

© Коллектив авторов, 2002
УДК 618.11-006.6-085.28-037-097

И. Н. Полушкина¹, Е. В. Степанова², М. Р. Личиницер¹,
Г. В. Вышинская¹, А. А. Мещеряков¹, М. Б. Стенина¹

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНАЦИИ ПАКЛИТАКСЕЛА И КАРБОПЛАТИНА ПРИ РАСПРОСТРАНЕННОМ РАКЕ ЯИЧНИКОВ В ПЕРВОЙ ЛИНИИ ХИМИОТЕРАПИИ. ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОГО ЗНАЧЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ P-53, Bcl-2, BAX

¹НИИ клинической онкологии

²НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

Во всем мире отмечена тенденция к увеличению заболеваемости и смертности от рака яичников. Ежегодно в мире регистрируется 165 тыс. новых случаев и 101 тыс. смертей от рака яичников.

Эффективность паклитаксела у больных, резистентных к соединениям платины, составляет 24%. При использовании комбинации паклитаксела с цисплатином эффективность составляет 73—78% с медианой выживаемости 35—38 мес [1, 2]. Эффективность комбинации паклитаксела с цисплатином и паклитаксела с карбоплатином оказалась одинаковой (73 и 71% соответственно), что подтверждено сравнительными исследованиями [3, 7, 8].

За последние годы достигнут значительный прогресс в понимании молекулярной биологии клетки. Стали известны многие механизмы контроля клеточного деления и смерти, поддержание генетической стабильности.

Наиболее ранними событиями в процессах канцерогенеза и прогрессирования опухолей являются нарушения механизмов пролиферации и апоптоза в опухолевых клетках. Ключевыми белками, участвующими в управлении апоптозом, являются белки P-53, Bcl-2, Bax.

P-53 — белок, регулирующий прохождение клетки по клеточному циклу. Нарушение активности P-53 приводит к нечувствительности к ингибирующим рост сигналам, ослаблению индукции апоптоза, генетической нестабильности [6]. Кроме того, P-53 может участвовать в блокировании клеточной дифференцировки, стимуляции ангиогенеза, увеличении инвазивных свойств клетки. Экспрессию P-53 находят примерно в 44—62% случаев рака яичников. Экспрессия P-53 в опухолевой ткани может служить маркером, прогнозирующим выживаемость больных и резистентность к адъювантной химиотерапии [4].

Семейство белков Bcl-2 играет ключевую роль в физиологической гибели клеток. Различная экспрессия белков семейства Bcl-2 и их связывающих протеинов позволяет очень тонко регулировать апоптоз в различных типах тканей, запускаемый разнообразными вне- и внутриклеточными сигналами. Наиболее хорошо изучены Bcl-2 (ингибитор апоптоза) и Bax (индуктор апоптоза) [5].

Изучение экспрессии маркеров с целью более точного прогноза течения заболевания и выбора рациональной терапии у больных раком яичников является актуальной

I.N.Polushkina¹, E.V.Stepanova², M.R.Lichinitser¹,
G.V.Vyshinskaya¹, A.A.Mescheryakov¹, M.B.Stenina¹

EFFICACY OF PACLITAXEL PLUS CARBOPLATIN COMBINATION AS FIRST LINE CHEMOTHERAPY FOR ADVANCED OVARIAN CANCER. PROGNOSTIC VALUE OF MOLECULAR BIOLOGICAL MARKERS P-53, BCL-2, BAX

¹Institute of Clinical Oncology

²Institute of Experimental Diagnosis and Therapy of Tumors

There is an increasing trend in ovarian cancer mortality worldwide. Every year cancer of the ovary is detected in 165,000 patients and 101,000 die from this disease.

Paclitaxel is effective in 24% of cases refractory to platinum compounds. Paclitaxel plus cisplatin combination increases the response to 73-78% with median survival time 35-38 months [1,2]. Comparative studies [3,7,8] demonstrated equal efficacy of paclitaxel plus cisplatin vs paclitaxel plus carboplatin combinations (73% and 71%, respectively).

There was a considerable progress in understanding of molecular biology of the cell over the last years. Many control mechanisms of cell division and death have been discovered.

Impairment of mechanisms of tumor cell proliferation and apoptosis are the earliest events in cancer origin and progression. Proteins P-53, Bcl-2, Bax are key factors of apoptosis control.

