

УДУ 616-006.04

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ПРОБЛЕМИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ДЕЯКИХ ДІАГНОСТИЧНИХ МАРКЕРІВ РАКУ ШЛУНКУ

Іванцора М.Я., Сергєєва Н.С.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Дяченко М.І.

Медичний інститут

Сумського державного університету

Гоменюк А.В.

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

У структурі онкологічної смертності рак шлунку займає 2-е місце і разом з раком стравоходу щорічно призводить до смерті 1 100 000 людей у всьому світі. Ідентифікація маркерів для більш точного прогнозу перебігу захворювання та вибору відповідної терапії є відкритою проблемою для хворих на рак шлунку. У статті проведено огляд світової літератури про кореляцію експресії і ампліфікації *ERCC-1*, *HER-2/neu* і *Ki-67* з клінічним перебігом захворювання, гістологічними особливостями пухлини і чутливістю до хіміотерапії у хворих на рак шлунку і стравоходу.

Ключові слова: гіперекспресія, клінічні характеристики, хіміотерапія.

Постановка проблеми. В останні 3 десятиліття відмічена тенденція до зростання захворюваності на рак проксимальних відділів шлунка на тлі зниження частоти локалізації процесу в дистальних відділах. На ранніх стадіях рак шлунку лікується шляхом радикальної резекції шлунку. Однак навіть після радикальної операції близько 60% хворих помирають від рецидиву захворювання, перитонеальних або віддалених метастазів, що обумовлено стадією захворювання на момент постановки діагнозу [1].

Хіміотерапія – єдиний метод лікування нерезекційного та/або метастатичного раку шлунка. Вибір цілого ряду схем хіміотерапії обирається без достатнього врахування об'єктивних показників прогнозу захворювання та молекулярно-генетичних особливостей пухлини.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Успіхи молекулярної біології внесли суттєві зміни в клінічну онкологію, особливо в розділах, що стосуються попередження, діагностики та лікування раку. Онкогени і гени-супресори, ростові фактори і їх рецептори, молекули адгезії і регулятори ангіогенезу характеризують швидкість росту пухлини, здатність до інвазії і метастазування, стійкість до хіміопрепаратів, дають інформацію про клінічний перебіг злоякісного процесу. На сьогоднішній день відомо більше 100 протеїнів і їх генів, зміни в яких асоційовані з ростом злоякісних клітин. Відповідні порушення, які визначаються в пухлинних тканинах, і отримали назву молекулярно-біологічних (молекулярних) маркерів пухлин [2].

Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми. На даний час протоколи хіміотерапії з включенням препаратів платини, зокрема, цис-платини, і фторпіримідинів, відносяться до стандартів лікування місцевого і метастатичного раку шлунка. У зв'язку з цим великий інтерес викликає вивчення молекулярно-біологічних маркерів чутливості і розуміння механізмів резистентності до препаратів цих груп.

Формулювання цілей статті. У цій статті вивчена кореляція експресії і ампліфікації *ERCC-1*, *HER-2/neu* і *Ki-67* з клінічним перебігом захво-

рування, гістологічними особливостями пухлини і чутливістю до хіміотерапії у хворих на рак шлунку і стравоходу.

Виклад основного матеріалу дослідження. Гени родини *ERCC* (excision crosscomplementing gene) беруть участь у відновленні пошкоджень ДНК, індукованих алкілюючими агентами (цисплатин), шляхом ексцизійної репарації нуклеотидів. Ген *ERCC-1* кодує протеїн, що складається з 297 амінокислот. Протеїн *ERCC-1* є частиною функціонального комплексу, що включає протеїни *ERCC-4*, *ERCC-11* і *XPR*, які беруть участь в процесі як ексцизійної репарації нуклеотидів, так і рекомбінантного відновлення.

