

Prognostický význam survivinu u pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinomem rekta léčených pooperační adjuvantní radioterapií

Josef Dvořák^{1,2}, Veronika Sitorová³, Igor Richter⁴, David Buka¹, Igor Sirák¹,
Zuzana Donátová², Jana Hátlová³, René Vobořil⁵

¹Klinika onkologie a radioterapie LF UK a FN Hradec Králové

²Onkologická klinika, 1. LF UK a Thomayerova nemocnice, Praha

³Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN Hradec Králové

⁴Oddělení klinické onkologie, Krajská nemocnice Liberec, a.s.

⁵Chirurgická klinika 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha

Východiska a cíl: Survivin je multifunkční protein, který inhibuje apoptózu a hraje významnou roli v buněčném dělení. Radioterapie i chemoterapie indukují apoptózu v nádorových buňkách. Ve studii na buněčných liniích adenokarcinomu kolorekta byla pozorována inverzní korelace mezi expresí survivinu a spontánní i radioterapií indukovanou apoptózou. Cílem této studie bylo určit předléčebnou expresi survivinu u pacientů léčených pooperační adjuvantní radioterapií pro lokálně pokročilý adenokarcinom rekta a zhodnotit její prognostický význam.

Pacienti a metody: Do studie bylo zařazeno 59 pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinomem rekta, léčených pooperační adjuvantní radioterapií.

Výsledky: Pětileté celkové přežití (OS) dle exprese survivinu: survivin = 0 (negativní) = 56 %, pětileté celkové přežití survivin > 0 (pozitivní) = 55 %, logrank: $p = 0,26$; HR = 0,69. Pětileté přežití bez progresu (PFS) dle exprese survivinu: survivin = 0 (negativní) = 46 %, pětileté přežití bez progresu (PFS) survivin > 0 (pozitivní) = 52 %, logrank: $p = 0,74$; HR = 0,89.

Závěr: Tato studie zmapovala expresi survivinu pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinomem rekta, léčených pooperační adjuvantní radioterapií. V hodnoceném souboru nebyl prokázán její prognostický význam, což může být způsobeno limitovaným počtem pacientů.

Klíčová slova: karcinom rekta, radioterapie, apoptóza, survivin.

Prognostic significance of survivin expression in patients with locally advanced rectal adenocarcinoma treated with postoperative adjuvant radiotherapy

Background and aim: Survivin is a multifunctional protein that inhibits apoptosis, and plays a central role in cell division. Radiotherapy and chemotherapy induce apoptosis in cancer cells. In a study on colorectal adenocarcinoma cell lines was observed an inverse correlation between the expression of survivin and spontaneous and radiotherapy-induced apoptosis. The aim of this study was to determine the pretreatment expression of survivin in patients treated with postoperative adjuvant radiotherapy for locally advanced rectal adenocarcinoma and evaluate its prognostic significance.

Patients and methods: In total 59 patients with locally advanced rectal cancer were studied retrospectively.

Results: Five-year overall survival (OS) according to survivin expression: survivin = 0 (negative) = 56% five-year overall survival, survivin > 0 (positive) = 55%, logrank: $p = 0.26$; HR = 0.69. Five-year survival (PFS) according to survivin expression: survivin = 0 (negative) = 46% five-year survival (PFS) survivin > 0 (positive) = 52%, logrank: $p = 0.74$; HR = 0.89.

Conclusion: The results of this study demonstrate survivin expression in locally advanced rectal adenocarcinoma. This study did not show predictive or prognostic significance of survivin expression, which may be due to the limited number of patients.

Key words: rectal cancer, radiotherapy, apoptosis, survivin.

