

УДК 616-006:576.385.5:615.277.3

АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНИХ МАРКЕРІВ В ОЦІНЦІ ДИНАМІКИ ТА ПРОГНОЗІ РАКУ ШЛУНКА

Живоложний А.Ю.

ННЦ «Інститут біології»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Максева О.М., Шейн А.В.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

У статті наведено огляд експериментальних даних щодо значення окремих біологічних маркерів в динаміці раку шлунку. Показано, що показники СЕА, СА 19-9, VEGF, PCNA, p53 залежать від ступеню проникнення пухлини в стінку шлунку та її розміру, стадії процесу. Показано відсутність достовірної кореляції передопераційної концентрації VEGF з виживанням хворих. Показано тенденцію до збільшення частоти мутацій p53 відповідно до проникнення пухлинних клітин в оточуючих тканинах. Показано значення біологічних маркерів для прогнозу раку шлунку.

Ключові слова: рак шлунку, злоякісні пухлини, біологічні маркери, СЕА, СА 19-9, VEGF, PCNA, p53.

Постановка проблеми. Рак шлунку – одне з найбільш широко поширених онкологічних захворювань, що володіють високою летальністю. Щорічно в світі реєструється 989,6 тисяч нових хворих на рак шлунку та 738 тисяч смертей від цього злоякісного новоутворення. Вважається, що визначення онкомаркерів дозволяє виявити групи підвищеного ризику розвитку раку, вказати передбачуваний джерело пухлини у пацієнтів з запущеними формами захворювання, діагностувати рецидивного лікування і контролювати ефективність терапії.

Проблема прогнозування результату хвороби і вибору адекватних схем терапії, вважається першорядною в клінічній практиці. Вирішенню цієї проблеми може сприяти визначення комплексу онкомаркерів, що дозволяють збільшити ефективність діагностики та лікування хворих на рак шлунку.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. До проблематики дослідження біологічних маркерів у хворих на рак шлунку зверталися такі науковці як О. Бондарук, А. Бурлака, Ю. Жуков, О. Колеснік, А. Лукашенко, Д. Мечев, О. Москалець, Д. Розумій,

І. Щепотін, О. Щербіна та інші. Віддаючи належне внеску попередників, відзначимо, що розвиток даної проблематики відбувається із кожним наступним експериментальним дослідженням, тож огляд та узагальнення їх результатів сприяє накопиченню сучасних знань щодо динаміки біологічних маркерів у хворих на рак шлунку.

Цілі статті полягають у вивченні літератури, присвяченої експериментальним дослідженням ролі біологічних маркерів у пацієнтів з раком шлунку з метою оцінки динаміки та прогнозу захворювання.

Виклад основного матеріалу дослідження. Процес канцерогенезу супроводжується зміною властивостей клітин і появою пухлинно-специфічних і пухлинно-асоційованих диференціюючих антигенів [4]. Для посилення якості діагностики на ранніх стадіях найбільш ефективним є застосування комплексу різних онкомаркерів, оскільки різнобічність обстеження дозволяє забезпечити отримання вірогідніших результатів. У хворих на рак шлунку визначалося залежне від стадії пухлинного процесу підвищення сироваткових концентрацій раково-ембріонального антигену (СЕА), канцерного антигену 19-9 (СА 19-9), фактор росту ендотелію судин (VEGF). Зазначені онкомаркери характеризуються високою чутливістю, специфічністю і діагностичною цінністю при раку шлунку.

Встановлено залежність між частотою виявлення СЕА в клітинах пухлини та гістологічним типом захворювання: при високо- і низько диференційованій аденокарциномі – в 50% випадків, при помірно диференційованій – в понад 80%, при недиференційованій – в менш ніж 30% [2].

Другим за частотою визначення при раку шлунку є канцерний антиген 19-9 (СА 19-9). Є дані про те, що одночасне підвищення рівня СЕА (вище 3,75 нг/мл) і СА 19-9 вказує на метастазування раку шлунку з ймовірністю більше 80% і в переважній більшості випадків збігається з наявністю у хворих віддалених метастазів [7].