Protein P-53 regulates cell transformation during cell cycle. Decline in P-53 activity leads to loss of sensitivity to growth inhibiting signals, decreased apoptosis induction, genetic instability [6]. Besides, P-53 may contribute to cell differentiation block, angiogenesis enhancement, cell invasive potential growth. P-53 expression is found in about 44-62% of ovarian cancers. Tumor P-53 expression may be a prognostically valuable marker of survival and resistance to adjuvant chemotherapy [4].

Protein family Bcl-2 plays a key role in cell physiological death. Expression variation of Bcl-2 and their binding proteins enables fine regulation of apoptosis in a variety of tissues induced by many extra- and intracellular signals. Bcl-2 (apoptosis inhibitor) and Bax (apoptosis inducer) are studied best of all [5].

Study of expression of various markers to make a more accurate prognosis of disease course and to choose rational therapy in ovarian cancer is an urgent problem. Characterization of prognostic molecular markers in combination with clinical approaches will help to select most effective individual chemotherapy regimens for ovarian cancer.

Materials and Methods. During June 1998 to July 1999 23 patients with advanced ovarian cancer, stage III-IV, having received no previous chemotherapy were entered into this study. 19 (83%) had serous adenocarcinoma and 4 had other morphological types of cancer of the ovary.

задачей. Характеристика прогностических молекулярных маркеров в комплексе со всеми подходами, которые обычно используются в клинической практике, в будущем поможет выбрать наиболее эффективные индивидуальные методы лекарственной терапии при раке яичников.

Материал и методы. С июня 1998 г. по июнь 1999 г. в исследование были включены 23 пациентки с диссеминированным раком яичников III–IV стадии, прежде не получавших химиотерапию. Из них 19 (83%) больных имели серозную аденокарциному, 4 — другие морфологические типы рака яичников.

Циторедуктивная операция выполнена у 14 больных до химиотерапии, в остальных случаях проведена лапароскопия с биопсией. Кроме того, у 6 больных циторедуктивная операция сделана уже в период химиотерапии при достижении частичной ремиссии (после 3 курсов).

До начала химиотерапии размеры опухолевых узлов составили: более 5 см у 12 (52%) больных, 2–5 см у 9 (39%), менее 2 см у 2 (8%) больных. У 22 больных уровень маркера СА-125 в крови был повышен (от 81 до 6500 МЕ), у 1 больной СА-125 был в пределах нормы.

Иммуногистохимический анализ: парафиновые срезы депарафинизировали и регидратировали по стандартной методике. Для «демаскировки» антигенов проводили прогревание срезов на водяной бане в предварительно нагретом до 95–99 °С цитратном буфере в течение 30 мин. Инкубацию с первичными антителами проводили при 4 °С в течение 16 ч. После первичных антител стекла промывали 2 раза по 5 мин в фосфатном буфере. В качестве вторичных антител использовали тест-систему LSAB+kit [DAKO] согласно инструкции. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали систему DAB+ [DAKO]. Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в канадский балзам.

Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа «Leica» (Германия) под увеличением $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$. Для всех маркеров оценивали локализацию окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма, мембрана). Количество положительных клеток оценивали в зонах, содержащих их максимальное количество.

Опухоль считали отрицательной по P-53, если в ткани опухоли отсутствовала ядерная реактивность с антителами или количество окрашенных клеток было менее 25%; положительной по P-53, если окрашено более 25% ядер опухолевых клеток.

Опухоль считали отрицательной по Bcl-2 или Bax, если в ткани опухоли отсутствовала цитоплазматическая реактивность с антителами или количество окрашенных клеток было менее 25%; положительной по Bcl-2 или Bax, если окрашено более 25% опухолевых клеток.

Химиотерапия включала однодневное введение паклитаксела в дозе 175 мг/м² (3-часовая инфузия) и карбоплатина AUC-6 (30-минутная инфузия). Интервалы между курсами составили 3–4 нед.

23 больных получили 130 курсов лечения. Среднее число курсов — 6, при этом 6–9 курсов химиотерапии получили 17 больных.

Результаты. Лечебный эффект оценен у 20 больных, получивших не менее 2 курсов химиотерапии.

Полная ремиссия (исчезновение всех опухолевых образований по данным ультразвуковой томографии с нормализацией уровня СА-125) достигнута у 13 (65%) больных. Среди больных этой группы у 4 эффект сохраняется от 35 мес⁺ до 43 мес⁺; 3 пациентки продолжают лечение.

Частичная ремиссия достигнута у 5 (25%) больных. Общая частота лечебного эффекта составила 90%.

