

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ БИОМАРКЕРА P53, ПРИ РЕЦИДИВЕ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Тилляшайхов Мирзагалёб Нигматович¹, Джураев Мирджалол Дехканович², Бойко Елена Владимировна¹, Юсупов Шерали Хасанович², Суллетбаев Нуржан Бахтиярович², Дю Александр Владимирович²

1 - Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии, Республика Узбекистан, г. Ташкент;

2 - Ташкентский городской филиал республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии, Республика Узбекистан, г. Ташкент

РЕЦИДИВЛАНГАН ҚОВУҚ САРАТОНИДА P53 БИОМАРКЕРИНИ ПРОГНОСТИК АҲАМИЯТИ

Тилляшайхов Мирзагалёб Нигматович¹, Джураев Мирджалол Дехканович², Бойко Елена Владимировна¹, Юсупов Шерали Хасанович², Суллетбаев Нуржан Бахтиярович², Дю Александр Владимирович²

1 - Республика ихтисослаштирилган онкология ва радиология илмий-амалий тиббиёт маркази,

Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.;

2 - Республика ихтисослаштирилган онкология ва радиология илмий-амалий тиббиёт марказининг

Тошкент шаҳар филиали, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

PREDICTIVE VALUE OF BIOMARKER P53 IN RECURRENCE OF BLADDER CANCER

Tillyashaykhov Mirzagaleb Nigmatovich¹, Juraev Mirjalol Dekhkanovich², Boiko Elena Vladimirovna¹, Yusupov Sherali Khasanovich², Sulletbaev Nurjan Bakhtiyarovich², Dyu Alexander Vladimirovich²

1 - Republican Specialized Scientific and practical Medical Center of Oncology and Radiology, Republic of Uzbekistan, Tashkent;

2 - Republican Specialized Scientific and practical Medical Center of Oncology and Radiology Tashkent city branch, Republic of Uzbekistan, Tashkent

e-mail: nurbek9339@gmail.com

Резюме. Мақолада P53 биомаркерининг қовуқ саратонида рецидив ривожланишидаги прогностик аҳамияти кўриб чиқилади. P53 ортиқча ифодаланиши pTa, pT1, pT2 ва pT4 нинг мос равишда G1, G2 ва G3 даражаси қовуқ саратонининг 20%, 39% ва 75% да ҳаддан ташқари кўп бўлган. P53 мутациялари қовуқ саратони мушак инвазив ўсиши билан сезиларли даражада боғ'лиқлиги аниқланди. Умумий яшаи кўрсаткичи P53 ҳаддан ташқари экспрессияси бўлган беморлар ва P53 ифодаси бўлмаган беморлар ўртасида умумий яшаи кўрсаткичи сезиларли фарқларини кўрсатади.

Калим сўзлар: қовуқ саратони, иммуногистохимёвий текширув, биомаркерлар, P53, тахлил.

Abstract. The article examines the prognostic significance of the p53 biomarker in the development of bladder cancer relapse. Overexpression of p53 was shown in 23%, 47%, 72% and 26% of pTa, pT1, pT2 and pT4 cases, respectively. Additionally, p53 was overexpressed in 20%, 39%, and 75% of bladder cancers graded G1, G2, and G3, respectively. P53 mutations have been found to be significantly associated with muscle-invasive growth of bladder tumors. Survival analysis indicates significant differences in overall survival between patients with p53 overexpression and patients without p53 expression.

Key words: bladder cancer, immunohistochemistry, biomarkers, p53, prognosis.

Введение. Переходно-клеточный рак мочевого пузыря (РМП) является одним из частых онкоурологических патологий мочевыделительной системы и занимает 9 место по распространенности злокачественных новообразований по всему миру, и поэтому представляет собой значимую проблему общества [1]. В подавляющем проценте (62–75%) уротелиальный РМП выявляют на неинвазивных стадиях (НМИРМП). 40–86% «поверхностных» опухолей рецидивируют после проведенного комплексного лечения, причем 21–43% прогрессируют в инвазивные формы. Остальные 24–34% образований мочевого пузыря характеризуются инвазивным ростом (МИРМП)

при выявлении заболевания [2]. Микрометастазы в период постановки диагноза являются основной причиной неблагоприятного прогноза МИРМП [3]. После радикальной цистэктомии (РЦЭ) у подавляющего количества пациентов выявляется прогрессирование заболевания в последующие 2 года с частотой рецидива более 50 % [4]. Общая пятилетняя выживаемость больных МИРМП составляет 20–30 %. Данная группа отличается высоким агрессивным течением и высокими показателями смертности [5].

