ в иммуногистохимической оценке экспрессии p53 использовали моноклональные мышиные антитела к p53 (клон DO-7), **Bcl-2** (клон 124), VEGF (клон VG1), Ki-67 (клон МВ-1) (DakoCytomation, Дания). Иммунотерапия в комплексе стандартной полихимиотерапии была проведена на трех группах больных: 1 группа – 26 больных РШМ без проведения иммунотерапии (контрольная группа); 2 группа – 26 больных РШМ в комплексе с экстракорпоральной иммунофармакотерапией (ЭИФТ); 3 группа – 28 больных РШМ в комплексе с ЭИФТ+плазмаферез (ЭИФТ+ПФ).

Полученные результаты и их обсуждение. Анализ показал, что наиболее высокие показатели 5-летней выживаемости отмечались в группе больных РШМ, которым проводилась ЭИФТ с плазмаферезом (ПФ). Так, в контрольной группе больных выживаемость с отрицательным уровнем p53 составила 62,4±4,8%, тогда как в группах с ЭИФТ и ЭИФТ+ПФ эти показатели составили 70,1±4,2 (p>0,05) и 70,2±4,2% (p>0,05) соответственно. При положительном значении данного онкомаркера, 5-летняя выживаемость составила 44,2±3,1% для контрольной группы без иммунотерапии и 56,2±2,2 (p<0,05) и 56,5±2,4% (p<0,05) для групп с применением методов иммунотерапии соответственно. Ген-супрессор p53 кодирует ядерный белок, модулирующий экспрессию генов, ответственный за репарацию ДНК, деление клеток и апоптоз. На сегодняшний день в литературе нет единого мнения относительно

динамики экспрессии p53 при прогрессировании РШМ. Согласно данным ряда авторов, он может, как повышаться, так и снижаться при данном заболевании [6, 9, 18, 27].

Белку Vcl-2 принадлежит важная роль в регуляции апоптоза. Показано, что высокая степень экспрессии опухолевой клетки Bid (белка из семейства Vcl, играющего важную роль в регуляции апоптоза и интегрирующего сигналы для митохондрий), коррелирует с неблагоприятным прогнозом РШМ. Vcl-2 может полностью задерживать апоптоз, вызванный p53 и другими стимуляторами, в том числе цитостатическими препаратами, но не останавливает апоптоз, вызванный цитотоксическими Т-лимфоцитами [12, 14]. В различных работах было показано резкое и значимое усиление экспрессии Vcl-2 при локализованных формах РШМ по сравнению с начальными стадиями и последующее снижение экспрессии при местнораспространенном процессе [5, 8, 9, 10]. Показатели 5-летней выживаемости в контрольной группе больных РШМ при рассмотрении маркера Vcl-2 в контрольной группе составили 54,2±2,4% при отрицательном его уровне и 40,9±2,5% – при его положительном значении. Соответственно, в группах с иммунотерапией данный показатель составил 69,4±3,2% (p<0,05) и 67,6±4,2% (p>0,05) при отрицательном уровне и 52,7±4,1% (p>0,05) и 64,2±4,8% (p>0,05) – при его положительном значении.