Висловлено припущення, що *ERCC-1*, може репарувати пошкоджену ДНК, чим забезпечує резистентність до хіміопрепаратів [2; 3; 4]. Дослідження *in vitro* показали залежність між рівнем активності ензимів відновлення ДНК в пухлинних клітинах і стійкістю до цис-платиномісній хіміотерапії: низький рівень *ERCC-1* корелював з високою чутливістю до цисплатину [5; 6].

На сьогодні активно вивчається експресія та прогностична роль *ERCC-1* в пухлинах різних локалізацій. Отримані результати міжнародних досліджень, в яких показана кореляція експресії *ERCC-1* з виживанням і чутливістю до хіміотерапії з включенням препаратів платини у хворих на рак товстої кишки [7], стравоходу [8], сечового міхура [2], яєчників [9] і недрібноклітинного раку легені [10]. У групі хворих на рак шлунку гіперекспресія *ERCC-1* зустрічається у 70% хворих [11]. У пацієнтів з дисемінованим раком шлунку з низькою експресією відзначено збільшення загальної ефективності хіміотерапії з включенням препаратів платини (цисплатин, оксаліплатин). Ці дані підтверджуються в численних дослідженнях, в яких вивчалася не тільки експресія протеїну, але і ампліфікація гену *ERCC-1* [12; 25; 13]. У роботах J. Lee (2005) і R. Napieralski (2005) отримані суперечливі дані, що не підтверджують прогностичної ролі *ERCC-1* [14; 15]. Таким чином, дані про кореляцію експресії *ERCC-1* з прогнозом хвороби і чутливістю до хіміотерапії з використанням препаратів платини суперечливі.

На тлі значного зростання захворюваності на рак проксимальних відділів шлунка, кардіоезофагеальної зони і аденокарциноми дистального відділу стравоходу (карцинома Барретта) значний інтерес представляє вивчення прогностичної значимості ERCC-1 у хворих цієї групи. Були опубліковані результати дослідження R. Langer, в якому експресія ERCC-1 не корелювала з виживанням і чутливістю до неоад'ювантної хіміотерапії у хворих місцевої аденокарциноми стравоходу (карцинома Барретта), які отримували хіміотерапію з включенням цисплатину, 5-фторурацилу [16]. Однак недостатня кількість досліджень не дозволяє зробити висновків і передбачає подальше пильне вивчення прогностичної значимості ERCC-1 у хворих цієї групи.

Her-2/neu (c-erbB2) – онкоген, що належить до родини рецепторів епідермального фактора росту. У геномі людини нуклеотидні послідовності гена *c-erbB2* локалізовані на довгому плечі 17 хромосоми (17q21). *3-erbB2* визначає вироблення трансмембранного протеїну з молекулярною масою 185 kDa HER2 [17]. Трансмембранні рецептори епідермального фактора росту родини EGFR (HER-1, HER-2, HER-3, HER-4) складаються з позаклітинного і внутрішньоклітинного доменів, а також трансмембранної частини. Внутрішньоклітинний домен має тирозинкіназну активність, а позаклітинний забезпечує взаємодію рецептора зі специфічним лігандом. Неактивні у вигляді мономерів рецептори при зв'язуванні позаклітинного домену зі специфічним лігандом активізуються і утворюють гомо- та гетеродимери. В результаті включаються механізми, відповідальні за основні клітинні процеси (апоптоз, міграція, зростання і диференціювання, адгезія клітин). Стимуляція цього рецептора призводить до запуску транскрипційних механізмів, що прискорює проліферацію і ріст клітин.

За умов раку шлунку гіперекспресія HER-2/neu варіюється в межах 10-38% [18; 11; 19]. Існуючі на сьогоднішній день дослідження показали, що гіперекспресія Her-2/neu може служити показником агресивного перебігу раку шлунку [16; 20; 21], корелює зі стадією захворювання і присутністю метастазів в регіонарних лімфатичних вузлах [22]. В роботі M. Tanner [23] ампліфікація гена *c-erbB-2* у хворих на рак шлунка ($n = 131$) і стравохідно-шлункового переходу ($n = 100$) корелювала з кишковим гістологічним типом ($p = 0,0051$), але не корелювала зі статтю, віком і клінічною стадією захворювання. Ампліфікація виявлена у 12,2% хворих на рак шлунку і 24% хворих аденокарциномою стравохідно-шлункового переходу.

