

© О. О. ГАЛАЙ, Р. В. ГУЛЕЙ, О. А. ПЕТРОНЧАК

Львівський державний онкологічний регіональний лікувально-діагностичний центр

Аналіз експресії онкобілка bcl-2 в плоскоклітинних раках слизової порожнини рота і ротоглотки

О. О. HALAY, R. V. HULEY, O. A. PETRONCHAK

Lviv State Regional Oncological Diagnostical and Medical Center

ANALYSIS OF THE RESULTS OF DETERMINING THE LEVEL OF EXPRESSION OF BCL-2 IN SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF ORAL CAVITY AND OROPHARINX

Проаналізовано результати визначення рівня експресії bcl-2 (клон 100/D 5) у 130 хворих із місцево розповсюдженим плоскоклітинним раком слизової порожнини рота (СПР) і ротоглотки (РГ) з III–IV стадією. У хворих на рак СПР і РГ визначено наявність кореляційного зв'язку показників експресії молекулярного маркера пухлини зі ступенем гістологічного диференціювання при bcl-2 ($p < 0,05$). Рівень експресії bcl-2 у групі хворих із метастазами був незначно вищий, ніж у групі без метастазів, але статистично значимої залежності не виявлено ($p > 0,05$). Поява ранніх рецидивів у пацієнтів характеризувалася вищим рівнем експресії маркера порівняно з його показниками у хворих без рецидиву. При визначенні bcl-2 він був вищим у 3 рази (ВШ=3,68; 95 % ДІ – 1,17–11,5; $p = 0,018$). Не виявлено статистично доведеного зв'язку між рівнем експресії bcl-2 і характером проведеного лікування ($p < 0,05$). Виходячи з проведеного аналізу, видно, що загалом експресія bcl-2 має вплив на біологічні властивості плоскоклітинного раку СПР та РГ і може вважатися прогностичним фактором, який корелює зі ступенем гістологічного диференціювання пухлини і виникненням рецидивів.

There were analyzed the results of determining the level of expression of oncoprotein bcl-2 (clone 100 / D 5) in 130 patients with locally advanced squamous cell carcinoma of oral cavity and oropharynx (SCC OCO) with stage III-IV. In patients with SCC OCO there was defined correlation expression of molecular markers of tumor with the degree of histological differentiation in bcl-2 ($p < 0,05$). The appearance of early recurrences was characterized by higher expression of markers compared to patients without recurrence. When determining, the level of bcl it was higher in 2 – 3 times (OR = 3,68, 95 % CI – 1,17-11,5, $p = 0,018$). There was not found statistically proven relationship between expression level of bcl-2 and type of the treatment ($p < 0,05$). Thus, to identify and clarify the differentiation of SCC OCO is recommended to study bcl-2 level. To predict metastasis and early detection of disease recurrence should identify prognostic markers bcl-2.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. Клінічний перебіг будь-якого онкологічного захворювання, як правило, залежить від багатьох факторів. Одним із таких факторів є експресія імуногістохімічних маркерів, які значною мірою відображають властивості ракової пухлини [1, 4]. Враховуючи зростаючий інтерес до цієї проблеми, вважаємо доцільним зупинитися на клініко-імунологічних особливостях визначення одного з найбільш широко застосовуваного маркера bcl-2 у хворих із пухлинами голови та шиї, але численні дані про його значення досить суперечливі.

При вивченні прогностичного значення експресії онкогена bcl-2 у хворих з пухлинами голови та шиї низкою авторів проаналізовані різні клінічні фактори (стадія пухлинного процесу, ступінь диференціації, наявність метастазів), а також вік, стать, ку-

ріння, зловживання алкоголем. За даними дослідників, рівень експресії bcl-2 корелював із ступенем гістологічної диференціації пухлини, місцевим поширенням і наявністю регіональних метастазів. З іншого боку, не виявлено зв'язку з іншими досліджуваними параметрами [5, 7].

Застосування променевої терапії у хворих на рак СПР і РГ виявляється неефективним у 15–20 % хворих через радіорезистентність пухлини, що пов'язується з порушенням механізмів контролю за ушкодженням ДНК і активації апоптозу [2]. Принцип дії променевої терапії базується на ушкодженні ДНК, що викликає індукцію апоптозу та, як наслідок, загибель клітини. Серед усіх факторів, що беруть участь у цьому процесі, – ген p53 (розпізнавання ушкоджень геному), p16 і p21 (зупинка клітинного циклу), bcl-2 (регуляція апоптозу). Най-

більше клінічне значення має надекспресія останнього, що робить його одним із найвагоміших показників ймовірної радіорезистентності пухлини [3, 6]. За даними Trask D. і співавт., сімейство протеїнів bcl-2 відіграє визначальну роль у чутливості пухлини до хіміотерапії [8].