Выбор метода лечения и прогнозирование дальнейшего течения РМП в данное время основываются на гистологической структуре опухоли

(G) и степени инвазии по классификации TNM. Нужно учитывать тот факт, что отдаленные результаты комплексного лечения РМП, относящиеся к одной классификационной группе, которые получают идентичный объём лечения, могут в значительной степени различаться. Поэтому для полноценного прогнозирования течения рака мочевого пузыря нужны дополнительные параметры опухоли кроме ее степени дифференцировки, стадии, гистологический тип, а также индивидуальные особенности, которые будут определять клиническое течение и биологическую агрессивность опухоли.

Патогенез РМП. Факторы риска, связанные с возникновением и прогрессированием рака мочевого пузыря, включая генетические и молекулярные аномалии, факторы окружающей среды, а также хронические инфекции и воспалительные процессы мочевыводящих путей. В попытке лучше понять молекулярные пути, ответственные за гетерогенное и непредсказуемое прогрессирование этого заболевания, в нескольких исследованиях изучались молекулярные компоненты клеточного цикла и были идентифицированы два различных и взаимоисключающих пути, которые играют ключевую роль в молекулярном патогенезе мочевого пузыря. Путь FGFR3-RAS-MAPK, который связан с неинвазивными опухолями низкой степени злокачественности, и путь p53-RB, связанный с высокоагрессивными опухолями [18].

Нормальные вариации геномного набора могут играть существенную роль в приверженно-

сти к РМП чем мутации геномного набора. Имеются данные, что участки репарации генов ДНК, цитохромы P450 и ферменты, зависящие от уровня глутатиона могут служить одной из составных частей, которые предрасположены в развитии рака мочевого пузыря [6]. Высокий риск развития рака мочевого пузыря может быть обусловлен появлением определенных аллельных вариантов генов ферментов прооксидантов и антиоксидантов [7]. При повышении активности ферментов метаболизирующих ариламинов, NAT1, CYP1A2 с недостаточной активностью генов GSTM1, NAT2 могут служить фактором высокого риска развития рака мочевого пузыря [8].

При влиянии канцерогенов в эпителиальных клетках мочевого пузыря происходят нарушения механизмов контроля клеточного деления. При таком нарушении основным процессом, который служит в развитии РМП считается делеция короткого плеча и длинного плеча 9 хромосомы [9].

При нарушении строения PTEN, TP53, RB1, которые являются генами-супрессорами опухолевого роста, происходят крупные aberrации на молекулярно-генетическом уровне, что служит нестабильностью генома и развитию инвазивного рака мочевого пузыря. При развитии тяжёлых дисплазии уротелиальных клеток выявляется аналогичная ситуация. При мутации 17p или его делеции, может возникнуть нарушение строения гена TP53, служащий причиной развития инвазивного РМП (рис. 1) [10].

