



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.11.2.016>



Курчин В.П.¹, Бамбиза А.В.¹✉, Смолякова Р.М.², Готько О.В.¹

¹ Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

² Республиканский клинический госпиталь инвалидов Великой Отечественной войны имени П.М. Машерова, аг. Лесной, Беларусь

Экспрессия p53 в опухоли как фактор прогноза эффективности адъювантной химиотерапии при немелкоклеточном раке легкого IA–IIB стадии

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Курчин В.П. – разработка концепции и дизайна исследования, статистическая обработка данных, анализ полученных данных, редактирование; Бамбиза А.В. – сбор материала, получение результатов, подготовка текста; Смолякова Р.М. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных; Готько О.В. – сбор материала, получение результатов.

Финансирование: работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова. Финансовой поддержки со стороны компаний – производителей лекарственных препаратов авторы не получали.

Подана: 24.05.2023

Принята: 19.06.2023

Контакты: lesja_bambiza@mail.ru

Резюме

Цель. Изучить влияние уровня экспрессии p53 на эффективность адъювантной химиотерапии радикально оперированных пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) I–IIB стадии и возможности его использования в качестве предиктивного маркера для назначения адъювантной химиотерапии (АХТ).

Материалы и методы. В период с 2008 по 2012 г. на базе РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова проведено рандомизированное исследование, целью которого явилось повышение эффективности радикального лечения пациентов с НМРЛ IA–IIB стадии путем применения АХТ комбинацией препаратов цисплатин и винорелбин (цисплатин 80 мг/м² в 1-й день, винорелбин 30 мг/м² в 1-й и 8-й дни). АХТ проводилась с 14–21 суток неосложненного послеоперационного периода. Всего проводилось 4 курса с интервалом между курсами в 3 недели. У всех пациентов оценивалась экспрессия p53 в опухоли.

Результаты. Молекулярный маркер p53 может играть роль критерия при отборе пациентов для адъювантного лечения, предсказывая высокую эффективность АХТ при негативной или слабоположительной экспрессии тканевого антигена p53, если окрашено менее 15% окрашенных ядер опухолевых клеток.

Заключение. Показатель экспрессии p53 <15% может служить критерием для отбора пациентов после хирургического лечения для проведения АХТ.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, адъювантная химиотерапия, факторы прогноза, предиктивный маркер

Kurchyn V.¹, Bambiza A.¹, Smolyakova R.², Gotko O.¹

¹ N.N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Belarus

² Republican Clinical Hospital for Disabled Great Patriotic War Veterans
named after P.M. Masherov, Lesnoy, Belarus

Expression of p53 in a Tumor as a Predictor of the Effectiveness of Adjuvant Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer IA–IIB Stages

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Kurchyn V. – development of the concept and design of the study, statistical data processing, analysis of the data obtained, editing; Bambiza A. – collection of material, obtaining results, text preparation; Smolyakova R. – development of the concept and design of the study, analysis of the data obtained; Gotko O. – collection of material, obtaining results.

Funding: the work was carried out in accordance with the scientific research plan of the N.N. Alexandrov National Cancer Centre. The authors did not receive financial support from drug manufacturing companies.

Submitted: 24.05.2023

Accepted: 19.06.2023

Contacts: lesja_bambiza@mail.ru

Abstract

Purpose. To study the effect of the p53 expression level on the effectiveness of adjuvant chemotherapy in radically operated patients with stage I–IIB NSCLC and the possibility of its use as a predictive marker for the prescription of ACT

Materials and methods. In the period from 2008 to 2012, on the basis of the RSPC OMR named after. N.N. Aleksandrov, a randomized study was conducted, the purpose of which was to increase the effectiveness of radical treatment of patients with stage IA–IIB non-small cell lung cancer (NSCLC) by using adjuvant chemotherapy with a combination of cisplatin and vinorelbine (cisplatin 80 mg/m² on day 1, vinorelbine 30 mg/m² in 1st and 8th days). ACT was performed from 14–21 days of the uncomplicated postoperative period. A total of 4 courses were conducted with an interval between courses of 3 weeks. In all patients, the expression of p53 in the tumor was evaluated.

Results. The p53 molecular marker can play the role of a criterion in the selection of patients for adjuvant treatment, predicting the high efficiency of ACT with negative or weakly positive expression of the p53 tissue antigen, if less than 15% of stained tumor cell nuclei are stained.