Основным активатором ангиогенеза считают фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), ответственный за пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, а также имеющий непосредственное отношение к инвазии и метастазированию опухоли. Накоплены данные, подтверждающих участие VEGF и EGFR в построении сосудистого русла, росте и прогрессии злокачественных новообразований. Причем взаимодействие этих лигандов с трансмембранными тирозинкиназными рецепторами рассматривают как важнейший аутокринный путь промоции опухоли [14]. При отрицательном значении уровня VEGF в контрольной группе 5-летняя выживаемость пациенток составила 68,4±4,1% и при положительном – 56,0±3,60%. В группах больных, в которых применялась сопроводительная иммунотерапия, соответствующие значения при отрицательном значении VEGF составили 77,6±4,15 (p>0,05) и 76,2±5,5% (p>0,05), при положительном уровне данного онкомаркера – 61,8±4,56 (p<0,05) и 68,8±4,18% (p<0,05). Антиген Ki-67 - это ядерный белок, экспрессия которого отмечается в активную фазу клеточного цикла, включая митоз. Согласно данным литературы, экспрессия Ki-67 повышается при поражении шейки матки. Проллиферативный индекс Ki-67 рассматривается как независимый прогностический показатель возникновения рецидива, общей и безрецидивной выживаемости, предсказательный фактор для определения чувствительности к химиотерапии (ХТ) и лучевой терапии (ЛТ). Индекс Ki-67 позволяет оценить степень злокачественности опухоли и прогнозировать течение заболевания в совокупности с другими факторами. Показано, что высокий уровень индекса Ki-67 сопряжен с неблагоприятным прогнозом. В частности, при высоком уровне Ki-67 отмечается ухудшение показателей безрецидивной и общей выживаемости больных раком молочной железы, яичника, толстой кишки, мочевого пузыря, саркомах мягких тканей и др. [11, 14]. Онкомаркер Ki-67 не обнаруживался в опухолях 7 больных РШМ, у которых в контрольной группе 5-летняя выживаемость составила 65,2±5,8%. При его положительном уровне в группе без иммунотерапии данный показатель составил 44,2±6,1%. В группах с проведением ЭИФИ и ЭИФТ + ПФ при отрицательном Ki-67, показатели выживаемости составили 76,4±7,9 (p>0,05) и 77,8±6,7% (p>0,05) соответственно, а при положительном – 57,8±5,9 (p<0,05) и 63,3±7,4% (p<0,05). При низком уровне индекса пролиферативной активности (ПА), который высчитывали по Ki-67, 5-летняя выживаемость у больных РШМ в группе без иммунотерапии составила 62,6±5,8, при высоком его уровне – 44,8±5,1%. В группах с применением иммунотерапевтических методов, 5-летняя выживаемость при низком индексе ПА составила 73,7±8,2 (p>0,05) и 78,1±7,7% (p>0,05), при высоком индексе – 54,5±5,4 (p>0,05) и 62,2±6,4% (p<0,05). При изучении экспрессии молекулярно-биологических маркеров опухоли у больных РЯ было показано, что отрицательный уровень p53 был отмечен у 5 (16,6%) пациенток, положительный – у 25 (83,3%). Соответствующие показатели при изучении HER-2/neu обнаруживались у 24 (80,0%) и 6 (20,0%) больных, при изучении EGFR – у 21 (70,0%) и 9 (30,0%), VEGF – у 4 (13,3%) и 26 (86,7%) и при изучении Ki-67 – у 6 (20,0%) и 24 (80,0%) пациенток. Таким образом, у большей части больных РЯ уровень изучаемых онкомаркеров был положительным, за исключением HER-2/neu и EGFR, которые были отрицательными у 80,0 и 70,0% пациенток соответственно.

Список литературы / References

1. *Begley J., Ribas A.* Targeted therapies to improve tumor immunotherapy // *Clinical cancer research*, 2008. V. 14. P. 4385-4391.
2. *Braun S., Hepp F., Kantenich C.R. et al.* Monoclonal antibody therapy with edrecolomb in breast cancer patients: monitoring of elimination of disseminated cytokeratin-positive tumor cells in bone marrow // *Clin. Cancer Res.*, 1999. V. 5. № 12. P. 3999-4004.
3. *Cheever M.A.* Twelve immunotherapy drugs that could cure cancers // *Immunol Rev.*, 2008. V. 222. P. 357-368.

4. *De Felice F., Marchetti C., Palaia I., Musio D., Muzii L., Tombolini V., Panici P.B.* Immunotherapy of Ovarian Cancer: The Role of Checkpoint Inhibitors // *Journal of Immunology Research*, 2015. P.1-7.
5. *Emens L.A.* Breast cancer immunobiology driving immunotherapy: vaccines and immune checkpoint blockade // *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 2012. V. 12. № 12. P. 1597–1611.
6. *Gajewski T.F.* Cancer immunotherapy // *Molecular oncology*, 2012. V. 6. Is.2. P. 242–250.
7. *Ito F., Chang A.E.* Cancer immunotherapy. Current status and future directions // *Surgical Oncology Clinics of North America*, 2013. V. 22. № 4. P. 765–783.
8. *Li Z., Chen L., Rubinstein M.P.* Cancer immunotherapy: are we there yet? // *Exp. Hematol. Oncol.* -2013. – V.2. -N1. –P.33.
9. *Maker A.V., Phan G.Q., Attia P., Yang J.C., Sherry R.M., Topalian S.L., Kammula U.S., Royal R.E., Haworth L.R., Levy C., Kleiner D., Mavroukakis S.A., Yellin M., Rosenberg S.A.* Tumor regression and autoimmunity in patients treated with cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade and interleukin 2: a phase I/II study // *Ann. Surg. Oncol.*, 2005. № 12. P.1005-1016.
10. *Nawaz M., Fatima F., Nazarenko I., Ekström K., Murtaza I., Anees M., Sultan A., Neder L., Camussi G., Valadi H., Squire J.A., Kislinger T.* Extracellular vesicles in ovarian cancer: applications to tumor biology, immunotherapy and biomarker discovery // *Expert Rev. Proteomics*, 2016. V. 13. № 4. P. 395-409.