

Ocena prognostycznego znaczenia ekspresji wybranych białek i genów działających w sieci TP53 u pacjentek z rakiem jajnika

SŁOWA KLUCZOWE - rak jajnika, ekspresja, TP53, MDM2, HUWE1, 14-3-3 σ , SFN, znaczenie kliniczne, odpowiedź na chemioterapię.

WSTĘP – Gen *TP53* należy do genów supresorowych transformacji nowotworowej i jest często zmutowany w rakach jajnika. Białko TP53 bierze udział w zatrzymaniu cyklu komórkowego, indukcji apoptozy, regulacji transkrypcji genów i naprawie uszkodzeń DNA. W sieci TP53 działają między innymi białka MDM2, HUWE1 i 14-3-3 σ , które wpływają na poziom i aktywność białka TP53, a tym samym na proliferację i apoptozę komórek raka. Te dwa parametry wpływają z kolei na prognozę i odpowiedź nowotworów na leczenie chemiczne. Zaburzenie ekspresji tych białek może odgrywać istotną rolę w kancerogenezie.

CELE – Celem niniejszej pracy było poszukiwanie markerów przebiegu choroby lub wrażliwości na leczenie chemiczne w zaawansowanych rakach jajnika w dużej grupie pacjentek. Badania polegały na analizie poziomu ekspresji białek regulujących poziom TP53: MDM2, HUWE1 i 14-3-3 σ . Celem była ocena poziomu tych białek jako potencjalnych czynników prognostycznych i predykcyjnych u pacjentek z rakiem jajnika oraz weryfikacja tych wyników na poziomie mRNA. Poza tym wykonano analizę korelacji ekspresji genów *MDM2/HUWE1/SFN* i *TP53*.

MATERIAŁ I METODY – Badania immunohistochemiczne przeprowadzono na archiwalnym materiale tkankowym (błoczki parafinowe) pochodzącym od 239 pacjentek. Pacjentki były leczone z zastosowaniem paklitakselu lub docetakselu z dodatkiem cisplatyny lub karboplatyny. Ocenę ekspresji białek wykonano półilościowo w kategoriach od 0 (negatywna) do 3 (intensywna) z pomocą mikroskopu świetlnego. Dla białka HUWE1 arbitralnie przyjęto punkt odcięcia w połowie skali (ID score 1.5), natomiast dla pozostałych białek ekspresja została skategoryzowana jako wysoka (2/3) vs niska (0/1). Analizę ekspresji mRNA wykonano na materiale mrożonym pochodzącym od 74 pacjentek. Posłużono się metodą ilościowego PCR (Real-Time qPCR). Poziom ekspresji był mierzony przy użyciu sond typu TaqMan znakowanych barwnikiem fluorescencyjnym. Analizy statystyczne zostały wykonane przy użyciu jedno i wieloczynnikowego modelu proporcjonalnego ryzyka Cox'a (ocena parametrów prognostycznych) oraz jedno i wieloczynnikowego modelu regresji

logitowej (ocena parametrów predykcyjnych). Ekspresję poziomu białek traktowano jako zmienną kategoryzowaną, natomiast ekspresję genów jako zmienną ciągłą. We wszystkich modelach wieloczynnikowych uwzględniono następujące zmienne: wiek, typ histologiczny, stopień zaawansowania klinicznego, stopień zróżnicowania histologicznego, status TP53 i wielkość pozostawionych resztek po zabiegu operacyjnym. Dla zmiennych istotnych statystycznie w modelu Cox'a wykreślono krzywe przeżycia Kaplana-Meiera. Powiązanie ekspresji białek z czynnikami kliniczno-patologicznymi zbadano przy pomocy testów randomizacyjnych. Analizę korelacji pomiędzy ekspresją badanych genów a genem *TP53* wykonano za pomocą testu Pearsona.

WYNIKI – MDM2: wysoki poziom białka MDM2 stwierdzono u 16% pacjentek z zaawansowanym rakiem jajnika. Pacjentki z nadekspresją tego białka miały 4-krotnie mniejsze prawdopodobieństwo platynowrażliwości oraz 3,5-krotnie mniejsze prawdopodobieństwo całkowitej remisji w podgrupie z prawidłowym TP53. Wysoki poziom ekspresji mRNA zwiększał prawie 1,5-krotnie prawdopodobieństwo zgonu pacjentek bez akumulacji TP53. Stwierdzono silną ujemną korelację pomiędzy ekspresją genu *MDM2* i *TP53*. Poza tym guzy z akumulacją białka TP53 charakteryzowały się niskim poziomem białka MDM2. **HUWE1:** wysoki poziom białka HUWE1 zaobserwowano u 68% pacjentek i wykazano jego wpływ na czas całkowitego przeżycia pacjentek z rakiem jajnika. Pacjentki z podgrupy TP53+, charakteryzujące się wysokim poziomem HUWE1, miały prawie 2-krotnie wyższe ryzyko zgonu. Natomiast wysoki poziom ekspresji genu *HUWE1* wykazał negatywny wpływ na czas całkowitego przeżycia, czas wolny od choroby oraz prawdopodobieństwo platynowrażliwości u pacjentek z podgrupy z prawidłowym TP53. Nie stwierdzono wpływu ekspresji HUWE1 na czynniki kliniczno-patologiczne oraz korelacji pomiędzy ekspresją genów *HUWE1* i *TP53*. **14-3-3σ:** wysoki poziom białka 14-3-3σ stwierdzono w 67% przypadków raka jajnika oraz wykazano u tych pacjentek ponad 3-krotnie większe prawdopodobieństwo całkowitej remisji. Tę zależność zaobserwowano jedynie u pacjentek bez akumulacji białka TP53. Natomiast poziom ekspresji odpowiedniego genu – *SFN* wykazał negatywny wpływ na ryzyko wznowy niezależnie od statusu TP53. Nie stwierdzono wpływu poziomu ekspresji 14-3-3σ na czynniki kliniczno-patologiczne oraz korelacji pomiędzy ekspresją genów *SFN* i *TP53*.

WNIOSKI – Białka MDM2 i HUWE1 są odpowiedzialne za ubikwitynację i degradację TP53. Niniejsze badania sugerują, że wysoki poziom ich ekspresji oraz odpowiednich genów może mieć negatywny wpływ na rokowanie lub przebieg kliniczny raka jajnika, zależnie od

statusu TP53. Natomiast wysoki poziom białka 14-3-3 σ , odpowiedzialnego za stabilizację TP53 oraz innych białek komórkowych, może pozytywnie wpływać na prawdopodobieństwo remisji pacjentek z rakiem jajnika. Z drugiej strony wysoki poziom mRNA *SFN* może być związany ze złym rokowaniem. Badane białka i geny mogą być potencjalnymi markerami przebiegu choroby oraz wrażliwości na leczenie w rakach jajnika.