

MOLECULAR BIOMARKERS OF OVARIAN CANCER

*E. V. Stepanova, I. N. Polushkina, J. N. Dbar,
V. D. Ermilova, Y. V. Shishkin, A. Y. Baryshnikov, M. R. Lichinitser
N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*

ABSTRACT

The expression of molecular biomarkers of apoptosis (p53, Bcl-2, Bax, FasL), proliferation (Ki-67) and angiogenesis (VEGF, Flk-1, Flt-1, thrombospondin, thymidine phosphorylase) was studied in serous ovarian cancer patients. The research was performed on paraffin-embedded blocks using standard immunohistochemical method. The study was included 96 women with ovarian cancer III-IV stages.

p53 expression was found in 54,2 % cases, Bcl-2 - in 38,5 % cases, Bax - in 56,25 % cases, FasL was found in 67,7 % cases of serous ovarian cancer III-IV stages. Bcl-2 expression correlated with Bax expression ($p = 0,028$). Mean proliferative activity of ovarian cancer (index Ki-67) was $43,4 + 32,4$ % (median - 40 %). The Ki-67 index correlated with tumor grade ($k = 0,3$, $p = 0,002$). VEGF expression in tumor cells was found in 64,6 % cases, expression of receptor to VEGF: Flt-1 - in 37,2 % cases and Flk-1 - 28,7% cases. Thymidine phosphorylase (TP) was found in tumor cells in 47,9 % cases and in stromal cells in 64,6 % cases. TP expression in stromal cells correlated with tumor degree ($k = -0,22$; $p = 0,03$) and with size of a residual tumor ($k = 0,32$; $p = 0,001$). The patients having complete response to chemotherapy, were more often Bax positive (62,5 % of cases), than patients with progression disease, where Bax expression was found in 33,3% cases. Bax positive patients had progression in 75,5 % cases (median time to progression was 17 month) and Bax negative patients - in 86,8 % of cases (median time to progression was 12 month).

Our results suggest that Bax is the perspective prediction factor of chemotherapy efficacy of ovarian cancer patients.

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РАКА
ЯИЧНИКОВ

*Е.В. Степанова, И.Н. Полушкина, Ж.Н. Дбар,
В.Д. Ермилова, Ю.В. Шишкин, А.Ю. Барышников, М.Р. Личиницер
Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН*

РЕЗЮМЕ

Целью настоящей работы явилось комплексное изучение клинических и молекулярно-биологических факторов (показатели апоптоза, пролиферации и ангиогенеза) при серозном раке яичников III-IV стадии и определение их влияния на эффективность химиотерапии и прогноз. Исследование проведено на парафиновых срезах больных иммуногистохимическим методом.

Экспрессия p53 была обнаружена в 54,2%, Bcl-2 - в 38,5% случаев, Bax - в 56,25%, FasL - в 67,7% случаев серозного рака яичников. Экспрессия Bcl-2 и Bax была прямо связана друг с другом ($p=0,028$). Средняя пролиферативная активность серозного рака яичников по индексу Ki-67 составила $43,4+32,4\%$ (медиана - 40%). Индекс Ki-67 коррелировал со степенью дифференцировки опухоли ($k=0,3$, $p=0,002$). Экспрессия VEGF на опухолевых клетках была найдена в 64,6% опухолей, экспрессия двух рецепторов к VEGF - Flt-1 в 37,2% случаев и Flk-1 - 28,7%. При этом окрашивание опухоли антителами к Flt-1 коррелировало с присутствием VEGF-положительных опухолей ($k=0,2$; $p=0,048$). Тимидин фосфорилаза обнаружена как на опухолевых клетках в 47,9% случаев, так и на клетках стромы (фибробластах и др.) в 64,6% случаев. Присутствие окрашивания стромальных клеток обратно коррелировало с дифференцировкой опухолей ($k=-0,22$; $p=0,03$) и прямо - с размером остаточной опухоли ($k=0,32$; $p=0,001$). Отмечено, что больные, имевшие полный эффект от терапии, были чаще положительными по Bax (62,5% случаев), чем больные с прогрессированием во время I линии химиотерапии, где экспрессия Bax составила 33,3%. Размер остаточной опухоли и экспрессия Bax ассоциировались со временем до прогрессирования болезни. Bax положительные больные имели прогрессирование в 75,5% случаях (медиана времени до прогрессирования 17 мес.), а Bax отрицательные больные - в 86,8% случаев (медиана времени до прогрессирования 12 мес.).