Відомо, що для зростання пухлини і розвитку метастазів є необхідним утворення нових капілярів. Ключовим активатором неангіогенезу є фактор зростання ендотелію судин (VEGF – vascular endothelial growth factor), який впливає на утворення та виживання незрілих кровоносних судин шляхом стимуляції росту ендотеліальних клітин судин і їх проліферації у напрямку до пухлини. Зазначені ефекти досягаються зв'язуванням і активацією за аутокринним механізмом мембранних тірозінкіназних рецепторів, які експресуються клітинами ендотелію стінки кровоносних судин [5; 14].

Рядом дослідників показано, що в пухлини шлунку кишкового типу частота експресії VEGF є вищою, а кількість судин – більшою, і на відміну від дифузного типу між цими показниками існує кореляція [1]. В інших роботах було встановлено залежність рівня VEGF в сироватці крові хворих на рак шлунку від стадії пухлинного процесу, розмірів пухлини, наявності віддалених метастазів. При цьому достовірної кореляції передопераційної концентрації VEGF з виживанням хворих не було виявлено [6].

Визначення клітинної проліферативної активності клітин дає важливу інформацію щодо

діагностики і прогнозу деяких типів пухлин. Посилення клітинного ділення може бути одним із перших індикаторів пухлинної трансформації, яка призводить до розвитку раку. Актуальним на даний момент є імуногістохімічний аналіз білків, які експресуються під час клітинного циклу. Одними з таких білків є ядерний антиген проліферуючих клітин (PCNA) та білок p53.

Фактором, який прискорює дію репараційної ДНК-полімерази дельта, є ядерний антиген проліферуючих клітин. Його молекулярна маса 36kDa прискорює процесивність ДНК-полімерази дельта, а це визначає загальну швидкість реплікації ДНК клітини протягом S-фази клітинного циклу [23]. Білок PCNA вперше виділений К. Miyachi et al. в 1978 р з сироватки крові хворих на системний червоний вовчак [20]. PCNA здійснює пряму роль в синтезі ДНК, діє як координатор безлічі різних функцій, включаючи репарацію ДНК, попередження ДНК від пошкодження, участь в контролі клітинного циклу, збірці хроматину. Незважаючи на те, що PCNA – це ядерний білок, деякі роботи розглядають можливість дії PCNA в цитоплазматичному і позаклітинному просторі, де він впливає на апоптоз [26] і гліколіз [21], а також впливає на NK-клітини [24]. Тож є підстави припускати, що PCNA може слугувати маркером для визначення ступеню агресії пухлинного процесу, зокрема, при раку шлунку.

Білок p53 відкритий в 1979 р D. Lane і L. Crawford. Цей білок кодує ген tp53, який позначається як ген пухлинної супресії. Цей ген може мутувати і викликати різні пухлини. У здорових клітинах білок p53 швидко розпадається і не може бути визначений імуногістохімічно. Мутації гена p53 підвищують стабільність кодового білка [22], тому білок p53 зручно вивчати в пухлинних клітинах. Крім того, вважається, що позитивна імуногістохімічна реакція на білок p53 зумовлена виявленням саме мутантного протеїну p53.

Білок PCNA і P53 досліджувалися в багатьох роботах. Так, у праці [17] було виявлено проліферативну активність злоякісних пухлин шлунку з використанням імуногістохімічних маркерів PCNA і індексу проліферативної активності Ki-67. При цьому автори показали, що у пацієнтів з інвазією пухлини в м'язовому шарі показники PCNA були значно вищими, ніж при інвазії пухлини в слизовому і підслизовому шарах. Крім того, показники маркера PCNA ставали вищими з кожною наступною стадією пухлинного процесу.