Conclusion. The p53 expression index <15% can be a criterion for selecting patients after surgical treatment for ACT.

Keywords: non-small cell lung cancer, adjuvant chemotherapy, prognosis factors, predictive marker

■ ВВЕДЕНИЕ

Основным методом лечения операбельных пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) является радикальное хирургическое вмешательство в объеме не менее лобэктомии в сочетании с медиастинальной лимфодиссекцией. Однако даже при I стадии НМРЛ после радикальной операции у 20–38% пациентов



развиваются рецидивы и/или отдаленные метастазы, являющиеся основной причиной смерти [1]. Для профилактики рецидивов и метастазов после операции применяется адъювантная химиотерапия (АХТ), которая стала стандартом лечения радикально оперированных пациентов со II(N1)–IIIА стадией НМРЛ [3–6].

Основная проблема при применении адъювантной терапии заключается в том, что большинству радикально оперированных пациентов это лечение не приносит пользы, но может обуславливать снижение качества жизни вследствие проявления токсичных эффектов. Накопленный опыт свидетельствует о том, что данная стратегия повышает 5-летнюю выживаемость всего на 5,3% при I–IIIА стадии НМРЛ [7]. Это обстоятельство делает актуальным выделение подгруппы пациентов, у которых следует ожидать более высокой эффективности от применения АХТ.

Факторы, определяющие эффективность лечебного воздействия, называются предиктивными, в отличие от прогностических факторов, определяющих вероятность прогрессирования болезни и выживаемость независимо от методов лечения злокачественной опухоли [8]. Предиктивный фактор может использоваться как индикатор вероятной пользы для конкретного пациента от конкретного лечения [9].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния уровня экспрессии p53 на эффективность АХТ радикально оперированных пациентов с НМРЛ I–IIВ стадии и возможностей его использования в качестве предиктивного маркера для назначения АХТ.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова в период с 2008 по 2012 г. проведено рандомизированное исследование с целью повышения эффективности радикального лечения пациентов с НМРЛ IA–IIВ стадии путем применения АХТ.

В исследование включены 164 радикально оперированных пациента с НМРЛ IA–IIВ стадии. В контрольную группу (наблюдение) вошел 91 пациент, в исследуемую группу (АХТ) – 73 пациента. В табл. 1 представлена характеристика пациентов, включенных в исследование.

В исследуемой группе 32 пациента отказались от АХТ после рандомизации и подписания информированного согласия, АХТ проведена у 41 пациента. АХТ проводилась с 14–21 суток неосложненного послеоперационного периода комбинацией препаратов цисплатин и винорелбин (цисплатин 80 мг/м² в 1-й день, винорелбин 30 мг/м² в 1-й и 8-й дни). Планировалось проведение 4 курсов АХТ, интервал между курсами составлял 3 недели.

У всех пациентов оценивалась экспрессия p53 в опухоли методом иммуногистохимии [10]. Расчет выживаемости проводился методом Kaplan – Meier [11]. Для сравнения выживаемости в группах применялся логарифмически ранговый критерий [12]. Следует отметить, что в исследовании отсутствовали цензурированные наблюдения со временем наблюдения менее 5 лет.

ROC-анализ проводился с помощью интерактивного Web-статистического пакета easyROC [13]. Для определения оптимального порога значения (точки решения) маркеров для классификации «умер или жив» использовался индекс Yuoden [14], который для порогового значения маркера характеризуется максимальным значением суммы показателей чувствительности и специфичности.

Таблица 1
Характеристика пациентов, включенных в исследование
Table 1
Characteristics of patients included in the study