Таким образом, определение экспрессии Bax является перспективным фактором прогноза для больных раком яичников.

Введение. Во всем мире имеется тенденция к увеличению заболеваемости и смертности от рака яичников. Среди больных с впервые установленным диагнозом на долю III и IV стадии приходится 37,2% и 27%, соответственно. Современная химиотерапия рака яичников в последнее время достигла определенных успехов. В результате использования наиболее эффективных режимов химиотерапии цисплатин/карбоплатин + таксол/таксотер в I линии химиотерапии частота полной и частичной ремиссии достигла 73-78%. Частота лечебного эффекта и длительность ремиссии существенно различаются у многих больных. Между тем, клинические характеристики болезни (гистологическое строение опухоли, уровень опухолевого маркера и др.) являются недостаточными для предсказания прогноза течения болезни и эффекта химиотерапии. За последнее десятилетие достигнут значительный прогресс в понимании молекулярной биологии клетки. Стали известны многие механизмы контроля клеточного деления и смерти, поддержания генетической стабильности, путей передачи сигнала от рецепторов в ядро. Одним из современных путей прогнозирования течения рака яичников и выработки лечебной тактики является изучение молекулярно-биологических маркеров в ткани опухоли. Необходимо найти понимание клинической ситуации, когда сравнимые по распространенности и гистологической структуре опухоли различаются по агрессивности течения заболевания. Особое внимание привлекают сведения о нарушениях механизмов пролиферации, апоптоза, ангиогенеза в опухолевых клетках. Ключевыми белками, участвующими в управлении апоптозом, являются белки семейства Bcl-2 и супрессор опухолевого роста p53. Супрессор опухолевого роста- p53, известен как один из главных белков, регулирующий прохождение клеткой клеточного цик-

ла. Активность p53 требуется для активации некоторых форм апоптоза, и его мутации могут быть ассоциированы с агрессивностью течения заболевания и устойчивостью опухолевых клеток к химио- или лучевой терапии [1].

Неоангиогенез или формирование новых микрососудов на основе уже существующей в ткани сети сосудов, является необходимым для роста опухоли и развития метастазов [2]. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) является главным фактором, индуцирующим образование новых сосудов в опухоли путем стимулирования деления и миграции эндотелиальных клеток близлежащих сосудов. Экспрессия VEGF в злокачественных опухолях сочетается с увеличением метастазирования и укорочением безрецидивной выживаемости. Комплексное изучение маркеров апоптоза, пролиферации и ангиогенеза при раке яичников ранее не проводилось. Клиническая характеристика диссеминированного рака яичников 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.

Целью настоящей работы явилось комплексное изучение клинических и молекулярно-биологических факторов (показатели апоптоза, пролиферации и ангиогенеза) при серозном раке яичников III-IV стадии и определение их влияния на эффективность химиотерапии и прогноз.

Материалы и методы. В исследование включено 96 больных серозным раком яичников III-IV стадии, проходивших лечение в Российском онкологическом научном центре с 1991 по 2001 гг., все больные получили в качестве I линии адекватные режимы химиотерапии с включением платиносодержащих режимов и/или таксаны. У всех больных методами иммуногистохимии была оценена экспрессия 10 маркеров (апоптоза, пролиферации, ангиогенеза). 92 (95,8%) больным до химиотерапии выполнена лапаротомия: лапаротомия с циторедуктивной операцией - у 86 (88,8%) больных, 6 (6,5%) - пробная лапаротомия с биопсией опухоли; лапароскопия с биопсией опухоли - у 4 (4,1%) больных.

Все больные до начала химиотерапии имели гистологическое подтверждение диагноза. Клинико-морфологические характеристики всей группы больных представлены в таблице 1. Через 2-3 недели после операции проводилась химиотерапия. 56 (58,3%) больных получили цисплатин 80 мг/м² + циклофосфан 800 мг/м² или карбоплатин (AUC 6) + циклофосфан 800 мг/м², 11 (11,4%) больных получили - цисплатин + адриамицин + циклофосфан; 29 (30,2%) больных получили химиотерапию с включением таксановых производных (20 - таксол 175 мг/м² с карбоплатином (AUC-6) или цисплатином 75/м²; 9 больных-таксотер 80/м² + цисплатин 75мг/м². 96 больных получили 617 курсов, от 4-10 курсов химиотерапии. Во всех случаях такое лечение составило I линию химиотерапии.