Среднее время до прогрессирования от начала химиотерапии составило при полной ремиссии 19,7±12,8 мес (от 6 мес до 43 мес⁺), при частичной ремиссии 14,7±6,2 мес (от 6 до 21,5 мес).

При анализе медианы выживаемости больных установлено, что при полной ремиссии она составила 34 мес, при частичной ремиссии — 32,5 мес, в общей группе — 28,5 мес, но многие пациентки продолжают наблюдаться (34 мес⁺, 38 мес⁺, 39 мес⁺, 43 мес⁺ соответственно) или продолжают лечение (34 мес⁺, 34 мес⁺, 35 мес⁺, 40 мес⁺ соответственно).

Before chemotherapy 14 patients underwent cytoreductive operation, the remaining cases had laparoscopy with biopsy. Besides, 6 patients underwent cytoreductive surgery on-therapy after partial response was achieved (after 3 cycles).

Before chemotherapy tumor size was 5 cm in 12 (52%), 2–5 cm in 9 (39%), less than 2 cm in 2 (8%) patients. At baseline 22 patients had elevated blood CA-125 levels (from 81 to 6500 IU), 1 patient had this marker within normal limits.

Immunohistochemical analysis. Paraffin sections were deparaffinized and dehydrated by standard technique. The sections were heated on waterbath in citrate buffer preliminarily heated to 95–99 °C for 30 min to demask the antigens. Incubation with first antibodies was performed at 4 °C for 16 h. After that the glasses were washed two times 5 min each in phosphate buffer. LSAB+kit [DAKO] was used as second antibody according to manufacturer's instructions. DAB+ [DAKO] was used to visualize immunohistochemical reaction. The sections were stained with hematoxylin and embedded in Canadian balm.

Assessment of staining results was made using a Leica (Germany) light microscope at $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$ magnification. Staining area in the cell (nucleus, cytoplasm, membrane) was detected for all markers. Positive cell count was made in zones with maximal cell number.

Tumors were considered P-53-negative if there was no or less than 25% nuclear reactivity with antibodies and P-53-positive if there was 25% or more cells with stained nuclei.

Tumors were considered Bcl-2- or Bax-negative if there was no or less than 25% cytoplasmic reactivity with antibodies and Bcl-2- or Bax-positive if there was 25% or more stained cells.

Chemotherapy consisted of paclitaxel 175 mg/m² (3-hour infusion) and carboplatin AUC-6 (30-min infusion) administered on the same day with an intercycle interval 3–4 weeks.

23 patients received 130 treatment cycles, mean 6 cycles; 17 patients received 6 to 9 cycles.

Results. Response to treatment was detected in 20 patients receiving 2 or more cycles of chemotherapy.

Complete response (disappearance of all disease by ultrasound tomography and normal CA-125 level) was achieved in 13 (65%) patients. Of them 4 patients are disease-free for 35 months⁺ to 43 months⁺; 3 patients continue treatment.

Partial response was detected in 5 (25%) patients. Overall response rate was 90%.

Mean time to disease progression from chemotherapy start was 19.7±12.8 months (range 6–43 months⁺) for complete responders and 14.7±6.2 months (range 6–21.5 months) for partial responders.

Median survival time was 34 months for complete and 32.5 months for partial responders or 28.5 months for general population, though many patients are still on follow-up (34 months⁺, 38 months⁺, 39 months⁺, 43 months⁺) or on-therapy (34 months⁺, 34 months⁺, 35 months⁺, 40 months⁺).

Our study demonstrated high efficacy of paclitaxel plus carboplatin combination with cytoreductive operation in stage III–IV ovarian cancer.

Main adverse events were neutropenia (grade III 32% of cycles, grade IV 53% of cycles), thrombocytopenia (grade III 6% of cycles), neuropathy (grade II 3.9% of cycles). In the remaining cases adverse events were less marked and did not interfere with the treatment.

If grade III–IV toxicity occurred the intercycle intervals were increased by 5–7 days. A 20% paclitaxel dose reduction was made only in 2 cases due to febrile neutropenia.

Baseline tumor P-53, Bcl-2, Bax levels were obtained in 11 cases. Expression of P-53 was found in 45.5%, Bcl-2 in 45.5%, Bax in 81.8% of cases.

In the 8 complete responders 7 tumors were Bax⁺, 5 P-53⁺ and 5 Bcl-2⁺.

Таким образом, лечение комбинацией паклитаксел + карбоплатин при раке яичников III—IV стадии в сочетании с циторедуктивной операцией оказалось высокоэффективным.