У великому проспективному дослідженні, що включає 126 хворих на рак шлунку і дистальних відділів стравоходу, була вивчена кореляція між гіперекспресією/ампліфікацією *HER2/neu*, клінічним перебігом хвороби та гістологічними особливостями пухлини [11]. В результаті була достовірно показана більш висока частота гіперекспресії/ампліфікації в групі хворих аденокарциномою дистальних відділів стравоходу ($p = 0,01$) в порівнянні з групою хворих на рак шлунку.

За умов раку стравоходу підвищена ампліфікація гену *c-erbB-2* зустрічається у 43% хворих, і корелює із загальним виживанням [24]. У гру-

пі пацієнтів з гіперекспресією *c-erbB-2* 5-річне виживання складало 60%, а в негативній групі – 10%. У хворих аденокарциномою Барретта ампліфікація *c-erbB-2* і підвищена експресія протеїну зустрічаються в 33% випадків [25].

Гіперекспресія HER-2/neu характеризує резистентність до декількох груп хіміотерапевтичних препаратів, таких, як таксани, цисплатин і фторпіримідин. Прогностична роль *c-erbB-2* для передбачення ефективності хіміотерапії вимагає подальшого вивчення.

При вивченні прогностичної ролі гіперекспресії *c-erbB-2* у хворих на рак шлунку після радикальної операції з або без ад'ювантної хіміотерапії (5-фторурацил, доксорубіцин) доведена кореляція гіперекспресії з низьким безрецидивним ($p = 0,0474$) і загальним виживанням ($p = 0,0310$) хворих після резекції без проведеної хіміотерапії. У пацієнтів, які отримали хіміотерапевтичне лікування, така залежність не спостерігалася. Однак зафіксована підвищена чутливість до хіміотерапії в групі HER-2/neu-позитивних хворих ($p = 0,0439$) [26]. Однак в дослідженні R. Langer [27] у хворих аденокарциномою Барретта при проведенні 5-ФУ/цисплатиноємної неоад'ювантної терапії гіперекспресія не корелювала з ефективністю лікування.

Гіперекспресія Ki-67 характерна виключно для проліферуючих клітин (G1, S і G2 фази мітозу), але не для клітин в стані спокою (G0 фаза і рання G1). Цей маркер характеризує агресивність, злоякісність течії пухлинного процесу і ймовірність відповіді на проведену терапію [28]. Медіана кількості Ki-67 позитивних клітин коливається від 10 до 40% всіх пухлинних клітин, тому рак шлунку можна віднести до пухлин середньої проліферативної активності [29].

Вибір «розмежувальної точки» (cut-off point) (кордону, що розділяє пухлини на групи з високою і низькою проліферативною активністю) є проблемою в дослідженнях проліферативної активності. У різних роботах за таке значення вибирається індекс Ki-67, що дорівнює 10-25%.

Важливість Ki-67 як індикатора поведінки пухлини раку шлунку недостатньо зрозуміла. Висока проліферативна активність пухлини може служити показником агресивного перебігу раку шлунку, що дозволяє розглядати його як один з перспективних факторів прогнозу. Проте опубліковані результати досліджень досить суперечливі.

Аналіз прогностичної значимості індексу проліферативної активності показав, що високий проліферації (за індексом Ki-67) знижує безрецидивне і загальне виживання, особливо у хворих з III стадією захворювання. Показники клітинної проліферації відображають агресивність і прогноз захворювання [30]. Однак є дослідження, в яких ці дані не підтверджуються [31; 32].