Всем больным перед началом химиотерапии и пос-

Таблица 1
Клинико-морфологические характеристики больных (n - 96)

Характеристики	Число больных
Возраст	
≤60	75 (78,1%)
>60	21 (21,9%)
Средний возраст	52
диапазон	27-69
Гистологическая структура (серозный рак)	96(100%)
FIGO стадия :	
III	73 (76,4%)
IV	23 (23,6%)
Степень дифференцировки опухоли	
G1	24 (25%)
G2	22 (22,9%)
G3	46 (47,9%)
Разная	4 (4,2%)
Размер остаточной опухоли до лечения	
< 2см	24 (25 %)
от 2-5см	33 (34,4 %)
> 5см	39 (40,6 %)

ле каждых 2-х курсов проводилось контрольное обследование: ультразвуковое исследование и определение маркера СА-125, гинекологический осмотр. При необходимости проводилась компьютерная томография (КТ). Все больные имели систематическое наблюдение. Для умерших больных имеется информация о дате и причине смерти. Часть больных находится под наблюдением в настоящее время.

Иммуногистохимический метод. Исследование проводилось на фиксированных в формалине и заключенных в парафин опухолевых блоках, полученных при рутинной патологоанатомической работе. Исследование проводили по стандартной методике постановки пероксидазной авидин-биотиновой иммуногистохимической реакции. Демаскировку антигенов проводили на водяной бане при 95-99°C. Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в балзам. В работе были использованы антитела к p53 (разведение 1:200, клон DO-7, DAKO), Bcl-2 (разведение 1:50, клон 124, DAKO), Ki-67 (разведение 1:50, клон Ki-S5, DAKO), Bax (разведение 1:500, поликлональные, DAKO), FasL (разведение 1:300, поликлональные, Santa Cruz Biotech), VEGF (разведение 1:1000, клон C-1, Santa Cruz Biotech), Flk-1 (разведение 1:1500, клон A-3, Santa Cruz Biotech), Flt-1 (разведение 1:500, поликлональные, Santa Cruz Biotech), тромбоспондину (разведение 1:10, клон 11.4 Boehringer Mannheim) и тимидин фосфорилазе (разведение 1:200, клон TS106 Oncogene). Оценка результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа (увеличение $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$). Для всех маркеров оценивали локализацию окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма, мембрана). Количество положительных клеток оценивали в зонах, содержащих их максимальное количество.

В исследовании применялись следующие критерии оценки маркеров:

- опухоль считали отрицательной по p53, если в ткани опухоли отсутствовала ядерная реактивность с антителами или количество окрашенных клеток было менее 25%; и положительной по p53, если было окрашено более 25% ядер опухолевых клеток;

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

- FasL, Flt, Flk- положительной считали опухоль, если имелось более 10% окрашенных клеток.

- пролиферативная активность опухоли оценивалась как процент Ki-67 положительных клеток от общего количества опухолевых клеток. Высокая пролиферативная активность соответствовала индексу Ki-67 $\geq 40\%$, низкая пролиферативная активность опухоли соответствовала индексу Ki-67 $< 40\%$.

- опухоль считали положительной по тимидин фосфорилазе, если более 5% опухолевых клеток были окрашены со средней или сильной интенсивностью. Для оценки интенсивности окрашивания использовали критерии: 0-отсутствие окрашивания, 1+ - слабое ок-

рашивание опухолевых клеток, 2+ - средняя интенсивность окрашивания, 3+ - сильная степень окрашивания.

- опухоль считали положительной по тромбоспондину при наличии окрашивания антителами к тромбоспондину стромы опухоли.

Результаты и обсуждение. Экспрессия p53 была обнаружена в 54,2% (52 из 96) случаев рака яичников. Окрашивание наблюдалось в ядрах опухолевых клеток, при этом нормальные клетки (стромальные и эндотелиальные клетки, лимфоциты, инфильтрирующие опухоль) не окрашивались антителами к общему p53. Присутствие p53 в ткани серозного рака яичников не было связано с клинико-патологическими характеристиками опухоли или с экспрессией других маркеров апоптоза. Экспрессия p53 в опухолях с высокой дифференцировкой составила 41,6%, с умеренной 50% и с низкой дифференцировкой - 62%.