Інші дослідники констатують наявність зв'язку між експресією PCNA в пухлині, віком, належністю до чоловічої статі, великими розмірами пухлини, гістологічною структурою пухлини, згідно з класифікацією Vormann. При кишковому типі раку шлунку відзначений вищий рівень експресії PCNA, ніж при дифузному [16]. Рівень PCNA може підвищуватися зі стадією раку шлунку і залученням в пухлинний (метастатичний) процес регіонарних лімфатичних вузлів [19].

Така ж динаміка спостерігається з маркерами Ki-67 та PCNA при раку шлунку з метастазами в регіонарні лімфатичні вузли. Проте залежність між динамікою Ki-67 та PCNA є сумнівною. Так, на основі імуногістохімічного аналізу 45 пухлин хворих на рак шлунку не виявлено взаємозв'язку між експресією Ki-67 і PCNA, віком пацієнтів і

локалізацією новоутворення. А класифікацією Lauren у переважній кількості випадків при раку шлунку кишкового типу експресія PCNA не було визначено взагалі [10].

У роботі S.-C. Wang (2014 року) всебічно розглянуто механізми впливу агентів на тирозин 114, тирозин 211, міждоменну сполучну спіраль, лізин 164 – складові частини ядерного антигену проліферуючих клітин [25].

У дослідженні [9] проведено порівняльний аналіз ядерного антигену проліферуючих клітин за матеріалами хворих червоним плоским лишаям, епітеліальною дисплазією і плоскоклітинним раком порожнини рота. Встановлено, що цей білок було виявлено в більшій половині випадків при червоному плоскому лишай (58,3%), в 83,3% при епітеліальної дисплазії і в 91,67% при плоскоклітинному раку ротової порожнини. Наведені дані можуть вказувати про менший ризик пухлинної трансформації при захворюванні пацієнта на ці передракові захворювання.

Експресія окремих біологічних маркерів може бути змінюватися залежно від форми злоякісного новоутворення. Зокрема, рівень експресії p53 є вищим при поверхневих плоских і виразкоподібних пухлинах, ніж при грибоподібних або поліповидних формах. Разом з тим, результати спостережень вказують на те, що надлишковий рівень експресії дезамінази, індукований активацією, не пов'язується достовірно з показниками p53 [11].

В цілому результати узагальнення літературних джерел дозволяють стверджувати, що частота мутації p53 підвищується у випадках локалізації пухлини в кардіальному відділі порівняно з дистальними відділами шлунку. Мутації гена виявляють в метастазах пухлини шлунку частіше, ніж в первинних пухлинах. Високий відсоток мутацій гена p53 виявлено при високодиференційованій дисплазії і метоплазії шлункового епітелію [15].

В інших дослідженнях знаходимо різноманітні, та, іноді, взаємодоповнюючі дані про прояви динаміки біологічних маркерів. Так, у праці [13]

при дослідженні матеріалу 119 хворих на рак шлунку не виявили достовірного зв'язку між експресією циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) і p53 зі стадією, ураженням регіонарних лімфатичних вузлів і віддаленими метастазами. Однак помічено, що експресія COX-2 і p53 пов'язана з глибиною пухлинної інвазії ($p = 0,005$).

Дослідження [12] показали зв'язок між білком p53 і глибиною інвазії пухлини шлунку і відсутність зв'язку між експресією цього білку та виживання хворих [16]. Цей результат підтверджується й іншими спостереженнями. При вивченні рівня експресії p53 в матеріалі пухлини шлунку з 26 радикально прооперованих хворих виявлено тенденцію до збільшення значення p53 зі збільшенням рівня інвазії стінки пухлини. У пацієнтів у віці старшому від 65 років експресія p53 в кілька разів є вищою, ніж у хворих до 65 років [8]. Інша група дослідників виявила, що підвищення показників рівня білка p53 є характернішим для кишкового типу раку шлунку, ніж для дифузного [12].

А.Ф. Лазарев з співавт. (2010) досліджували ряд маркерів (Ki-67, PCNA, p53) в матеріалах 68 хворих, оперованих з приводу раку шлунку та спостережуваних протягом 12 років. При цьому показники виживаності хворих статистично значимо вищі при низькій експресії PCNA (менше 60%) з достовірністю $p < 0,05$. Зв'язку із тривалістю післяопераційного виживання і рівнем експресії p53 не виявлено [3].