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

doc. MUDr. Josef Dvořák, Ph.D., josef.dvorak@ftn.cz

Onkologická klinika 1. LF UK a Thomayerovy nemocnice, Vídeňská 800, 140 59 Praha

Cit. zkr: Onkologie 2016; 10(3): 131–134

Článek přijat redakcí: 29. 3. 2016

Článek přijat k publikaci: 2. 5. 2016

Úvod

Survivin je multifunkční protein, který inhibuje apoptózu a hraje významnou roli v buněčném dělení (1, 2). Survivin, též nazývaný „baculoviral inhibitor of apoptosis repeat-containing 5 (BIRC5)“ je členem rodiny inhibitorů apoptózy „inhibitor of apoptosis proteins/baculoviral IAP repeat containing proteins (IAP/BIRP)“. Jeho upregulace byla zdokumentována u širokého spektra solidních nádorů a hematologických malignit (3). Proteiny IAP/BIRP představují hlavní endogenní inhibitory kaspáz, efektorových enzymů apoptózy (4, 5). Existuje významná pozitivní regulace mezi proteiny IAP/BIRP a „nuclear factor κB (NFκB)“ (3, 6, 7). Gen survivin/BIRC5 je řazen mezi onkogeny. Při jeho zvýšené expresi se nádorové buňky stávají více rezistentní na stimuly apoptózy, více radiorezistentní a chemorezistentní. Radioterapie i cytostatická chemoterapie indukují apoptózu v nádorových buňkách. Ve studii na buněčných liniích adenokarcinomu kolorekta byla pozorována inverzní korelace mezi expresí survivinu a spontánní i radioterapií indukovanou apoptózou (8, 9). Imunohistochemicky stanovená exprese survivinu koreluje se sníženou apoptózou, zvýšenou proliferací a zvýšenou angiogenezí (10–13).

Cílem této studie bylo určit předléčebnou expresi survivinu pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinodem rekta, léčených pooperační adjuvantní radioterapií a zhodnotit její prognostický význam.

Pacienti a metody

Do studie bylo zařazeno 59 pacientů (36 mužů a 23 žen) s lokálně pokročilým adenokarcinodem rekta, kteří byli léčeni na Klinice onkologie a radioterapie FN Hradec Králové od července 1995 do března 2004. Medián věku činil 64 (36–80) let. Medián předléčebné hladiny CEA činil 3,7 (0,19–916,19) µg/l. Anatomická sublokalizace nádoru: dolní rektum (0–5 cm) 17 pacientů, střední rektum (výše než 5–10 cm) 19 pacientů a horní rektum (výše než 10 cm) 23 pacientů. Patologická TNM klasifikace před pooperační radiochemoterapií: II. stadium 37 pacientů a III. stadium 22 pacientů.

Pooperační radioterapie byla aplikována na oblast malé pánve ze 4 polí box technikou, lineárním urychlovačem, ložiskovou dávkou 45 Gy / 25 frakcí / 5x týdně, u 18 pacientů s následným boostem 5,4 Gy / 3 frakce zmenšenými

Tab. 1. Exprese survivinu v %

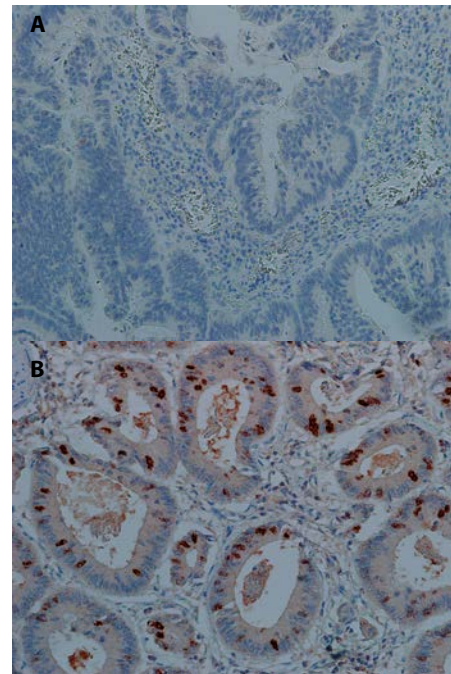
Procenta	0 %	1–25 %	26–50 %	51–75 %	76–100 %
Počet pacientů	32	21	4	1	1

poli. U 19 pacientů byla aplikována samostatná radioterapie a u 40 pacientů byla radioterapie potencována 5-fluorouracilem v dávce 200 mg/m²/den kontinuálně, po dobu radioterapie, s víkendovými přerušeními. Dva pacienti nedokončili plánovanou dávku radioterapie z důvodu gastrointestinální toxicity. Tři pacienti nedokončili plánovanou potenciaci 5-fluorouracilem, z důvodu hematologické toxicity.