Показатели	Количество пациентов, абс. (%; ДИ*)	
	Контрольная группа	Исследуемая группа
Возраст, годы (средняя, диапазон)	57,1; 43–65	54,7; 42–65
Пол:		
мужчины	80 (87,9; 79,6–93,1)	55 (75,6; 64,4–83,8)
женщины	11 (12,1; 6,9–20,4)	18 (24,4; 16,2–35,6)
Стадия:		
IA	36 (39,6; 30,1–49,8)	27 (36,6; 26,8–48,5)
IB	22 (24,2; 16,5–33,9)	19 (26,8; 17,3–37,1)
IIA	12 (13,2; 7,7–21,7)	2 (2,4; 0,8–9,5)
IIB	21 (23,1; 15,6–32,7)	25 (34,1; 24,4–45,7)
Объем операции:		
лобэктомия	69 (75,0; 66,1–83,5)	55 (75,3; 64,4–83,8)
билобэктомия	5 (6,0; 2,4–12,2)	3 (4,1; 1,4–11,4)
пневмонэктомия	17 (19,0; 12,0–27,9)	15 (20,6; 12,9–31,2)
Гистологический тип опухоли:		
плоскоклеточный рак	52 (57,1; 46,9–66,8)	39 (53,4; 42,1–64,4)
аденокарцинома	33 (35,9; 27,1–46,5)	31 (42,5; 31,8–53,9)
прочее	6 (7,0; 3,1–13,7)	3 (4,1; 1,4–11,4)
Степень дифференцировки:		
высокая	14 (15,4; 9,4–24,2)	21 (28,8; 19,7–40,0)
умеренная	60 (65,9; 55,7–74,9)	38 (52,1; 40,8–63,1)
низкая	17 (18,7; 12,0–27,9)	14 (19,2; 11,8–29,7)
Всего	91 (100)	73 (100)

Примечание: * ДИ – 95%-ный доверительный интервал.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам ROC-анализа оказалось, что экспрессия p53 обеспечивает хорошее качество классификации, разграничивающей выживших и умерших пациентов через 5 лет после радикального лечения с АХТ. На рис. 1 указаны ROC-кривая при диагностике умерших пациентов за 5-летний период времени в группе с АХТ в зависимости от уровня экспрессии p53 и оптимальное пороговое значение маркера.

Площадь под кривой AUC составила 0,76 (p=0,0005). Оптимальным пороговым значением маркера p53 явилось 15% окрашенных клеток.

График плотности вероятностей исходов наблюдения демонстрирует высокую плотность распределения вероятности благоприятного исхода в интервале значений $0 \leq p53 < 15\%$ и, соответственно, низкую вероятность смерти. Плотность вероятностей исходов (жив, умер) в зависимости от экспрессии p53 и оптимальное пороговое значение маркера указаны на рис. 2.

Такая плотность распределения вероятности исходов в данном интервале значений экспрессии p53 предполагает значительно более высокую ОВ за 5-летний срок наблюдения по сравнению с интервалом значений экспрессии p53 справа от порогового.

Значения экспрессии p53 <15% отмечались у 20 пациентов, а 15% и более – у 21 пациента. Пятилетняя ОВ при значениях p53 <15% составила $94,7 \pm 5,1\%$ против

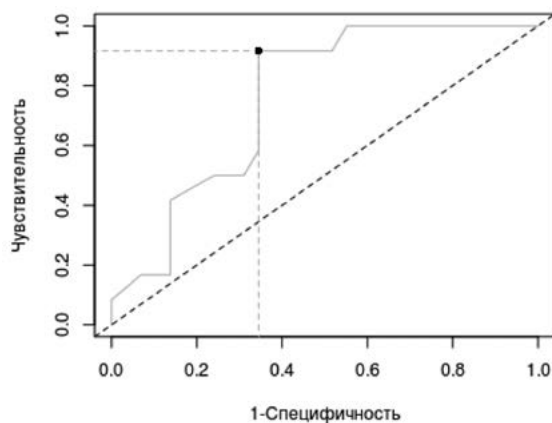


Рис. 1. ROC-кривая при диагностике умерших пациентов за 5-летний период времени в группе с АХТ в зависимости от уровня экспрессии p53 и оптимальное пороговое значение маркера
Fig. 1. ROC curve in the diagnosis of deceased patients over a 5-year period of time in the AHT group, depending on the level of p53 expression and the optimal threshold value of the marker

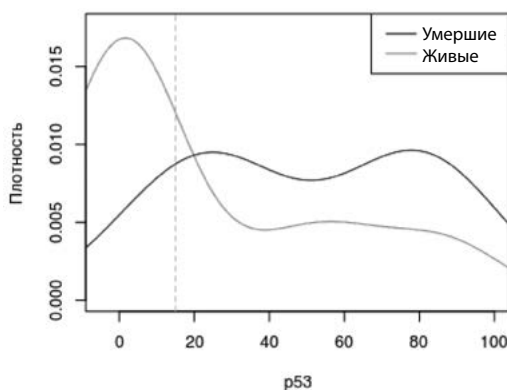


Рис. 2. Плотность вероятностей исходов (жив, умер) в зависимости от экспрессии p53 и оптимальное пороговое значение маркера
Fig. 2. Density of outcome probabilities (alive, dead) depending on p53 expression and the optimal threshold value of the marker

42,9±10,8% при значениях p53 от 15% и более. Общая выживаемость при АХТ в зависимости от уровня экспрессии p53 указана на рис. 3.

