

## ОНКОЛОГИЯ

УДК 616

*А. И. Горелов, З. Н. Нариманян, Д. С. Горелов*

### ЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА КИ-67 В ПРОГНОЗЕ У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНЫМ РАКОМ

ФБ ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», медицинский факультет

Смертность от почечно-клеточного рака (ПКР) наиболее высокая среди всех злокачественных опухолей мочеполовой системы [1]. В России ежегодно от ПКР умирает более 8000 человек, что составляет 2,87% в структуре смертности от злокачественных опухолей [2]. К сожалению, на момент обращения к врачу примерно у одной трети пациентов имеются отдаленные метастазы. Лечение данной группы больных представляет сложную задачу ввиду рефрактерности ПКР к лучевой и химиотерапии [3]. С появлением таргетных препаратов активно стали разрабатываться вопросы стратификации пациентов по группам риска и последующим подбором индивидуальной терапии. Одним из критериев для решения подобных задач является прогноз заболевания пациента, который определяется различными факторами — клинико-лабораторными, анатомическими, гистологическими, молекулярно-генетическими. Предложено большое количество молекулярных маркеров, определение и включение которых в прогностические модели позволяет повысить их индекс конкордантности от 60% до 85% [4].

Ki-67 является ядерным протеином. Определение его экспрессии в качестве прогностического фактора доказано для ряда злокачественных образований, включая и ПКР [5–8]. Ki-67 представляет собой крупную белковую молекулу, около 360 кДа, которая активно экспрессируется в пролиферирующих эукариотических клетках (фаза клеточного цикла — G1, S, G2, M). До конца не определены точные функции этого белка несмотря на то, что он был открыт в 1983 г. Тем не менее Ki-67 широко используется как надежный индикатор оценки пролиферативной активности клеток. Иммуногистохимические исследования по оценке экспрессии Ki-67 с использованием, как правило, MIB-1 моноклональных антител применяются при изучении различных опухолей человека [9]. В ряде исследований по данным однофакторного и многофакторного анализов была доказана независимая корреляционная связь экспрессии Ki-67 и риском раковой прогрессии у пациентов с ПКР [5, 6, 8, 10–13]. В доступной литературе много данных, посвященных изучению прогностической значимости экспрессии Ki-67

у пациентов с метастатическим почечно-клеточным раком (мПКР), которым проводилось хирургическое лечение.

**Цель работы** — оценить влияние уровня экспрессии Ki-67 на выживаемость больных с мПКР.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 71 пациент (50 мужчин, 21 женщина, средний возраст составлял  $55,4 \pm 8,7$  лет) с метастатическим почечно-клеточным раком, которые проходили лечение с 2002 г. по 2009 г. в стационарах Санкт-Петербурга — ГМПБ № 2, ЛООД.

Таблица 1. Распределение больных по системе TNM

| Показатель                 | N (%)     |
|----------------------------|-----------|
| Общее количество пациентов | 71 (100)  |
| Т-критерий                 |           |
| T1                         | 8 (11,2)  |
| T2                         | 8 (11,2)  |
| T3                         | 46 (64,8) |
| T4                         | 9 (12,8)  |
| N-критерий                 |           |
| N1                         | 15 (21,1) |
| N2                         | 27 (38)   |
| N0                         | 27 (38)   |
| Nx                         | 2 (2,9)   |
| M-критерий                 |           |
| M1                         | 71 (100)  |
| Grade (G)                  |           |
| G1                         | 0         |
| G2                         | 15 (21,1) |
| G3                         | 37 (52,1) |
| G4                         | 19 (26,8) |

Таблица 2. Локализация метастазов

| Локализация метастазов  | N  |
|-------------------------|----|
| Легкие                  | 46 |
| Кости                   | 14 |
| Печень                  | 13 |
| Надпочечник             | 11 |
| Отдаленные л. у.        | 7  |
| Местный рецидив         | 6  |
| Плевра                  | 5  |
| Контралатеральная почка | 2  |
| Головной мозг           | 2  |
| Поджелудочная железа    | 1  |
| Диафрагма               | 1  |
| Мягкие ткани            | 1  |