Прогностична роль проліферативної активності для прогнозу ефективності хіміотерапії вимагає подальшого вивчення. У роботі P. Heeren [33] не було виявлено кореляції між рівнем Ki-67 і чутливістю аденокарциноми Барретта до хіміотерапії з включенням препаратів платини і фторпіримідинів. Однак у хворих з місцевим плоскоклітинним раком стравоходу відзначена достовірна кореляція ефективності хіміотерапії в комбінації з променевою відповідно до експресії Ki-67 [34],

рівень Ki-67 був значно вищим у хворих, з відповіддю на хіміопроменеу терапію ($p = 0,003$).

При вивченні проліферативної активності на фоні стравоходу Барретта виявлено підвищений рівень Ki-67 в порівнянні з нормальною слизовою стравоходу. Найбільша експресія відзначалася при кишковому типі в порівнянні з іншими типами метаплазії Барретта ($p < 0,001$). Кількість клітин, які діляться, також підвищена при аденокарциномі Барретта ($p < 0,01$) [35; 36; 37]. За даними Т. Fujii [36] відсоток Ki-67 позитивних клітин на нормальній слизовій стравоходу склав 4%, при метаплазії – 27,5%, а при аденокарци-

номі Барретта 41,7%. Згідно з даними N. Rioux-Leclereq [37] гіперекспресія Ki-67 спостерігалася в 14% за умов слабкої дисплазії, в 73% при вираженій дисплазії і 87% – при аденокарциномі Барретта ($p < 0,001$).

Висновки і перспективи. Проліферативна активність пухлини може розглядатися як один з перспективних факторів прогнозу безрецидивного і загального виживання хворих на рак шлунку. Однак невелика кількість досліджень і суперечливість результатів передбачає подальше пильне вивчення прогностичного значення проліферативної активності за умов раку шлунку.

Список літератури:

- Bellmunt U. Gene expression of ERCC1 as a novel prognostic marker in advanced bladder cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy // *Annals of Oncology*. – 2007. – 18. – P. 522-8.
- Bramson J., Panasci L. Effect of ERCC-1 overexpression on sensitivity of Chinese hamster ovary cells to DNA damaging agent // *Cancer Res*. – 1993. – 53. – P. 3237-40.
- Reed E., Ormand P., Bohr V. Expression of the human DNA repair gene ERCC-I relates to cisplatin drug resistance in human ovarian cancer cells // *Proceedings of the American Association for Cancer Research*. – 1989. – 30 – abstr. 1940.
- Zhen W., Link C., O'Connor P. Increased gene specific repair of cisplatin interstrand cross-links in cisplatin-resistant human ovarian cancer cell lines // *Mol Cell Biol*. – 1992. – 12. – P. 3689-98.
- Kraker A., Moore C. Elevated DNA polymerase beta activity in a cis-diamminedichloroplatinum (II) resistant P388 murine leukemia cell line // *Cancer Lett*. – 1988. – 38. – P. 307-14.
- Swinnen L., Barnes D., Fisher S. I-B-Darabino-furanosylcytosine and hydroxyurea: Production of cytotoxic synergy with cis-diamminedichloroplatinum (II) and modification of platinum induced DNA interstrand cross-linking // *Cancer Res*. – 1989. – 49. – P. 1383-9.
- Shirota Y., Stoehmacher J., Brabender J. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy // *J Clin Oncol*. – 2001. – 19. – P. 4298-304.
- Joshi M., Shirota Y., Danenberg K., Conlon D. High gene expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer // *Clin Cancer Res*. – 2005. – 11. – P. 2215-21.
- Dabolkar M., Bostick-Bruton F., Weber C. ERCC-1 and ERCC-2 expression in malignant tissues from ovarian cancer patients // *J Natl Cancer Inst*. – 1992. – 84. – P. 1512-7.
- Ceppi H. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR are predictive of shorter survival in advanced nonsmall-cell lung cancer treated with cisplatin and gemcitabine // *Annals of Oncology*. – 2006. – 17. – P. 1818-25.
- Kwon E. Prognostic value of expression of ERCC1, thymidylate synthase, and glutathione S-transferase P1 for 5-fluorouracil/oxaliplatin chemotherapy in advanced gastric cancer // *Annals of Oncology*. – 2007. – 18. – P. 504-9.
- Matsubara J. Impact of dihydrofolate reductase (DHFR) and thymidylate synthase (TS) on outcomes of postoperative patients with gastric cancer // *ASCO annual meeting*. – 2006. – Abstract 4053.
- Metzger R., Leichman C., Danenberg K. ERCC1mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy // *J Clin Oncol*. – 1998. – 16. – P. 309-16.
- Lee J. ERCC expression is not a predictor for estimating outcomes of patients treated with cisplatin as an adjuvant therapy in curatively resected gastric cancer // *Proc Amer Assoc Cancer Res*. – 2005. – 46. – Abstract 1496.
- Napieralski R., Ott K., Kremer M., Specht K. Combined GADD45A and Thymidine Phosphorylase Expression Levels Predict Response and Survival of Neoadjuvant-Treated Gastric Cancer Patients // *Clin Cancer Res*. – 2005. – 11(8). – P. 3025-31.
- Langer R., Specht K. Association of Pretherapeutic Expression of Chemotherapy-Related Genes with Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Barrett Carcinoma // *Clin Cancer Res*. – 2005. – 11(20). – P. 3225-31.
- Akiyama T., Sudo C., Ogawara H., Toyoshima K. The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity // *Science*. – 1986. – 232. – P. 1644-6.
- Falck V.G., Gullick W.J. C-erbB-2 oncogene product staining in gastric adenocarcinoma. An immunohistochemical study // *J Pathol*. – 1989. – 159. – P. 107-11.
- Lee K., Lee H. Prognostic Significance of p53, nm23, PCNA and c-erbB-2 in Gastric Cancer // *Jpn J Clin Oncol*. – 2003. – 33(4). – P. 173-9.
- Uchino S., Tsuda H., Maruyama K. et al. Overexpression of c-erbB-2 protein in gastric cancer. Its correlation with long-term survival of patients // *Cancer*. – 1993. – 72. – P. 3179-84.
- Yonemura Y., Ninomiya I., Yamaguchi A. et al. Evaluation of immunoreactivity for erbB2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer // *Cancer Res*. – 1991. – 51. – P. 1034-8.
- Mizutani T., Onda M., Tokunaga A. et al. Relationship of c-erbB-2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer // *Cancer*. – 1993. – 72. – P. 2083-8.
- Tanner M., Hollmen M. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab // *Ann Oncol*. – 2005. – 16(2). – P. 273-8.
- Aloia T. Tumor marker expression is predictive of survival in patients with esophageal cancer // *Ann Thorac Surg*. – 2001. – 72. – 859-66.
- Walch A., Specht K., Bink K. et al. HER-2/neu gene amplification, elevated mRNA expression, and protein overexpression in the metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence of Barrett's esophagus // *Lab Invest*. – 2001. – 81. – P. 791-801.