Анализируя влияние экспрессии p53 только в исследуемой группе с АХТ, невозможно судить о прогностической или предиктивной роли этих маркеров у пациентов с НМРЛ после радикального лечения. Чтобы прояснить природу этого влияния, был проведен ROC-анализ в контрольной группе, в которой пациенты не получали АХТ. На рис. 4 указана ROC-кривая для маркера p53 в диагностике умерших пациентов за 5-летний период времени в группе без АХТ.

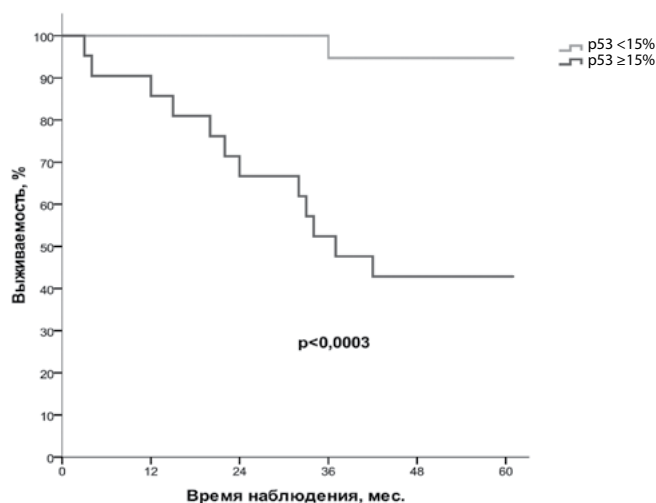


Рис. 3. Общая выживаемость при АХТ в зависимости от уровня экспрессии p53
Fig. 3. Overall survival in AHT depending on the level of p53 expression

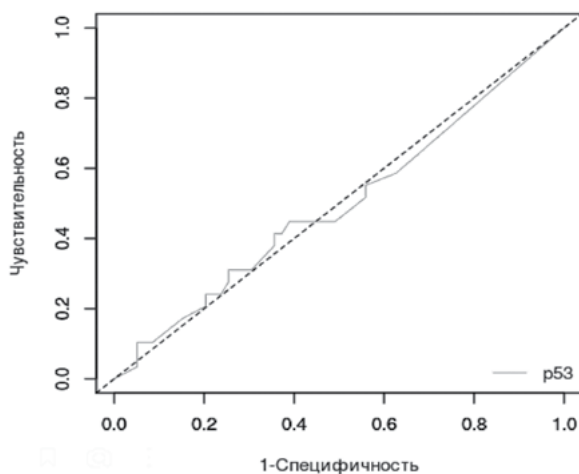


Рис. 4. ROC-кривая для маркера p53 в диагностике умерших пациентов за 5-летний период времени в группе без АХТ
Fig. 4. ROC curve for the p53 marker in the diagnosis of deceased patients over a 5-year period in the group without ACT

Значение AUC составило 0,496, что свидетельствует об отсутствии влияния экспрессии p53 на выживаемость пациентов с НМРЛ при хирургическом лечении без АХТ.

График плотности распределения исходов лечения свидетельствует о почти идентичных функциях плотности вероятностей от значений маркера p53 и отсутствии какого-либо эффективного порогового значения маркера. Плотность вероятностей исходов в зависимости от экспрессии p53 указана на рис. 5.