Таблица 3. Количественная и временная характеристики метастазов

| Показатель                 | N (%)     |
|----------------------------|-----------|
| Общее количество пациентов | 71 (100)  |
| Количество метастазов      |           |
| Солитарные                 | 16 (22,5) |
| Единичные (2–5)            | 26 (36,6) |
| Множественные (>5)         | 29 (40,9) |
| Время появления метастаза  |           |
| Синхронные (<3 мес)        | 57 (80,3) |
| Метахронные (>3 мес)       | 14 (19,7) |

Распределение пациентов по системе TNM приведено в таблице 1. Наиболее часто выявлялись больные со стадией pT3 (64,8%) и N+ (59,1%). У всех пациентов гистологически верифицирован светлоклеточный ПКР, преобладали больные с высокой степенью злокачественности опухоли — G3 –G4 (78,9%) [14, 15]. Локализация и ха-

рактер метастазирования отображены в таблицах 2 и 3. Отдаленные метастазы чаще обнаруживали в легких, костях, печени. Преобладал синхронный характер поражения (80,3%). Солитарные метастазы определялись реже — в 22,5% случаев, нежели единичные и множественные (36,6% и 40,9% соответственно).

Всем пациентам проводилась циторедуктивная нефрэктомия, из них 29 — метастазэктомия различной локализации (метастазэктомия/резекция легких — 9, удаление надпочечника с метастазом — 7, удаление местного рецидива — 5, резекция контралатеральной почки — 1, резекция ребер — 1, плеврэктомия — 2, лимфаденэктомия (паравerteбральные / внутригрудные л. у.) — 2, резекция поджелудочной железы — 1, удаление метастаза головного мозга — 1).

Иммуногистохимическое исследование проводилось на парафинированных блоках опухолей почки, полученных после проведения циторедуктивной нефрэктомии. Демаскировка антигенов выполнялась с помощью цитратного буфера (Dako Cytomation, USA). Выявление экспрессии Ki-67 осуществлялось с помощью кроличьих моноклональных антител к Ki-67 (MKI67 SP6, Eptomics, Inc., США) в разведении 1:200. Экспрессия маркера оценивалась как доля позитивно окрашенных ядер клеток в препарате. Уровень экспрессии колебался от 0% до 100%. Экспрессия более 10% принималась как высокая, а ниже 10% — низкая [16].

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета программ Statistica 6.0 и SPSS v.17.

**Результаты и обсуждение.** При сравнении групп пациентов с разным уровнем экспрессии Ki-67 по клинко-лабораторным показателям установлено, что группы однородны, достоверных отличий по сравниваемым критериям не было ( $p = 0,058$ ). Распределение больных в зависимости от уровня экспрессии Ki-67 и характера проведенного оперативного лечения приведены в таблице 4.

Таблица 4. Уровень экспрессии Ki-67 и объем оперативного лечения

| Вид лечения | Ki-67 $\leq 10\%$ | Ki-67 $>10\%$ |
|-------------|-------------------|---------------|
| НЭ          | 23                | 19            |
| НЭ+МЭ       | 19                | 10            |
| Всего       | 42                | 29            |

Экспрессия маркера Ki-67 отмечена во всех случаях. Определена взаимосвязь уровня экспрессии маркера Ki-67 с количеством метастазов. Экспрессия  $>10\%$  достоверно ассоциировалась с множественным метастазированием ( $\chi^2 = 7,27$ ;  $p = 0,007$ ), в то время как при наличии солитарных и единичных метастазов наблюдалась низкая экспрессия маркера Ki-67 ( $<10\%$ :  $\chi^2 = 3,923$ ;  $p = 0,048$ ). При этом высокий уровень экспрессии Ki-67 увеличивает риск наличия множественных метастазов в 3,9 раза (ОШ=3,938; ДИ 1,421–10,919;  $\chi^2 = 5,982$ ;  $p = 0,014$ ).

Не получено достоверных связей между временной характеристикой метастазирования (синхронность/метахронность) и высоким уровнем Ki-67 ( $p = 0,937$ ).