Висновки та перспективи подальших досліджень. Отже, в даний час значення біологічних маркерів SEA, CA 19-9, VEGF, PCNA, p53 при раку шлунку всебічно вивчається. Більшість дослідників оцінюють їх вплив на виживаність хворих, глибину інвазії пухлини, ступінь диференціювання, вік та інші параметри. Слід очікувати, що ці та подібні дослідження сприятимуть якісним змінам тактики ведення оперованих хворих з приводу раку шлунку, які враховуватимуть сучасні дані про біологічні механізми впливу перебігу пухлинного процесу.

Список літератури:

1. Василенко И. В. Паренхиматозностромальные взаимоотношения в опухолях и их особенности при раке желудка кишечного и диффузного типа / И. В. Василенко, Р. Б. Кондратюк // Онкология. – 2006. – № 1. – С. 7-12.
2. Иммуноморфология опухолевых маркеров при хроническом гастрите и раке желудка / Ю. В. Крылов [и др.] // Журнал иммунопатологии, аллергологии, инфектологии. – 2005. – № 3. – С. 13-19.
3. Особенности маркеров Ki-67, PCNA, p53 и активности неоангиогенеза в прогнозе рака желудка / А. Лазарев [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – № 9. – С. 117-122.
4. Тюреева И. И. Опухолевые антигены // Цитология. – 2008. – № 3. – С. 189-208.
5. Уровень фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови больных раком желудка / С.П. Меренцев [и др.] // Онкология. – 2007. – № 1. – С. 21-24.
6. Уровень фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови больных раком желудка / С. П. Меренцев [и др.] // Онкология. – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 21-24.
7. Хрыков Г. Н. Роль опухолевых маркеров в диагностике метастазов рака желудка и толстой кишки: автореф. дисс. ... к.м.н.: 14.00.27 / Г. Н. Хрыков. – СПб. – 2008. – 16 с.
8. Экспрессия белка p53 в опухолях больных раком желудка / Чанг В. [и др.]. – Перспективы развития науки и образования: сборник материалов Междунар. науч.-практ. конф.: в 5 ч. – М., 2014. – Ч. 1. – С. 54-56.
9. Comparative analysis of cell proliferation ratio in oral lichen planus, epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma / F. A. De Sousa [et al.] // Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal. – 2009. – № 14. – Pp. 563-567.
10. Czyzewska J. Evaluation of proliferating markers Ki-67, PCNA in gastric cancers / J. Czyzewska [et al.] // Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku. – 2004. – № 49. – Pp. 64-66.
11. Expression of AID, p53 and Mlh1 proteins in endoscopically resected differentiated-type early gastric cancer / Y. Takeda [et al.] // World J. Gastrointest. Oncol. – 2012. – № 4. – Pp. 131-137.
12. Expression of Cyclooxygenase-2, p53 and Ki-67 in Gastric Cancer / W.-S. Lee [et al.] // J. Korean Med. Sci. 2006. V. 21 (5). – P. 871-876.
13. Expression of Cyclooxygenase-2, p53 and Ki-67 in gastric cancer / Y.-E. Joo [et al.] // J. Korean Med. Sci. – 2006. – № 21. – Pp. 871-876.

14. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is an independent prognostic indicator of worse outcome in gastric cancer patients / E. Lieto [et al.] // *Ann. Surg. Oncol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 69-79.
15. Immunochemical and Molecular-Genetic Markers in Diagnostic of Gastic Cancer / E.P. Elistratova [et al.] // *Bio-med. khim.* – 2009. – № 55. – Pp. 15-31.
16. Prognostic significance of p53, nm23, PCNA and c-erbB-2 in gastric cancer / K. E. Lee [et al.] // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2003. – № 33. – P. 173-179.
17. Maedera K. Proliferating cell nuclear antigen labeling index of preoperative biopsy specimens in gastric carcinoma with special reference to prognosis / K. Maedera [et al.] // *Cancer.* – 1994. – № 73. – Pp. 528-533.
18. McCormick D. The complexities of proliferating cell nuclear antigen / D. McCormick, P. A. Hall // *Histopathology.* – 1992. – № 21. – Pp. 591-543.
19. Microvessel count, proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 indices in gastric adenocarcinoma / G. O. Elpek [et al.] // *Pathol. Oncol. Res.* – 2000. – № 6 (1). – P. 59-64.
20. Miyachi K. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells / K. Miyachi [et al.] // *J. Immunol.* – 1978. № 121. – Pp. 2228-2234.
21. Naryzhny S. Proliferating cell nuclear antigen in the cytoplasm interacts with components of glycolysis and cancer / S. Naryzhny, H. Lee // *FEBS Lett.* – 2010. – № 584. – Pp. 4292-4298.
22. Ogden G. P53 protein in odontogenic cysts: increased expression in some odontogenic keratocysts / G. Ogden [et al.] // *J Clin. Pathol.* – 1992. – № 45. – Pp. 1007-1010.
23. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms / P. A. Hall [et al.] // *J. Pathol.* – 1990. – № 162. – Pp. 285-294.
24. Proliferating cell nuclear antigen is a novel inhibitory ligand for the natural cytotoxicity receptor NKp44 / B. Rosenthal [et al.] // *J. Immunol.* – 2011. – № 187. – Pp. 5693-5702.
25. Wang S.-C. PCNA: a silent housekeeper or a potential therapeutic target // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2014. – № 35. – P. 178-186.
26. Witko-Sarsat V. Proliferating cell nuclear antigen acts as a cytoplasmic platform controlling human neutrophil survival / V. Witko-Sarsat [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2010. – № 207. – Pp. 2631-2645.

Живоложний А.Ю.

УНЦ «Института биологии»

Киевского национального университета имени Тараса Шевченко

Макеева О.Н., Шейн А.В.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ОЦЕНКЕ ДИНАМИКИ И ПРОГНОЗЕ РАКА ЖЕЛУДКА

Аннотация

В статье приведен обзор экспериментальных данных о значении отдельных биологических маркеров в динамике рака желудка. Показано, что показатели СЕА, СА 19-9, VEGF, PCNA, p53 зависят от степени проникновения опухоли в стенку желудка и ее размера, стадии процесса. Показано отсутствие достоверной корреляции предоперационной концентрации VEGF с выживанием больных. Показано тенденцию к увеличению частоты мутаций p53 по мере распространения опухолевых клеток в окружающих тканях. Показано значение биологических маркеров для прогноза рака желудка.

Ключевые слова: рак желудка, злокачественные опухоли, биологические маркеры, СЕА, СА 19-9, VEGF, PCNA, p53.

Zhyvolozhnyy A.Yu.

Educational and Scientific Centre of Institute of Biology
of Taras Shevchenko National University of Kyiv

Makeeva O.N., Shein A.V.

O.O. Bogomolets National Medical University

ANALYSIS OF BIOLOGICAL MARKERS IN THE ASSESSMENT OF THE DYNAMICS AND FORECASTING OF A STOMACH CANCER

Summary

The article provides an overview of the experimental data about the importance of certain biomarkers in the dynamics of gastric cancer. It is shown that CEA, CA 19-9, VEGF, PCNA, p53 depend on the level of penetration into the tumor of the stomach wall and its size, stage of the pathological process. It also shows no significant correlation of preoperative concentrations of VEGF with the survival of patients. It is shown a tendency to increase the frequency of mutation of p53 with the spread of tumor cells into the surrounding tissues. It is shown the importance of biological markers for the prognosis of gastric cancer.

Keywords: stomach cancer, malignant tumor, biological markers, CEA, CA 19-9, VEGF, PCNA, p53.