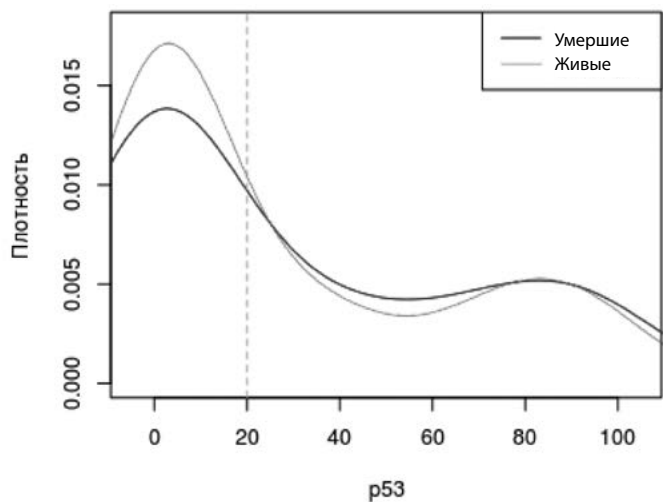


Рис. 5. Плотность вероятностей исходов в зависимости от экспрессии p53
Fig. 5. Density of outcome probabilities depending on p53 expression

Полученные данные свидетельствуют о том, что экспрессия p53 <15% в опухоли, определенная при иммуногистохимическом исследовании, является предиктивным фактором, предсказывающим эффективность АХТ после хирургического лечения пациентов с НМРЛ.

Представляют интерес характеристики пациентов в группе со значением экспрессии p53 <15%, у которых проявляется эффект от АХТ, и пациентов, имеющих менее благоприятный прогноз при значениях экспрессии p53 ≥15%. В табл. 2 представлена характеристика пациентов в группе с АХТ в зависимости от уровня экспрессии p53.

Таблица 2
Характеристика пациентов в группе с АХТ в зависимости от уровня экспрессии p53
Table 2
Characteristics of patients in the AHT group depending on p53 expression level

Показатели	Экспрессия p53	
	Менее 10%	10% и более
	Кол-во пациентов, абс. (%)	Кол-во пациентов, абс. (%)
Поражение лимфоузлов		
N0	16 (80,0)	12 (57,1)
N1	4 (20)	9 (42,9)
Стадия TNM		
IA	9 (45)	6 (28,6)
IB	5 (25,0)	4 (19,0)
IIA	0 (0,0)	1 (4,8)
IIB	6 (30,0)	10 (47,6)

При значениях экспрессии p53 <15% представлены как IA стадия, так и IIB стадия, и распределение по стадиям статистически незначимо отличается от распределения в группе пациентов, у которых экспрессия p53 опухоли составляет 15% и более. Также средний размер опухоли при значениях экспрессии p53 <15% составил $2,9 \pm 0,30$ см, а при больших значениях p53 – $3,2 \pm 0,22$ см ($p=0,465$).

Как показывают характеристики пациентов в подгруппах с различным эффектом АХТ, распространенность опухолевого процесса не является определяющей при проведении АХТ после радикального хирургического вмешательства.

Прогностическое значение экспрессии p53 определялось в исследовании E3590. Из 488 пациентов, включенных в исследование, анализ биомаркеров был возможен у 197. Было сделано заключение, что p53 или K-ras не должны рутинно использоваться у пациентов с НМРЛ при лечении с адьювантной терапией [15].

Предиктивная значимость белка p53 была изучена и в исследовании JBR.10. Было показано, что гиперэкспрессия p53 в опухоли у пациентов без проведения АХТ сопровождалась более низкой общей выживаемостью, однако у пациентов с гиперэкспрессией p53 проведение АХТ приводило к статистически значимому увеличению выживаемости. В то же время мутации в гене RAS не имели прогностической и предиктивной силы [16].

В 2008 г. было начато исследование LACE-Bio предиктивного значения биомаркеров, определяемых иммуногистохимическим методом в образцах опухоли из биобанков, созданных в ходе выполнения исследований IALT, ANITA, JBR.10 и CALGB 9633 по изучению эффективности АХТ [17]. Прогностический и предиктивный анализы включали и p53 (экспрессия белка и мутации). Результаты исследования были неутешительными, так как прогностический и предиктивный эффекты, обусловленные исследуемыми биомаркерами, подтвердить не удалось [17].