В группе больных с низкой экспрессией Ki-67 ( $<10\%$ ) медиана выживаемости после только нефрэктомии составила 32 месяца, а у больных, которым после нефрэктомии производилась метастазэктомия — 42 месяца.

У пациентов с высоким уровнем экспрессии Ki-67 (>10%) медиана выживаемости после только нефрэктомии составила 6,5 месяца, а у больных, которым после нефрэктомии выполнялась метастазэктомия — 3,5 месяца.

Оценивая достоверность отличий кумулятивной выживаемости при низком уровне экспрессии Ki-67 и в зависимости от объема оперативного лечения выявлено достоверное увеличение выживаемости пациентов, которым проводилась нефрэктомия с метастазэктомией в сравнении с пациентами, которым выполнена только нефрэктомия ( $p = 0,001$ ) (рис. 1). При высоком уровне Ki-67 выживаемость сравниваемых групп достоверно не отличалась ( $p = 0,082$ ) (рис. 2).

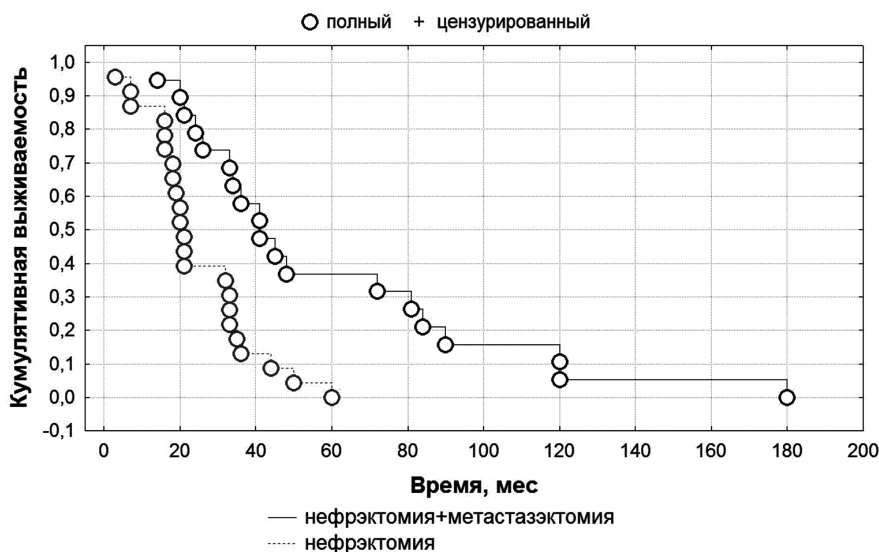


Рис. 1. Выживаемость пациентов в зависимости от объема оперативного лечения при низкой экспрессии Ki-67 (метод Kaplan—Meier log-rank test  $p = 0,001$ )

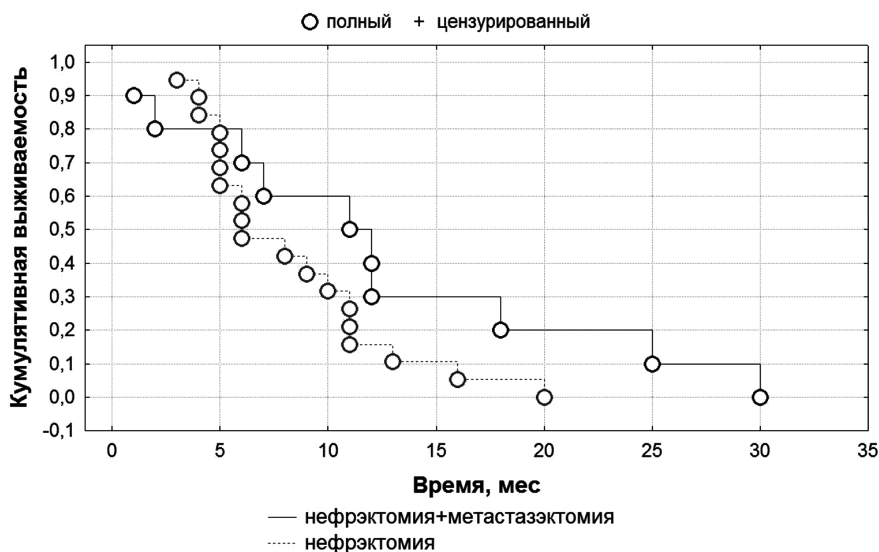


Рис. 2. Выживаемость пациентов в зависимости от объема оперативного лечения при высокой экспрессии Ki-67 (метод Kaplan—Meier log-rank test  $p = 0,082$ )