Белки семейства Bcl-2 (Bcl-2 и Bax) являются одними из основных эффекторов апоптоза в клетке. Экспрессия Bcl-2 нами была найдена в 37 (38,5%) случаев, экспрессия Bax - в 54 (56,25%) случаев серозного рака яичников. Обнаружено, что накопление Bcl-2 и Bax происходит в цитоплазме опухолевых клеток. Инфильтрирующие опухоль лимфоциты всегда были сильно окрашены антителами к Bcl-2 и расценивались как внутренний положительный контроль. Экспрессия Bcl-2 и Bax была прямо связана друг с другом ($p=0,028$ по результатам χ^2 -статистики). Опухоли, отрицательные по одному белку, чаще не содержали и другого белка. И, наоборот, в опухолях часто наблюдалась совместная экспрессия Bcl-2 и Bax. Экспрессия Bcl-2 и Bax не зависела от различных клинических характеристик болезни: стадии, дифференцировки, возраста, размера остаточной опухоли. Часто именно соотношение уровня экспрессии двух белков (Bcl-2:Bax) определяет готовность клеток к апоптозу. Bcl-2:Bax соотношение определяется по формуле:

$$\frac{\text{интенсивность окрашивания (0-3\%) } \times \text{ Bcl-2 положительных клеток (0-100\%)}}{\text{интенсивность окрашивания (0-3\%) } \times \text{ Bax положительных клеток (0-100\%)}} = \text{Bcl-2:Bax}$$

У 21 (21,9 %) больной при раке яичников имелся высокий уровень Bcl-2 и низкий уровень Bax (Bcl-2:Bax > 1), у 34 (35,4%) больных наблюдалось равное соотношение Bcl-2 и Bax (Bcl-2:Bax=1) и у 41 (42,7 %) больной - низкий уровень экспрессии Bcl-2 и высокий Bax (Bcl-2:Bax < 1).

Только в 1/4 случаев серозного рака яичников имеется предрасположенность к резистентности апоптоза (фенотип Bcl-2:Bax > 1)

Экспрессия FasL обнаружена в 67,7% случаев серозного рака яичников. Отмечена положительная корреляция между экспрессией FasL и Bcl-2 при раке яичников ($p=0,0076$). Опухоли, положительные по Bcl-2, были положительными по FasL в 83,8%.

Средняя пролиферативная активность серозного рака яичников по индексу Ki-67 составила $43,4 \pm 32,4\%$ (медиана - 40%). Опухоли III и IV стадии не различались по индексу Ki-67. (44,2 и 38,5, соответственно). Индекс Ki-67 коррелировал со степенью дифференци-

ровки опухоли ($\text{kreagson}=0,3$, $p=0,002$; анализ корреляции по Пирсону). Опухоли с высокой степенью дифференцировки имели более низкую пролиферативную активность. Средняя пролиферативная активность высокодифференцированных опухолей составила $17 \pm 22,9\%$, умеренно-дифференцированных опухолей - $52,0 \pm 34,4\%$ и низкодифференцированных - $52,0 \pm 28,5\%$. Анализ показал, что индекс Ki-67 значимо не отличался у больных с разными показателями биомаркеров. Опухоли, положительные и отрицательные по изученным маркерам, имели одинаковую пролиферативную активность по индексу Ki-67. Исключение составляет p53. Высокая пролиферативная активность опухоли часто сочетается с экспрессией p53 (Рисунок 1).

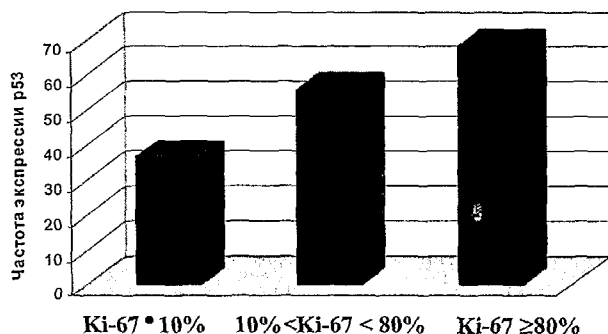


Рис. 1. Частота экспрессии p53 в зависимости от индекса Ki-67 в опухоли

Экспрессия VEGF на опухолевых клетках была найдена в 64,6% опухолей, экспрессия двух рецепторов к VEGF - Flt-1 (VEGFR-1) в 37,2% случаев и Flk-1 (VEGFR-2) - 28,7%. При этом окрашивание опухоли антителами к Flt-1 (VEGFR-1) коррелировало с присутствием VEGF-положительных опухолей ($k=0,2$; $p=0,048$). Опухоли, отрицательные по VEGF, были отрицательными по Flt-1 в 75,8% случаев, а положительные по VEGF в 55,7% случаев ($p=0,055$ по статистике χ^2). Экспрессия VEGF в опухолевых клетках не зависела от присутствия p53 в опухолевых клетках, но в опухолях, положительных по Bcl-2, экспрессия VEGF была намного выше ($k=0,27$; $p=0,007$). Так, экспрессия VEGF в Bcl-2-положительных опухолях составила 81,1%, а в Bcl-2-отрицательных опухолях - 54%.