Radikální R0 resekce nádoru u 55 pacientů: radikální resekce nádoru se zachováním anu u 35 pacientů a abdominoperianální amputace rekta u 20 pacientů. Radikální resekce se zachováním anu s mikroskopicky pozitivními okraji byla provedena u 4 pacientů.

Histologická vyšetření chirurgického resekátu byla prováděna ve Fingerlandově ústavu patologie FN v Hradci Králové. Materiál byl rutinně fixován v 10% formalinu, zpracován běžnou parafínovou technikou a barven hematoxylinem-eosinem. Stanoven byl histologický typ nádoru a stupeň jeho diferenciaci. Grading v resekátu byl u 5 pacientů dobře diferencovaný, 32 pacientů středně a 22 pacientů málo diferencovaný. V archívních parafínových bločcích byla imunohistochemicky vyšetřena exprese survivinu (obrázek 1). Exprese survivinu byla vyjadřována v procentech (tabulka 1). Ke sta-

Obr. 1a, b. Imunohistochemické vyšetření survivinu; Obrázek 1a: Negativní exprese survivinu, zvětšeno 200x; Obrázek 1b: Pozitivní exprese survivinu, zvětšeno 200x

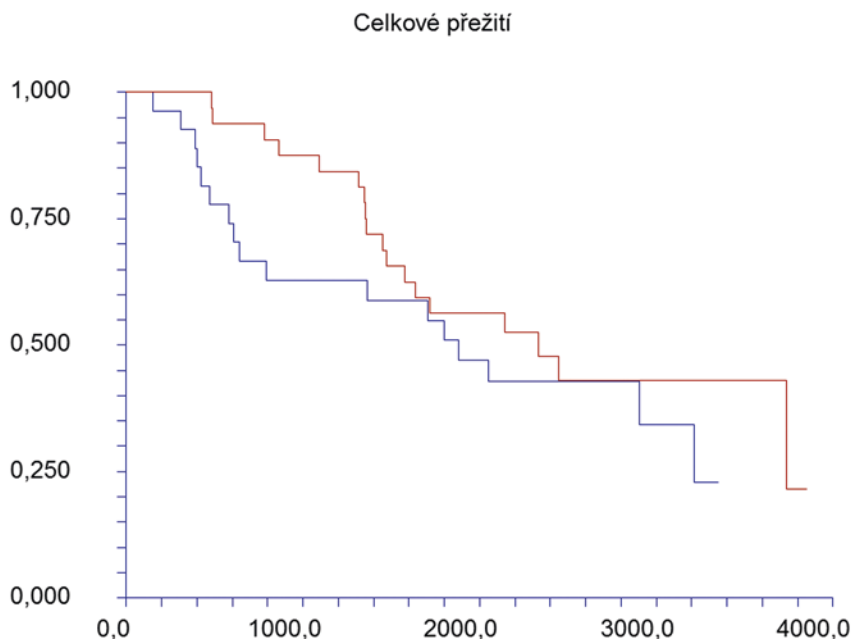


tistickému hodnocení byl použit statistický program NCSS 9.