Мета роботи: перевірити існування клініко-імуногістохімічних кореляцій у хворих із місцево розповсюдженим раком слизової порожнини рота (СПР) і ротоглотки (РГ) із III–IV стадією шляхом аналізу показників експресії молекулярного маркера bcl-2.

Матеріали і методи. Проаналізовано результати визначення рівня експресії онкопротеїну bcl-2 (клон 100/D 5) у 130 хворих із плоскоклітинним раком СПР і РГ. При оцінці імуногістохімічної реакції з антитілами до онкопротеїну bcl-2 враховували забарвлення цитоплазми клітин різного ступеня інтенсивності. Позитивною вважалася експресія при забарвленні більше 10 % клітин, а негативною – 0–10 %.

Результати досліджень та їх обговорення. Нами оцінено показники експресії bcl-2 у пухлині відповідно до ступеня її диференціації. У пухлинах

з високим ступенем диференціації експресія bcl-2 спостерігалася рідко – у 14,6 % випадків (табл. 1).

При низькому і середньому ступенях диференціації інтенсивність реакції була вищою, але все одно залишалася слабкою або помірною. Рівні експресії bcl-2 у групах із G1 і G3 були між собою статистично достовірні ($p < 0,05$). Таким чином, простежено статистично достовірний зв'язок експресії онкобілка bcl-2 із гістологічним ступенем диференціації у хворих на рак СПР і РГ.

Проаналізовано також рівень експресії bcl-2 у пухлинах відповідно до метастатичного ураження регіональних лімфатичних вузлів (табл. 2).

Як видно з наведених даних, рівень експресії bcl-2 у групі з метастазами був незначно вищий, ніж у групі без метастазів, але статистично значимої залежності не виявлено ($p > 0,05$), що, в свою чергу, свідчить про відсутність діагностичного значення даного маркера для прогнозування наявності метастазів у хворих на рак СПР і РГ.

Проводячи порівняльний аналіз показників експресії онкобілка в групах залежно від розвитку рецидиву захворювання протягом першого року, встановлено, що серед хворих із рецидивами кількість bcl-2-позитивних була на 16,5 % вища, ніж серед безрецидивних пухлин (табл. 3).

Таблиця 1. Експресія онкобілка bcl-2 в пухлинах із різним ступенем диференціації

Ступінь диференціації пухлини	Кількість хворих абс.	Позитивна		Негативна	
		абс.	$P \pm m_p, \%$	абс.	$P \pm m_p, \%$
Високий (G1)	103	15*	14,6 \pm 3,5	88*	85,4 \pm 3,5
Середній (G2)	17	5	29,4 \pm 11,1	12	70,6 \pm 11,1
Низький (G3)	10	4*	40,0 \pm 15,5	6*	60,0 \pm 15,5
Всього	130	24	18,5 \pm 3,4	106	81,5 \pm 3,4

Примітка. * – χ^2 : $p = 0,04$ при порівнянні показників груп із високим і середнім ступенем диференціації пухлини.

Таблиця 2. Експресія онкобілка bcl-2 у пухлинах залежно від наявності метастазів

Наявність метастазів	Кількість хворих абс.	Позитивна		Негативна	
		абс.	$P \pm m_p, \%$	абс.	$P \pm m_p, \%$
З метастазами (N1–N3)	79	15*	19,0 \pm 4,4	64*	81,0 \pm 4,4
Без метастазів (N0)	51	9*	17,6 \pm 5,3	42*	82,4 \pm 5,3
Всього	130	24	18,5 \pm 3,4	106	81,5 \pm 3,4

Примітка. * – χ^2 : $p = 0,847$ при порівнянні показників груп із метастазами і без них.

Таблиця 3. Експресія онкобілка bcl-2 в пухлинах залежно від розвитку рецидивів захворювання

Наявність рецидиву	Кількість хворих абс.	Позитивна		Негативна	
		абс.	$P \pm m_p, \%$	абс.	$P \pm m_p, \%$
З рецидивами	81	20*	24,7 \pm 4,8	61*	75,3 \pm 4,8
Без рецидивів	49	4*	8,2 \pm 3,9	45*	91,8 \pm 3,9
Всього	130	24	18,5 \pm 3,4	106	81,5 \pm 3,4

Примітка. * – χ^2 : $p = 0,018$ при порівнянні показників груп із рецидивами і без них.

Незважаючи на це, кількість негативних реакцій у хворих із рецидивним процесом була в 3 рази вища, ніж у пацієнтів із позитивним рівнем bcl-2.