Экспрессия тромбоспондина - ингибитора ангиогенеза - была обнаружена только в небольшом количестве опухолей (в 9,4% случаев). При этом она не коррелировала с присутствием p53 и VEGF.

Тимидин фосфорилаза обнаружена как на опухолевых клетках в 47,9% случаев, так и на клетках стромы (фибробластах и др.) в 64,6% случаев.

Экспрессия тимидин фосфорилазы на опухолевых клетках не зависела от экспрессии VEGF и других маркеров апоптоза. Присутствие окрашивания стромальных клеток обратно коррелировало с дифференцировкой опухолей ($k=-0,22$; $p=0,03$), и прямо - с размером остаточной опухоли ($k=0,32$; $p=0,001$, корреляция Спирмана). Низкодифференцированные опухоли со-

держали окрашивание стромы в 73,9% случаев, а высокодифференцированные - только в 39,1% случаев (рисунок 2).

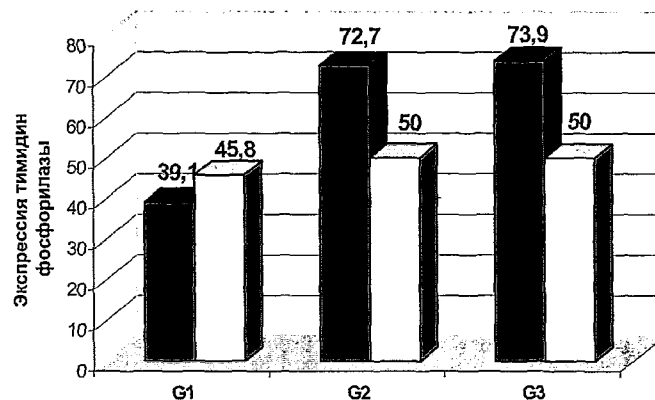


Рис. 2. Экспрессия тимидин фосфорилазы на опухолевых $\square$ и на стромальных $\square$ клетках в зависимости от дифференцировки опухоли

На рисунке 3 представлена зависимость экспрессии ТФ на стромальных клетках от размера остаточной опухоли.

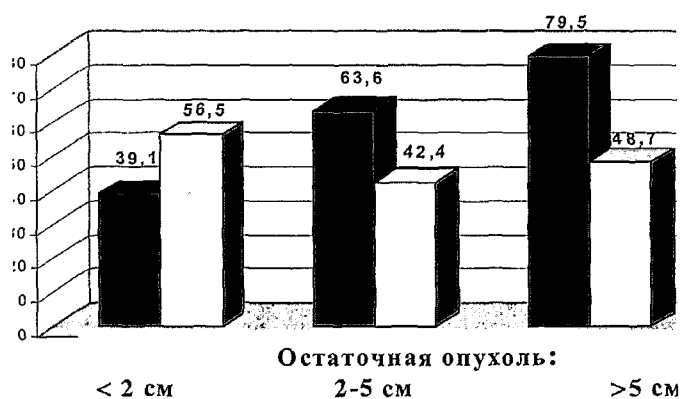


Рис. 3. Экспрессия тимидин фосфорилазы на опухолевых $\square$ и стромальных $\square$ клетках и размер остаточной опухоли.

Анализ экспрессии маркеров апоптоза у больных, имевших различную эффективность химиотерапии.

Проведен анализ экспрессии маркеров апоптоза у больных, имевших различную эффективность химиотерапии (таблица 2). Эффективность лечения оценивалась по уменьшению размера опухоли и длительности эффекта.

После 4-6 курсов химиотерапии 56 больных имели полную клиническую регрессию (ПР), 26 больных - частичную регрессию (ЧР), у 12 больных отмечено прогрессирование (ПРГ) на фоне лечения, 1 - стабилизация, у 1 больной эффект терапии не оценена. Эффективность платина-содержащих режимов (ПР+ЧР) составила 81%, а таксол-содержащих режимов - 97%.