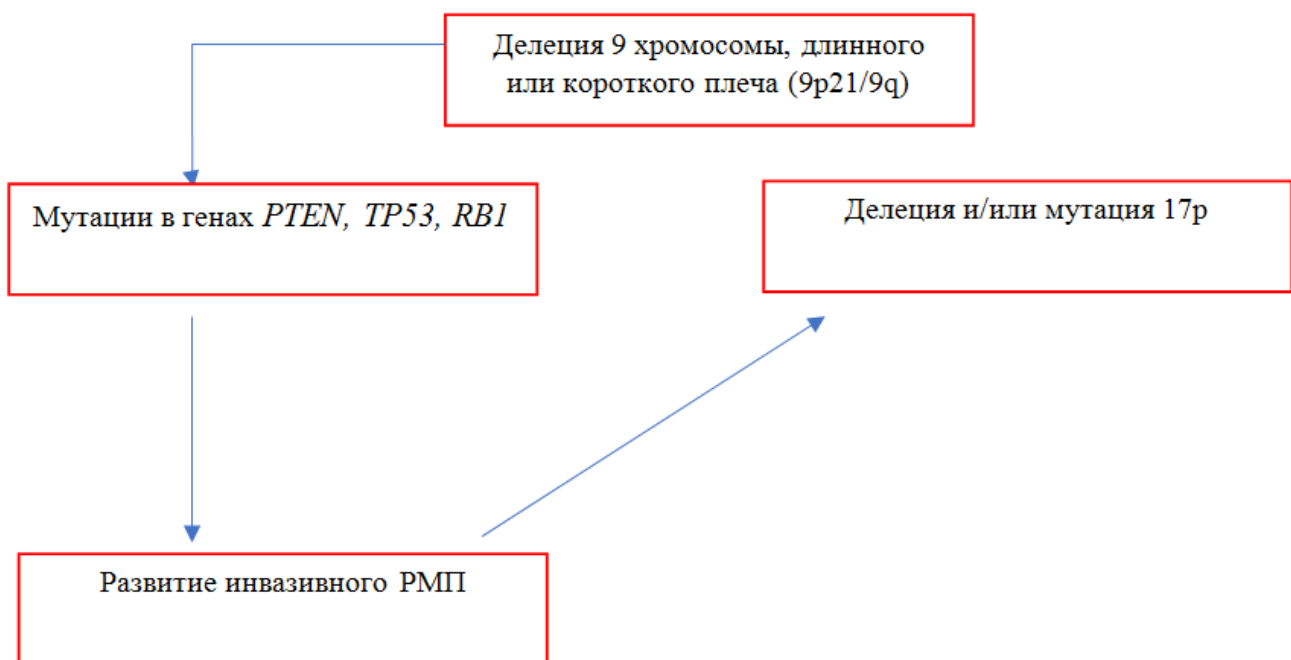


Рис. 1. Механизм развития инвазивного РМП

Исследование молекулярных маркеров позволит предсказать прогноз течения и характер заболевания индивидуально, что не даст делать ошибки при рутинном гистологическом исследовании и оценке стадии заболевания.

Молекулярно-генетическое исследование. На сегодняшний день молекулярно-генетическое исследование рака мочевого пузыря является одной из важнейших проблем при диагностике РМП, рецидивировании и прогрессии. Одним из информативных показателей развития РМП при выборе метода лечения пациентов являются серологические биомаркеры рака мочевого пузыря. В зависимости от воздействия того или иного белка выявили определенные биомаркеры рака мочевого пузыря. Исследование антител проводят путем следующих исследований: EIA (иммуоферментный анализ) или ELISA (твердофазный иммуоферментный анализ), которые являются одним из широко используемых иммунологических методов исследований. В настоящее время выявление определенных биомаркеров, которые могут говорить об степени роста опухоли, течения заболевания и возможности рецидивирования становятся напротив обязательными чем дополнительными, что даёт перспективу в выборе эффективного метода лечения и прогноза заболевания [11].

Изменение пролиферативных свойств клеток имеется при всех опухолях. При дестабилизации работы генов-супрессоров выявляется изменение пролиферативной активности опухолевых клеток РМП, которая нарастает по мере прогрессии опухоли. Для анализа пролиферативной активности клеток опухоли используют антитела к белкам, например, p53. [12].

Белок p53 – является одним из наиболее изученных биомаркеров, который связан со многими новообразованиями человека. По литературным данным, от 45 до 82% образований имеют некоторые повреждения в ДНК данного гена, и около 90% из которых - являются миссенс мутациями, то есть влекут за собой изменение строения белка. [13]. При соматической мутации TP53 выявляется гиперэкспрессия белка p53 в непластических клонах клеток-предшественников. В зависимости от стадии РМП и его степени дифференцировки также изменяется строение белка p53, который может быть неблагоприятным прогностическим фактором. Недавно учёными было выяснено, что p53 может синтезироваться в виде различных изоформ, что вносит еще большее разнообразие в его роль в развитии опухоли. Показано, что средняя безрецидивная выживаемость в группе больных p53-положительными опухолями составила 30 мес, а в группе с p53-негативными - 82 мес. [14]. Продукты генов-супрессоров опухолевого роста p15 и p16 работают как негативные