При высокой экспрессии Ki-67 выживаемость пациентов достоверно уменьшается ( $\chi^2 = 12,54$ ;  $p = 0,001$ ). По данным параметрического корреляционного анализа установлена отрицательная взаимосвязь уровня экспрессии Ki-67 и выживаемости пациентов после выполнения нефрэктомии ( $r = -0,4391$ ;  $p = 0,0001$ ) и нефрэктомии в сочетании с метастазэктомией ( $r = -0,3157$ ;  $p = 0,007$ ).

Множественный регрессионный анализ выявил две переменные, влияющие на выживаемость пациентов, которым проводилась нефрэктомия, а именно: уровень Ki-67 и СОЭ ( $R^2 = 0,299$ ;  $p = 0,003$ ). На основании результатов регрессионного однофакторного анализа установлено влияние именно экспрессии Ki-67 на выживаемость больных, перенесших нефрэктомию с метастазэктомией ( $R^2 = 0,099$ ;  $p = 0,01$ ).

Почечно-клеточный рак — гетерогенное заболевание, течение которого непредсказуемо при распространенном процессе, а подчас и при локализованном. Наиболее важными прогностическими параметрами являются патогистологические характеристики — T, N, M и Grade [17].

Ведется поиск и проводятся исследования по определению значимости молекулярных маркеров в прогнозе пациентов. Мы остановили внимание на маркере Ki-67, который показал эффективность в прогнозе у пациентов с локализованным опухолевым процессом. Так, в исследованиях Aaltomaa S. и соавт. [18] экспрессия Ki-67 коррелировала с выживаемостью ( $p = 0,0016$ ) и периодом без прогрессирования ( $p = 0,0067$ ). По данным однофакторного анализа в работах Visapää H и соавт. установлено, что высокая экспрессия Ki-67 является плохим прогностическим фактором и снижает раково-специфическую выживаемость ( $p = 0,0006$ ) [19]. По данным Kankuri M. и соавт. [20], уровень Ki-67 был достоверно выше у пациентов с метастатическим ПКР, нежели при локализованном. В этом же исследовании установлено, что медиана выживаемости у пациентов с мПКР при низкой экспрессии Ki-67 составила 63 месяца, при высокой — 24 месяца. При этом различия между этими двумя группами были достоверны ( $p = 0,031$ ) [20].

В нашем исследовании выявлены достоверные отличия выживаемости пациентов с мПКР, которым проводилось оперативное лечение разного объема (нефрэктомия/ нефрэктомия+метастазэктомия) при низком уровне экспрессии Ki-67. При высокой экспрессии Ki-67 достоверных отличий не получено.

По данным проведенного исследования установлено, что распространенность метастатического процесса взаимосвязана с экспрессией Ki-67. При множественных метастазах экспрессия Ki-67 достоверно выше по сравнению с больными с солитарными и единичными метастазами.

Проведение метастазэктомии пациентам, у которых после выполнения нефрэктомии установлена высокая экспрессия Ki-67, не приводит к достоверному увеличению выживаемости, а следовательно, нецелесообразна.

## Литература

1. Lam J. S., Belldegrun A. S., Figlin R. A. Tissue array-based predictions of pathobiology, prognosis, and response to treatment for renal cell carcinoma therapy // Clin Cancer Res. 2004. Vol. 10:6304S-6309S.
2. Чиссов В. И., Старинский В. В., Петрова Г. В. Злокачественные новообразования в России в 2007 году. М., 2008.
3. Mekhail T. M., Abou-Jawde R. M., Boucher G. et al. Validation and extension of the Memorial

Sloan-Kettering prognostic factors model for survival in patients with previously untreated metastatic renal cell carcinoma // *J Clin Oncol*. 2005. Vol. 23. P. 832–841.