Эффективность химиотерапии коррелировала с размером остаточной опухоли ($p=0,00058$), но не со стадией или степенью дифференцировки опухоли. Боль-

Таблица 2

Эффективность терапии в зависимости от экспрессии молекулярно-биологических маркеров

Маркер	Положительные случаи, %			Достоверность, p^1
	Полная ремиссия	Частичная ремиссия	Прогрессирование	
p53 полож.	57,1	51,9	41,7	0,6
Bcl-2 полож.	42,9	25,9	50,0	0,23
Вах полож.	62,5	51,9	33,3	0,16
Bcl-2/Вах соотношение				
< 1				0,40
= 1	46,4	40,7	25,0	
> 1	28,6	44,4	50,0	
	25,0	14,8	25,0	
FasL полож.	69,6	66,7	66,7	0,95
VEGF	64,3	66,7	58,3	0,9
ТФ опухоль	50,0	37,0	66,7	0,21
ТФ строма	62,5	70,4	58,3	0,7
Flt-1	33,3	48,1	33,3	0,4
Flk-1	29,6	33,3	16,7	0,6
Тромбоспондин	5,6	14,8	18,2	0,25

¹ – анализ связи различных характеристик опухоли и экспрессии маркеров проводился с помощью статистики.

ные, у которых остаточная опухоль была менее 2 см, имели более длительное время до прогрессирования после химиотерапии первой линии, чем те, у которых остаточная опухоль была более 5 см (медиана ВП составила 19 мес. и 12 мес. соответственно) (Рисунок 4а).

Отмечено, что больные, имевшие полный эффект от терапии, были чаще положительными по Вах (62,5% случаев), чем больные с прогрессированием во время I линии химиотерапии, где экспрессия Вах составила 33,3%. (таблица 1).

Размер остаточной опухоли и экспрессия Вах ассоциировались со временем до прогрессирования болезни. Вах положительные больные имели прогрессирование в 75,5% случаях (медиана времени до прогрессирования 17 мес.), а Вах отрицательные больные - в 86,8% случаев (медиана времени до прогрессирования 12 мес.) (Рисунок 4б).

Эффективность химиотерапии не зависела от экспрессии маркеров ангиогенеза.

Группа больных (18 человек) с большой остаточной опухолью (более 5 см) и отсутствием Вах имеет укороченное время до прогрессирования (прогрессирование наблюдалось у 83,3%, медиана времени до прогрессирования 11 мес.) по сравнению с группой (10 человек), имеющей малую остаточную опухоль и экспрессию Вах (прогрессирование наблюдалось у 50,0%, медиана времени до прогрессирования 24 мес.)

Размер остаточной опухоли по данным анализа является основным критерием, определяющим эффективность химиотерапии. Больные с большой остаточной опухолью имеют примерно в 3 раза выше риск укорочения времени до прогрессирования. Добавление дополнительного критерия - Вах не улучшало данных однофакторного статистического анализа.

Анализ показал, что среди больных с низкой пролиферативной активностью (Ki-67 менее 40%) экспрессия Вах имела тенденцию быть связанной с увеличением времени до прогрессирования больных ($p=0,085$). У

всех 4 больных Ki-67-/Вах- появилось прогрессирование в течение $9,9 \pm 2,6$ (медиана 8 мес.), тогда как из 9 Ki-67-/Вах+ больных прогрессирование наступило у 6 (66,7%) больных, среднее время до прогрессирования составило $26,5 \pm 7,0$ (медиана 14 мес.) У больных, положительных по Ki-67, такой закономерности не наблюдалось.

Таким образом, отсутствие Вах в ткани серозного рака яичников III-IV стадии является неблагоприятным фактором химиорезистентности. Другие маркеры апоптоза (p53, Bcl-2 и CD95L), ангиогенеза (VEGF, Flk-1, Flt-1, тимидин фосфорилаза, тромбоспондин) и Ki-67 не оказывали влияния на эффективность химиотерапии и время до прогрессирования больных.

В нашем исследовании показано, что экспрессия Вах у больных серозным раком яичников является благоприятным фактором прогноза. Больные, имеющие экспрессию Вах, имели лучший эффект от проводимой терапии (увеличивалась как частота полных ремиссий, так и время до прогрессирования) по сравнению с Вах отрицательными больными.

Как и в других исследованиях, мы нашли высокую экспрессию Вах и низкую экспрессию Bcl- при раке яичников. Отсутствие корреляции между Вах и p53 подтверждается и другими авторами [3]. Возможно, это связано с регуляцией синтеза Вах другими факторами.