регуляторы клеточной пролиферации. При выявлении экспрессии p16 при РМП отмечают некоторую неоднородность, а в части работ выявлена связь гиперэкспрессии этого белка с вирусом папилломы человека 16/18 типов. Показано, что при опухолях Ta-T1 выраженная экспрессия p53 и p16 повышает риск развития рецидива в 14,5 раза. При инвазивном раке отмечалась связь этих показателей с G, стадией и наличием метастазов. Имеются данные о том, что коэкспрессия bcl-2 и p53 обусловлена плохими результатами лучевой терапии. При изучении соотношения циклинов и циклин-зависимых киназ была выявлена связь экспрессии циклина D1 с G и стадией РМП, прямая корреляция с экспрессией p21 и p27, а также обратная корреляция с индексом Ki-67. Повышение цитоплазматической экспрессии циклина D1 в карциномах Ta-T1 свидетельствует об увеличении риска опухолевой прогрессии [15].

Уровень опухолевого супрессора p53. Мутации гена TP53 обнаруживают в 50–60 % новообразований более 50 различных типов опухолей. При РМП установлена высокая корреляция экспрессии мутантного TP53 со стадией T и степенью злокачественности. Его гиперэкспрессия рассматривается как фактор отрицательного прогноза, так как связана с низкокодифференцированными и распространенными опухолями. Также имеется корреляция митотического индекса с сосудистой инвазией [16].

Ген p53 регулирует клеточный цикл и апоптоз, контролирует целостность генома.

Активируясь в ответ на самые разные неблагоприятные воздействия, p53 осуществляет на транскрипционном уровне одновременно и активацию гена bax, и супрессию гена bcl-2, отвечающих за апоптоз. При развитии неоплазий, в том числе и переходно-клеточных карцином, часто отмечаются соматические мутации гена p53. Мутации P53 при карциномах уротелия выявляют в 29-53% случаях [17].

TP53 представляет собой ген-супрессор опухолей, расположенный на коротком плече хромосомы 17 (17p13.1) и состоит из 11 экзонов, охватывающих более 20 участков ДНК. Ген TP53 кодирует 393 аминокислоты, 53 кДа, индуцированный ядерным фосфопротеином, который функционирует в основном как фактор транскрипции, связывающий ДНК, связывающий тетрамерную последовательность, для регуляции различных сигнальных путей, участвующих в процессе подавления опухоли. В первую очередь p53 действует в клетке как хранитель генома, предотвращая накопление поврежденной ДНК и возможную клеточную трансформацию, индуцируя остановку клеточного цикла в фазе G0/G1, механизмы репарации ДНК, старение, апоптоз и ингибирование ангиогенеза и метастазирование.

Ген TP53 является наиболее часто мутировавшим геном-супрессором опухоли при всех видах рака человека. Как правило, большинство мутаций TP53 представляют собой точечные миссенс-мутации, расположенный в ДНК-связывающем домене, кодируемом экзонами 4–8, который влияет на способность белка p53 связываться с его последовательностями-мишенями. [18]. Изменения этого гена обычно приводят к продукции функционально дефектного белка с длительным периодом полужизни и стойкой сильной ядерной экспрессией в опухолевых клетках, что можно обнаружить с помощью иммуногистохимии. При раке мочевого пузыря несколько исследований связывают инактивацию p53 с возникновением опухоли, инвазией, метастазированием и агрессивными фенотипами. 50% случаев мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря имеют мутации TP53, непосредственно связанные с прогрессированием заболевания, плохим прогнозом и резистентностью к химиотерапии [18].

В иорданском исследовании мутации p53 при РМП, уровень экспрессии p53 оценивали в 121 ткани рака мочевого пузыря различной степени злокачественности и стадии опухоли. P53 был сверхэкспрессирован в 48/121 (40%) от общего числа случаев пациентов с раком мочевого пузыря, проанализированных в этом исследовании, с ядерной картиной окрашивания, как показано на рисунке А, В. В целом, иммуногистохимия p53 выявила 14/49 (22%) сильного окрашивания pTа, 14/30 (46%) pT1, 17/24 (71%) pT2 и 1/4 (25%) pT4 (рисунок С). Кроме того, p53 был сверхэкспрессирован у 10/54 (19%) больных раком мочевого пузыря 1-й степени, у 12/32 (38%) G2 и у 26/35 (74%) G3, как показано на рисунке D. По существу, сильная экспрессия p53 преобладала на высокой стадии (pT2–pT4) в 18/28 случаях (65%) и в опухолях высокой степени злокачественности (G3) в 26/35 случаях (74%). Однако умеренная экспрессия p53 достоверно не связана со стадией ($p=0,07$) или степенью ($p=0,5$) заболевания.