4. *Galfano A., Novara G., Iafrate M.* et al. Mathematical models for prognostic prediction in patients with renal cell carcinoma // *Urol Int*. 2008. Vol. 80. P. 113–23.

5. *Dudderidge T. J., Stoeber K., Loddo M.* et al. Mcm2, Geminin, and KI67 define proliferative state and are prognostic markers in renal cell carcinoma // *Clin Cancer Res*. 2005. Vol. 11. P. 2510–2517.

6. *Kallio J. P., Hirvikoski P., Helin H.* et al. Renal cell carcinoma MIB-1, Bax and Bcl-2 expression and prognosis // *J Urol*. 2004. Vol. 172 (6 Pt 1). P. 2158–2161.

7. *Lam J. S., Shvarts O., Said J. W.* et al. Clinicopathologic and molecular correlations of necrosis in the primary tumor of patients with renal cell carcinoma // *Cancer*. 2005. Vol. 103. P. 2517–2525.

8. *Bui M. H., Visapaa H., Seligson D.* et al. Prognostic value of carbonic anhydrase IX and KI67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma // *J Urol*. 2004. Vol. 171 (6 Pt 1). P. 2461–2466.

9. *Gerdes J., Becker M. H., Key G., Cattoretti G.* Immunohistological detection of tumor growth fraction (Ki-67 antigen) in formalin-fixed and routinely processed tissues // *J Pathol*. 1992. Vol. 168. P. 85–86.

10. *Cheville J. C., Zincke H., Lohse C. M.* et al. pT1 clear cell renal cell carcinoma: a study of the association between MIB-1 proliferative activity and pathologic features and cancer specific survival // *Cancer*. 2002. Vol. 94. P. 2180–2184.

11. *Lehmann J., Retz M., Nurnberg N.* et al. The superior prognostic value of humoral factors compared with molecular proliferation markers in renal cell carcinoma // *Cancer*. 2004. Vol. 101. P. 1552–1562.

12. *Kramer B. A., Gao X., Davis M.* et al. Prognostic significance of ploidy, MIB-1 proliferation marker, and p53 in renal cell carcinoma // *J Am Coll Surg*. 2005. Vol. 201. P. 565–570.

13. *Yildiz E., Gokce G., Kilicarslan H.* et al. Prognostic value of the expression of Ki-67, CD44 and vascular endothelial growth factor, and microvessel invasion, in renal cell carcinoma // *BJU Int*. 2004. Vol. 93. P. 1087–1093.

14. *Kovacs G., Akhtar M., Beckwith B. J.* et al. The Heidelberg classification of renal cell tumors // *J Pathol*. 1997. Vol. 183. P. 131–133.

15. *Sobin L., Wittekind C.* TNM Classification of Malignant Tumors, 6th ed. John Wiley & Sons, 2002.

16. *Olumi A. F., Weidner N., Presti J. C.* P53 immunoreactivity correlates with Ki-67 and bcl-2 expression in renal cell carcinoma // *Urol Oncol*. 2001. Vol. 6. P. 63–67.

17. *Tsui K. H., Shvarts O., Smith R. B.* et al. Prognostic indicators for renal cell carcinoma. A multivariate analysis of 643 patients using revised 1997 TNM staging criteria // *J Urol*. 2000. Vol. 163. P. 1090–1095.

18. *Aaltomaa S., Lipponen P., Ala-Opas M.* et al. Prognostic value of ki-67 expression in renal cell carcinomas // *Eur Urol*. 1997. Vol. 31 (3). P. 350–5.

19. *Visapää H., Bui M., Huang Y.* et al. Correlation of ki-67 and gelsolin expression to clinical outcome in renal cell carcinoma // *Urology*. 2003. Vol. 61 (4). P. 845–850.

20. *Kankuri M., Söderström K., Pelliniemi T. T.* et al. The association of immunoreactive p53 and Ki-67 with T-stage, grade, occurrence of metastases and survival in renal cell carcinoma // *Anticancer Research*. 2006. Vol. 26. P. 3825–3834.

Статья поступила в редакцию 20 марта 2012 г.