Основные побочные эффекты включали нейтропению (III степень — 32% курсов, IV степень — 53% курсов), тромбоцитопению (III степень — 6% курсов), нейропатию (II степень — 3,9% курсов). В остальных случаях побочные эффекты были менее значительные и не препятствовали продолжению лечения.

При токсичности этой комбинации III—IV степени использовали увеличение интервала на 5—7 дней. Снижение дозы паклитаксела на 20% проведено только в 2 случаях при фебрильной нейтропении.

Получены предварительные данные об экспрессии в опухоли P-53, Bcl-2, Вах до начала химиотерапии у 11 больных. Экспрессия P-53 обнаружена в 45,5% случаев, Bcl-2 — в 45,5% случаев, Вах — в 81,8% случаев.

Среди 8 больных с полной ремиссией обнаружена экспрессия Вах⁺ (7 случаев), P-53⁺ (5 случаев), Bcl-2⁺ (5 случаев). Обращает внимание факт высокой частоты экспрессии Вах⁺ при полной ремиссии.

Закономерности экспрессии маркеров апоптоза могут быть обсуждены после завершения анализа всех групп леченных больных с диссеминированным раком яичников III—IV стадии. Таким образом, комбинация паклитаксел + карбоплатин показала высокую эффективность в I линии химиотерапии больных раком яичников III—IV стадии.

Частота лечебного эффекта составила 90%, при этом полная ремиссия достигнута у 65% больных, время до прогрессирования при эффективном лечении составило $17,7 \pm 9,1$ мес.

Обнаружена высокая экспрессия Вах в опухоли в случаях, когда химиотерапия приводила к полной ремиссии.

Note high frequency of Bax-positive tumors in the complete responders.

Discussion of apoptosis marker expression may be carried out after analysis of all cases with stage III-IV ovarian cancer receiving chemotherapy is completed.

In conclusion, paclitaxel plus carboplatin combination demonstrated high efficacy as first line chemotherapy in patients with stage III-IV ovarian cancer.

Response was achieved in 90% of cases including 65% of complete responders, time to disease progression in the responders was 17.7 ± 9.1 months.

The complete responders had high levels of Bax expression in their tumors.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Горбунова В. А., Гарин А. М. // *Вопр. онкол.* — 1994. — Т. 40. — С. 259—266.
2. Горбунова В. А. // *Таксол в клинической практике* / Под ред. Н. И. Переводчиковой. — М., 2001. — С. 168—184.
3. du Bois A., Lueck H. J., Meier W. et al. // *Proc. ASCO.* — 1999. — Vol. 18. — P. 356a.
4. Daponte A., Guidozi F., Tiltman A. J., Marineanu A. T. // *Anticancer Res.* — 1999. — Vol. 19. — P. 2387—2389.
5. Henriksen R., Wilander E., Oberg K. // *Br. J. Cancer.* — 1995. — Vol. 73, N 5. — P. 1324—1329.
6. Levine A. J. // *Cell.* — 1997. — Vol. 88. — P. 323—331.
7. Velasco A., Gomez Bernal F., Carrasco Carrascal T. et al. // *Proc. ASCO.* — 1998. — Abstracts 1396.
8. Vasey P. // *Proc. ASCO.* — 2001. — Vol. 20. — P. 202.

Поступила 15.02.02 / Submitted 15.02.02

© Коллектив авторов, 2002
УДК 616.351-006.6-089

Ю. М. Тимофеев, В. И. Есин, А. И. Воробьев

ОДНОРЯДНЫЙ АНАСТОМОЗ ПРИ НИЗКИХ ЧРЕЗБРЮШНЫХ РЕЗЕКЦИЯХ ПРЯМОЙ КИШКИ

НИИ клинической онкологии, Александрo-Мариинская областная клиническая больница № 1, Астрахань

До сих пор единственным радикальным методом лечения рака прямой кишки является хирургический [4, 9]. При раке прямой кишки важно не только выполнить операцию в радикальном объеме, но и произвести один из вариантов

Yu. M. Timofeyev, V. I. Esin, A. I. Vorobiev

SINGLE-ROW ANASTOMOSIS IN LOW TRANSABDOMINAL RESECTION OF THE RECTUM

Institute of Clinical Oncology;
Astrakhan Regional Clinical Hospital

Surgery is the only radical treatment in rectal cancer [4, 9]. In cancer of the rectum it is of much importance both to perform radical surgery and to preserve the sphincter to allow natural intestinal passage. Sphincter preservation