В целом было обнаружено, что полные мутации гена TP53 связаны с поздними стадиями (pT2–pT4) мышечно-инвазивных опухолей мочевого пузыря ($p=0,05$). Кроме того, полные мутации экзона 4 показали значительную связь с опухолями высокой стадии и злокачественности ($p=0,035$). В частности, вариант R72P показал, что 55 из 82 (67%) опухолей являются гомозиготными, что коррелирует с высокой стадией и степенью опухоли ($p=0,003$). В качестве альтернативы, мутация P67T была идентифицирована в 13 опухолях, вызванных трансверсией GC в гетерозиготном режиме во всех случаях без существенной связи со стадией или степенью опухоли [18].

Заключение. Таким образом, на сегодняшний день имеется большое количество маркеров

прогноза РМП, однако, к сожалению, многие из них трудновыполнимые, что осложняет их применение в клинической практике. Существуют тест-системы (ВТА-тест, UBC-тест, NMP22, ImmunoCyt, UroVysion и др.), которые могут использоваться для ранней диагностики рецидива РМП, но в настоящее время они не рекомендованы для применения в клинической практике. Несмотря на все научные работы, связанные с поиском новых эффективных методов диагностики, перспективы изучения генетических маркеров и их влияния на процессы возникновения, метастазирования остаются ведущими. К сожалению, многие генетические маркеры, которые изучаются, имеют ряд недостатков (высокий уровень ложноположительных результатов, длительность тестирования, отсутствие соответствующего оборудования и сотрудников). В настоящее время некоторые из них являются лишь аналитическими системами и не зарегистрированы FDA (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, США), что не позволяет использовать их в практике. Биологические особенности биомаркеров также изучены недостаточно, но данное направление считается очень перспективным, что в дальнейшем может позволить эффективнее бороться со злокачественными новообразованиями.

Литература:

1. Рекомендации EAU. Эдн. Представлено на ежегодном конгрессе EAU в Амстердаме, 2020 г.
2. Burger M., Catto J.W., Dalbagni G. et al. Эпидемиология и факторы риска уротелиального рака мочевого пузыря. Евр Урол 2013;63(2):234–41. DOI: 10.1016/j.eururo.2012.07.033.
3. Брандт В. Д., Мацуи В., Розенберг Дж. Э. и соавт. Уротелиальная карцинома: стволовые клетки по краю. Метастазы рака, ред. 2009; 28 (3–4): 291–304. DOI: 10.1007/s10555-009-9187-6.
4. Рекомендации EAU. Эдн. Представлено на ежегодном конгрессе EAU в Амстердаме, 2020 г.
5. Burger M., Catto J.W., Dalbagni G. et al. Эпидемиология и факторы риска уротелиального рака мочевого пузыря. Евр Урол 2013;63(2):234–41. DOI: 10.1016/j.eururo.2012.07.033.
6. Смит С.С., Оксфорд Г., Барас А.С. и другие. (2007) Экспрессия galGTPases, их эффекторов и активаторов при раке мочевого пузыря человека. клин. Рак Res., 13: 3803–3813.
7. Павлов В.Н., Измайлова С.М., Измайлов А.А. и др. (2008) Роль полиморфизма генов GSTM1, GSTP1, CY1A1 в злокачественных новообразованиях мочевого пузыря. Материалы III конгресса Российского общества онкоурологов, с. 105–106.
8. Павлов В.Н., Измайлова С.М., Измайлов А.А. и др. (2008) Роль полиморфизма генов GSTM1,

GSTP1, CY1A1 в язвах злокачественных новообразований мочевого пузыря. Материалы III конгресса Российского общества онкоурологов, с. 105–106.

9. Дель Рей Дж., Прат Э., Понса И. и соавт. Кластеризация центросом и амплификация гена циклина D1 в течение двух минут являются обычными явлениями при хромосомных нестабильных опухолях мочевого пузыря. ВМС Рак 2010; 10:280. DOI: 1186/1471-2407-10-280.