Встановлено статистично значиму залежність між експресією bcl-2 та ймовірністю розвитку ранніх рецидивів, яка була вища в 3 рази (ВШ=3,68; 95 % ДІ – 1,17–11,5; $p < 0,05$).

Аналіз показників експресії bcl-2 відносно проведеного лікування також показав деякі відмінності результатів (табл. 4).

У групах хворих (II–IV), які отримали неoad'ювантне лікування, кількість bcl-2-позитивних результатів була значно нижчою у групі після хіміопроменевої терапії ((13,8±6,4) %). На противагу цьому, найбільша кількість позитивних результатів ((21,7±8,5) %) встановлена у IV групі пацієнтів, що, очевидно, свідчить про неефективність променевої терапії, оскільки саме цим хворим проводилася кріодеструкція пухлини в зв'язку з низькою ефективністю променевої терапії.

Таблиця 4. Експресія онкобілка bcl-2 в пухлинах відповідно до проведеного лікування

Проведене лікування	Кількість хворих абс.	Позитивна		Негативна	
		абс.	P±m _p , %	абс.	P±m _p , %
I. Хірургічне + променеве	34	7*	20,6±6,9	27*	79,4±6,9
II. Променеве + хірургічне	44	8	18,2±5,8	36	81,8±5,8
III. Хіміопроменеве + хірургічне	29	4	13,8±6,4	25	86,2±6,4
IV. Променеве + кріодеструкція + хірургічне	23	5	21,7±8,5	18	78,3±8,5
Всього	130	24	18,5±3,4	106	81,5±3,4

Примітка. * χ^2 : $p=0,709$ при порівнянні груп з неoad'ювантним лікуванням (II–IV група) і без нього (I група).

Отримані дані свідчать про деяку неоднозначність впливу експресії онкопротеїну bcl-2 на біологічні властивості плоскоклітинного раку СПР і РГ. Блокування апоптозу є одним із механізмів стійкості пухлини до терапії і в зв'язку з цим можливим раннім розвитком рецидивів. Позитивний bcl-2 взаємозв'язаний зі ступенем диференціації пухлини та раннім розвитком рецидивів протягом першого року, але не корелює з наявністю ураження регіональних лімфатичних вузлів. Не виявлено статистично доведеного зв'язку між рівнем експресії bcl-2 і характером проведеного лікування.

Висновок. Виходячи з проведеного аналізу, видно, що загалом експресія bcl-2 має вплив на біологічні властивості плоскоклітинного раку СПР та РГ і може вважатися прогностичним фактором, який корелює зі ступенем гістологічного диференціювання пухлини і виникненням рецидивів.

Перспективи подальших досліджень. Імуногістохімічне дослідження пухлин у вигляді комплексу маркерів біологічних властивостей для поліпшення діагностики та прогнозування перебігу захворювання з вибором адекватного лікування.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Безшапочний С. Б. Молекулярні маркери при плоскоклітинних карциномах гортані / С. Б. Безшапочний, Ю. А. Гасюк, В. В. Лобурець // Журнал вухних, носових і горлових хвороб. – 2011. – № 4. – С. 69–74.
2. Жарков О. А. Эффективность хирургического лечения больных раком слизистой оболочки полости рта и ротоглотки после радикальной лучевой терапии : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. мед. наук : 14.00.04 / О. А. Жарков. – М., 2007. – 30 с.
3. Ковтуненко О. В. Аналіз експресії онкобілка bcl-2 у плоскоклітинному раку гортані / О. В. Ковтуненко // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 3. – С. 36–41.
4. Петров С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. – Казань, 2004. – 456 с.
5. Шпонька І. С. Імуногістохімічний профіль раків гортані з різним клінічним плином та ефектом на проведену терапію / І. С. Шпонька, П. О. Гриценко, О. В. Ковтуненко // Морфологія. – 2007. – Т. 1, № 2. – С. 95–101.
6. Spontaneous apoptosis and the expression of p53 and bcl-2 family proteins in locally advanced head and neck cancer / M. Hotz, J. Bosq, P. Zbaeren [et al.] // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 1999. – Vol. 125, № 4. – P. 417–422.
7. Prognostic significance of expression of p53, bcl-2 and bax in squamous epithelial carcinoma of the larynx – a multivariate analysis / M. Jackel, L. Sellmann, S. Youssef [et al.] // HNO. – 2001. – Vol. 49, № 3. – P. 204–211.
8. Expression of Bcl-2 family proteins in advanced laryngeal squamous cell carcinoma: correlation with response to chemotherapy and organ preservation / D. K. Trask, G. T. Wolf, C. R. Bradf [et al.] // Laryngoscope. – 2002. – Vol. 112, № 4. – P. 638–644.

Отримано 28.09.11