26. Roh J.K., Paik S., Chung H.C. Overexpression of erbB-2 protein in gastric adenocarcinoma--a potential role in therapeutic response to adjuvant 5-FU-doxorubicin regimen // Gan To Kagaku Ryoho. – 1992. – 19(8 Suppl). – P. 1207-19.
27. Langer R., Specht K., Becker K., Ewald P. et al. Association of Pretherapeutic Expression of Chemotherapy-Related Genes with Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Barrett Carcinoma // Clin Cancer Res. – 2005. – 11(20). – P. 7462-69.
28. Jain S., Filipe M.I., Hall P.A. et al. Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma // J Clin Pathol. – 1991. – 44. – P. 655-9.
29. Manzoni G., Verlato G., Tomezzoli A. et al. Study on Ki-67 Immunoreactivity as a Prognostic Indicator in Patients with Advanced Gastric Cancer // Japanese Journal of Clinical Oncology. – 1998. – 28. – P. 534-7.
30. Ohya S., Yonemura Y., Miyazaki I. et al. Proliferative activity and malignancy in human gastric cancers // Cancer. – 1992. – 69. – P. 314-21.
31. Oshima C.T., Iriya K., Forones N.M. et al. Ki-67 as a prognostic marker in colorectal cancer but not in gastric cancer // Neoplasma. – 2005. – 52(5). – P. 420-4.
32. Parkin D.M. Global cancer statistics in the year 2000 // Lancet Oncol. – 2001. – 2. – P. 533-43.
33. Heeren P.A., Kloppenborg F.W., Hollema H. et al. Predictive effect of p53 and p21 alteration on chemotherapy response and survival in locally advanced adenocarcinoma of the esophagus // Anticancer Res. – 2004. – 24(4). – P. 2579-83.
34. Takeuchi H., Ozawa S., Ando N. et al. Cell-cycle regulators and the Ki-67 labeling index can predict the response to chemoradiotherapy and the survival of patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the esophagus // Ann Surg Oncol. – 2003. – 10(7). – P. 792-800.
35. Feith M., Stein H.J., Mueller J., Siewert J.R. Malignant degeneration of Barrett's esophagus: the role of the Ki-67 proliferation fraction, expression of E-cadherin and p53 // Dis Esophagus. – 2004. – 17(4). – P. 322-7.
36. Halm U., Tannapfel A., Breitung B. et al. Apoptosis and cell proliferation in the metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence of Barrett's esophagus // Hepatogastroenterology. – 2000. – 47(34). – P. 962-6.
37. Jankowski J., McMenemin R., Hopwood D. et al. Abnormal expression of growth regulatory factors in Barrett's oesophagus // Clin Sci (Lond). – 1991. – 81(5). – P. 663-8.
38. Fujii T., Nakagawa S., Hanzawa M., Sueyoshi S. et al. Immunohistological study of cell cycle-related factors, oncogene expression in Barrett's oesophagus // Ann Surg Oncol. – 2004. – 10(7). – P. 792-800.

Иванцюра М.Я., Сергеева Н.С.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

Дяченко М.И.

Медицинский институт

Сумского государственного университета

Гоменюк А.В.

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПРОБЛЕМАХ И ПЕРСПЕКТИВАХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ РАКА ЖЕЛУДКА

Аннотация

В структуре онкологической смертности рак желудка занимает 2-е место и вместе с раком пищевода ежегодно приводит к смерти 1 100 000 людей во всем мире. Идентификация маркеров для более точного прогноза течения заболевания и выбора адекватной терапии является открытой проблемой для больных раком желудка. В статье проведен обзор мировой литературы о корреляции экспрессии и амплификации ERCC-1, HER-2/neu и Ki-67 с клиническим течением заболевания, гистологическими особенностями опухоли и чувствительностью к химиотерапии у больных раком желудка и пищевода.

Ключевые слова: гиперэкспрессия, клинические характеристики, химиотерапия.

Ivantsyura M.Y., Sergeyeva N.S.

Bogomolets National Medical University

Dyachenko M.I.

Medical Institute of Sumy State University

Homeniuk A.V.

Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine

CURRENT VIEWS ON PROBLEM AND PERSPECTIVES OF SOME DIAGNOSTIC MARKERS OF GASTRIC CANCER

Summary

Gastric cancer has the second rank in the structure of all deaths from cancer and both gastric and esophageal cancers are the cause of 1 100 000 patients' deaths worldwide every year. Identification of gastric cancer markers for a more accurate prognosis for the course of disease and choice of adequate therapy is still an open problem. The review discusses literature data on correlation of expression and amplification of ERCC-1, Her-2/neu and Ki-67 with clinical course of disease, tumor histological characteristics and sensitivity to chemotherapy in patients with gastric and esophageal cancers.

Keywords: overexpression, clinical characteristics, chemotherapy.