10. Ковылина М.В., Прилепская Е.А., Цыбуля О.А. и др. Экспрессия p53 в очагах уротелиальных карцином мочевого пузыря – независимый фактор прогноза. Онкоурология 2016;12(2):36–9. [Ковылина М.В., Прилепская Е.А., Цыбуля О.А. и другие. Роль иммуногистохимического маркера p53 в развитии поверхностного уротелиального рака мочевого пузыря. Онкоурология = Раковая урология 2016; 12(2):36–9. (на русск.)]. DOI: 10.17650/1726-9776-2016-12-2-36-39.

11. Коган М.И. Ракого мочевого пузыря (классика и новации). М.: Медконгресс, 2019. 288 с. [Коган М.И. Рак мочевого пузыря (классика и инновации). Москва: Медконгресс, 2019. 288 с. (на русск.)].

12. Эрнандес С., Лопес-Ноулз Э., Ллорета Дж. и др. Проспективное исследование мутаций FGFR3 как прогностического фактора при немышечно-инвазивных уротелиальных карциномах мочевого пузыря. Дж. Клини Онкол 2006; 24 (22): 3664–71.

13. Мунен П.М., ван Балкен-Ори Б., Кименей Л.А. и др. (2014). Прогностическое значение p53 для рака мочевого пузыря высокого риска при длительном наблюдении. Журн. Ур., 177(1): 80–83.

14. Брандт В.Д., Мацуи В., Розенберг Дж.Е. и соавт. Уротелиальная карцинома: стволовые клетки по краю. Метастазы рака, ред. 2014 г.; 28 (3–4): 291–304. DOI: 10.1007 / s10555-009-9187-6.

15. Немцова М.В., Кушлинский Н.Е. Молекулярный патогенез ракового заболевания. Альманах клинической медицины 2015;(41):79–88. [Немцова М.В., Кушлинский Н.Е.

Молекулярный патогенез рака мочевого пузыря. Альманах клинической медицины = Альманах клинической медицины 2015;(41):79–88. (на русск.)]. DOI: 10.18786/2072-0505-2015-41-79-88.

16. Саал Л.Х., Йоханссон П., Холм К. и другие. (2013) Плохой прогноз при карциноме связан с сигнатурой экспрессии генов aberrантной активности пути супрессора опухоли PTEN. проц. Натл. акад. науч. США, 104: 7564–7569.

17. Брандт В.Д., Мацуи В., Розенберг Дж.Е. и соавт. Уротелиальная карцинома: стволовые клетки по краю. Метастазы рака, ред. 2014 г.; 28 (3–4): 291–304. DOI: 10.1007 / s10555-009-9187-6.

18. Халдон Бодур, Абдулхамид аль-Габкари, Исмаил Маталка, Язан Хаддад, Асем Алхатиб, Саид Джарадат, Зиад В. Джарадат, Мохаммед Аль-Газо, Айя Абу-Шейха, Сара Абу Джалбуш, Юсеф Ярун. Оценка мутаций p53, экспрессии и прогноза у пациентов с раком мочевого пузыря из Иордании: идентификация новых делеционных мутаций в ДНК-связывающем домене, июнь 2017 г., страницы 33–42.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ БИОМАРКЕРА P53, ПРИ РЕЦИДИВЕ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Тилляшайхов М.Н., Джураев М.Д., Бойко Е.В., Юсупов Ш.Х., Суллетбаев Н.Б., Дю А.В.

Резюме. В статье рассматривается прогностическая значимость биомаркера p53 в развитии рецидива рака мочевого пузыря. Гиперэкспрессия p53 была показана в 23%, 47%, 72% и 26% случаев pTa, pT1, pT2 и pT4 соответственно. Кроме того, p53 был гиперэкспрессирован в 20%, 39% и 75% случаев рака мочевого пузыря со степенью градации опухоли G1, G2 и G3 соответственно. Было обнаружено, что мутации P53 в значительной степени связаны с мышечно-инвазивным ростом опухолей мочевого пузыря. Анализ выживаемости указывает на значительные различия в общей выживаемости между пациентами с гиперэкспрессией p53 и пациентами без экспрессии p53.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, иммуногистохимия, биомаркеры, p53, прогноз.