На сегодняшний день накоплено достаточное количество доказательств роли апоптоз-связанных белков в лекарственной резистентности. Уменьшение экспрессии Вах связано с низким ответом на химиотерапевтические препараты больных раком молочной железы и яичников [4, 5]. Аденовирусная трансфекция гена Вах клеточной линии аденокарциномы яичников приводит к восстановлению селективной химиочувствительности на моделях голых мышей [6]. Экспрессия Вах рассматривается как благоприятный фактор прогноза безрецидивной выживаемости, но не общей выживаемости больных раком яичников [7, 8]. В нашем исследовании

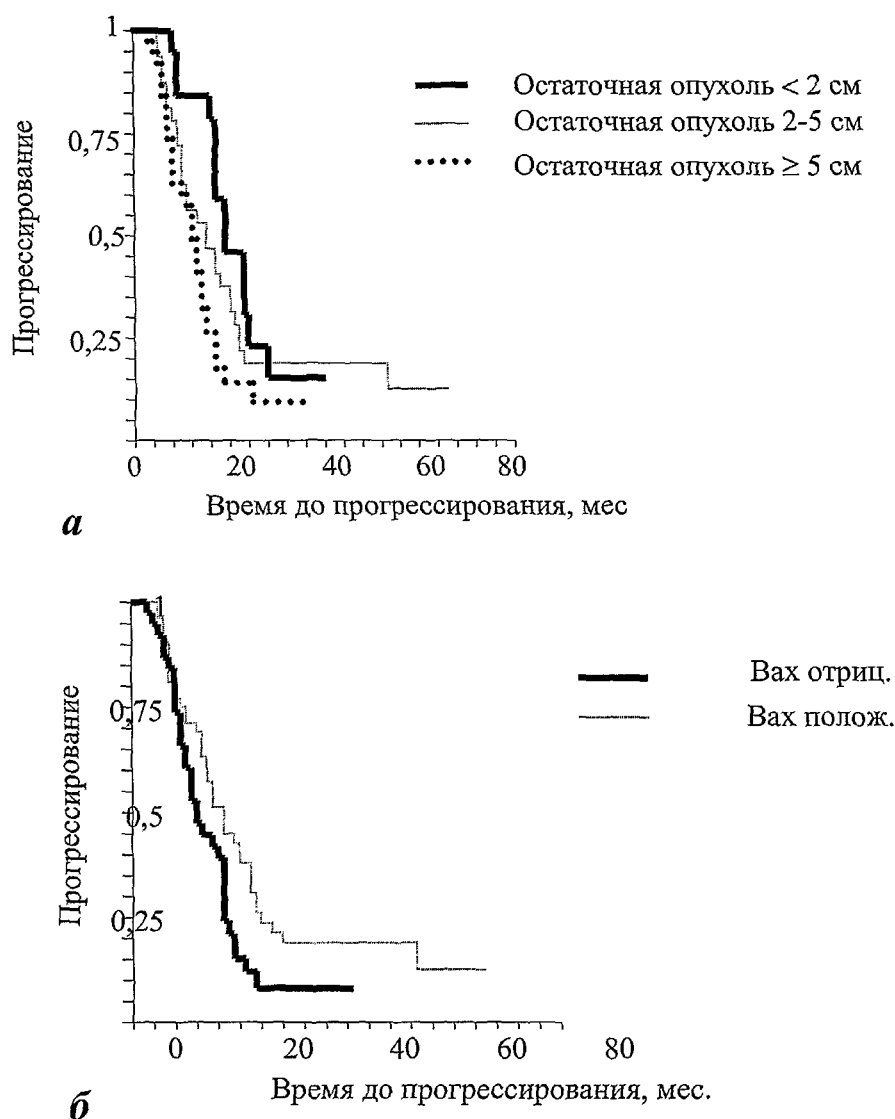


Рис. 4. Зависимость времени до прогрессирования от размера остаточной опухоли. (а) и экспрессии Вах (б)

довании экспрессия Вах предсказывала как безрецидивную, так и общую выживаемость больных раком яичников. Многие исследования показывают, что Vcl-2 не является прогностическим признаком при раке яичников [9]. Однако в небольшом числе исследований высокая экспрессия Vcl-2 являлась благоприятным прогностическим признаком по сравнению с отсутствием экспрессии [10]. По нашим данным присутствие p53 не влияло на эффективность химиотерапии, оцененной по клиническому уменьшению остаточной опухоли, время до прогрессирования и смерти.