В нашем исследовании установлена предиктивная значимость экспрессии p53 в опухоли, оцениваемая по величине доли окрашенных клеток в %. Молекулярный маркер p53 может играть роль критерия при отборе пациентов для адьювантного лечения, предсказывая высокую эффективность АХТ при негативной или слабопозитивной экспрессии тканевого антигена p53, если окрашено менее 15% окрашенных ядер опухолевых клеток.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проспективном рандомизированном исследовании эффективности АХТ радикально оперированных пациентов с НМРЛ I–IIB стадии было установлено, что экспрессия p53 <15% является предиктивным фактором эффективности АХТ и не играет прогностической роли при хирургическом лечении без АХТ. Таким образом, показатель экспрессии p53 <15% может служить критерием для отбора пациентов после хирургического лечения для проведения АХТ.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Yano T., Hara N., Ichinose Y. Local recurrence after complete resection for non-small-cell carcinoma of the lung: Significance of local control by radiation treatment. *J Thorac Oncol.* 1994;107(1):8–12.
2. Lou F., Sima C.S., Rusch V.W. Differences in patterns of recurrence in early-stage versus locally advanced non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 2014;98(5):1755–1761. doi: 10.1016/j.athoracsurg.2014.05.070.



3. Howington J.A., Blum M.G., Chang A.C. Treatment of stage I and II non-small cell lung cancer. diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2013;143(5 Suppl):e278S–e313S. doi: 10.1378/chest.12-2359.
4. Kris M.G., Gaspar L.E., Chaft J.E. Adjuvant systemic therapy and adjuvant radiation therapy for stage I to IIIA completely resected non-small-cell lung cancers: American society of clinical oncology/Cancer care Ontario clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2017;35(25):2960–2974. doi: 10.1200/JCO.2017.72.4401.
5. Ettinger D.S., Wood D.E., Aisner D.L. Non-Small Cell Lung Cancer, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2022;20(5):497–530. doi: 10.6004/jnccn.2022.0025.
6. Postmus P.E., Kerr K.M., Oudkerk M. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2017;28(suppl_4):iv1–iv21. doi: 10.1093/annonc/mdx222.
7. Pignon J-P, Tribodet H., Scagliotti G. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *J Clin Oncol*. 2008;26(21):3552–3559. doi: 10.1200/JCO.2007.13.9030.
8. Sargent D.J., Conley B.A., Allegra C. Clinical trial designs for predictive marker validation in cancer treatment trials. *J Clin Oncol*. 2005;23(9):2020–2027. doi: 10.1200/JCO.2005.01.112.
9. McShane L.M., Altman D.G., Sauerbrei W. Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies (remark). *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(16):1180–1184. doi: 10.1093/jnci/dji237.
10. Zharkov V., Smolyakova R., Kurchin V. Immunogistolhimicheskie metody opredeleniya prognosticheskikh faktorov pri nemelkokletochnom rake legkogo I–IIb stadii: instrukciya po primeneniyu № 113-1111: utv. M-vom zdrazvoohraneniya Resp. Belarus' 23.12.2011. RNPC OMR im. N. N. Aleksandrova. Minskij r-n, 2012. 9 p. (in Russian)
11. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*. 1958;53:457–481. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/01621459.1958.10501452>.
12. Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep*. 1966;50(3):163–170.
13. Goksuluk D., Korkmaz S., Zararsiz G., Karaagaoglu A.E. easyROC: An interactive web-tool for ROC curve analysis using R language environment. *R Journal*. 2016;8:213–230. doi: 10.32614
14. Youden W.J. Index for rating diagnostic tests. *Cancer*. 1950;3(1):32–35. doi: 10.1002/1097-0142(1950)3:1<32::aid-cnrcr2820030106>3.0.co;2-3.
15. Schiller J.H., Adak S., Feins R.H. Lack of prognostic significance of p53 and K-ras mutations in primary resected non-small-cell lung cancer on E4592: A laboratory ancillary study on an Eastern Cooperative Oncology Group prospective randomized trial of postoperative adjuvant therapy. *J Clin Oncol*. 2001;19(2):448–457. doi: 10.1200/JCO.2001.19.2.448.
16. Tsao M.S., Le Teuff G., Shepherd F.A. PD-L1 protein expression assessed by immunohistochemistry is neither prognostic nor predictive of benefit from adjuvant chemotherapy in resected non-small cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2017;28(4):882–889. doi: 10.1093/annonc/mdx003.
17. Seymour L., Le Teuff G., Brambilla E. LACE-Bio: Validation of Predictive and/or Prognostic Immunohistochemistry/Histochemistry Based Biomarkers in Resected Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer*. 2019;20(2):66–73. doi: 10.1016/j.clcc.2018.10.001.