Для лечения больных раком яичников практически всегда назначается адъювантная химиотерапия с использованием режимов, включающих производные платины или таксолов. Поэтому нельзя определенно сказать, на что влияет экспрессия Вах: на биологическое поведение опухоли (выживаемость больных независимо от вида проводимой химиотерапии) или на чувствительность опухолевых клеток к химиотерапии (вы-

живаемость больных является одним из критериев оценки адъювантной химиотерапии).

Тимидин фосфорилаза - один из ферментов участвующих в метаболизме пиримидинов. Тимидин фосфорилаза наиболее известна своей ролью в метаболизме Капецитабина - одного из новых цитостатиков антагонистов пиримидина, который является конечным звеном биотрансформации Капецитабина в 5-фторурацил. Не менее важным свойством тимидин фосфорилазы является влияние на ангиогенез [11]. Являясь одним из промоторов ангиогенеза, он стимулирует рост и хемотаксис эндотелиальных клеток. Кроме того, тимидин фосфорилаза предотвращает вступление эндотелиальных клеток в апоптоз. Уровень тимидин фосфорилазы в опухолевой ткани значительно выше, чем в нормальных тканях

В нашем исследовании мы не обнаружили прогностической значимости экспрессии тимидин фосфорилазы при раке яичников. Может быть важным факт, что повышенная экспрессия тимидин фосфорилазы обнаружена в 48% случаев, что делает обоснованным изучение Капецитабина в адъювантных режимах при ТФ+ТС-опухолях [12].

Недавние клинические исследования показывают, что экспрессия тимидин фосфорилазы ассоциирована с увеличением количества сосудов в опухоли и ангиогенным фенотипом опухолей различных типов. Тимидин фосфорилаза также является антиапоптотическим фактором. Ингибирование тимидин фосфорилазы значительно ингибирует ангиогенез и индуцирует апоптоз на мышиных моделях. Эти фундаментальные работы подчеркивают важность терапевтического ингибирования тимидин фосфорилазы.

Таким образом, определение экспрессии Вах является перспективным фактором прогноза для больных раком яичников.

Работа выполнена при поддержке федеральной программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники гражданского значения» в рамках проекта «Разработка новых методов лекарственной терапии больных злокачественными заболеваниями на основе анализа ангиогенных свойств опухоли».

ЛИТЕРАТУРА

1. Levine A.J. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. // *Cell*, 1997, **88**, P. 323-331.
2. Hanahan D. and Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. // *Cell*, 1996, **86**(3), P. 353-364.
3. Baekelandt M., Kristensen G.B., Nesland J.M., et al. Clinical significance of apoptosis-related proteins: p53, Mdm-2 and Bcl-2 in advanced ovarian cancer. // *J Clin Oncol*, 2000, **17**, P. 2061-2068.
4. Krajewski S., Blomqvist C., Franssila K., et al. Reduced expression of proapoptotic gene BAX is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast carcinoma. // *Cancer Res.*, 1995, **55**, P. 4471-4478.
5. Tai Y.T., Lee S., Niloff E., Weisman C., Strobel T., Cannistra S.A. BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer. // *J Clin Oncol*, 1998, **16**(8), P. 2583-2590.
6. Tai Y., Strobel T., Kufe D., et al. In vivo cytotoxicity of ovarian cancer cells through tumor-selective expression of the Bax gene. // *Cancer Res.*, 1998, **59**, P. 2121-2126.
7. Baekelandt M., Holm R., Nesland J.M., Trope C.G., Kristensen G.B. Expression of apoptosis-related proteins is an independent determinant of patient prognosis in advanced ovarian cancer. // *J Clin Oncol*, 2000, **18**(22), P. 3775-81.
8. Viale G., Maisonneuve P., Bonoldi E., Di Bacco A., Bevilacqua P., Panizzoni G.A., Radaelli U., Gasparini G. The combined evaluation of p53 and of ki-67 (MIB1) labeling index provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. // *Ann Oncol*, 1997, **8**(5), P. 469-476.
9. Henriksen R., Wilander E., Oberg K. Expression and prognostic significance of Bcl-2 in ovarian tumours. *Br J Cancer*, 1995, **73**(5), P. 1324-1329.
10. Sumizawa T., Fukukawa T., Haraguchi M., et al. Thymidine phosphorylase activity associated with platelet-derived endothelial cell growth factor. // *J. Biochem.*, 1993, **114**, P. 9 - 14.
11. Blum J.L. The role of capecitabine, an oral, enzymatically activated fluoropyrimidine, in the treatment of metastatic breast cancer. // *The Oncologist*, 2001, **6**, P. 56 - 64.