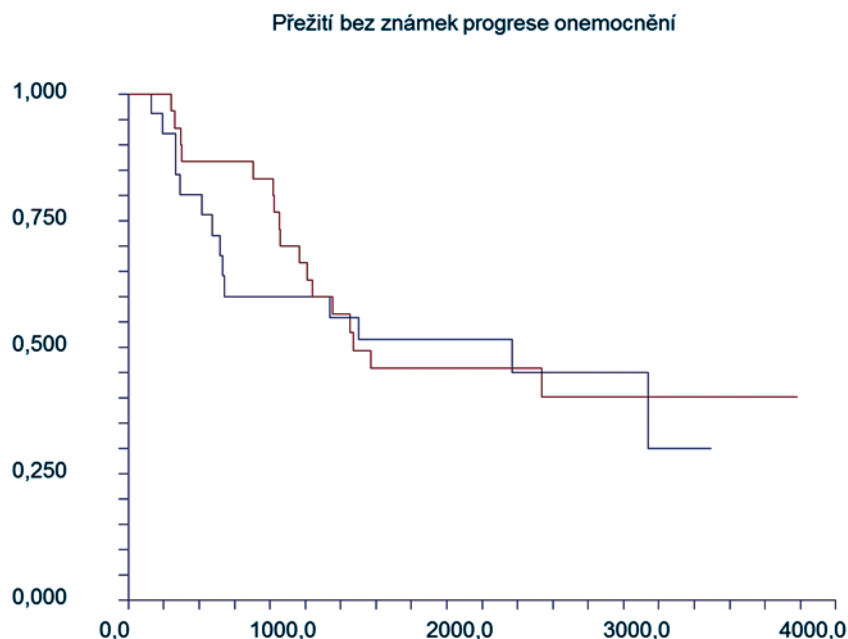
Výsledky

Medián doby sledování souboru byl 68 měsíců (tj. 5,6 roku) od ukončení léčby. U 34

Obr. 2. Pětileté celkové přežití (OS) podle exprese survivinu; pacienti s negativní expresí survivinu (0%) červená křivka; pacienti s pozitivní expresí survivinu (≥ 1 %) modrá křivka



Obr. 3. Pětileté přežití bez progresu (PFS) podle exprese survivinu; pacienti s negativní expresí survivinu (0 %) červená křivka; pacienti s pozitivní expresí survivinu (≥ 1 %) modrá křivka



pacientů došlo v průběhu poléčebného sledování k recidivě onemocnění, 38 pacientů v době sledování zemřelo. V době hodnocení souboru žilo 17 pacientů bez známek onemocnění a 3 pacienti s recidivou onemocnění. 5leté celkové přežití (OS) souboru činilo 51 % (95% CI: 38–64%). 5leté přežití bez příznaků onemocnění (DFS) celého souboru činilo 47 % (95% CI: 34–60 %).

U 27 pacientů byla exprese survivinu pozitivní, u 32 negativní (tabulka 1). Pětileté celkové přežití (OS) podle exprese survivinu: survivin = 0 (negativní) = 56 % (95% CI = 39–73 %), pětileté celkové přežití survivin > 0 (pozitivní) = 55 % (95% CI = 36–74 %), logrank: $p = 0,26$; HR = 0,69 (95% CI = 0,35–1,35) (obrázek 2). Pětileté přežití bez progresu (PFS) podle exprese survivinu: survivin = 0 (negativní) = 46 % (95% CI = 28–64 %), pětileté přežití bez progresu (PFS) survivin > 0 (pozitivní) = 52 % (95% CI = 32–71 %), logrank: $p = 0,74$; HR = 0,89 (95% CI = 0,43–1,81) (obrázek 3).

LITERATURA

1. Pennati M, Folini M, Zaffaroni N. Targeting survivin in cancer therapy: fulfilled promises and open questions. *Carcinogenesis* 2007; 28: 1133–1139.
2. Huang J, Lyu H, Wang J, Liu B. MicroRNA regulation and therapeutic targeting of survivin in cancer. *Am J Cancer Res* 2014; 5: 20–31.
3. Khan S, Ferguson Bennit H, et al. Localization and upregulation of survivin in cancer health disparities: a clinical perspective. *Biologics* 2015; 9: 57–67.
4. Klener P, Klener P Jr. Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii. Praha: Grada Publishing 2010; 232 s.
5. Vávrová J, Mareková M, Vokurková D. Dvě hlavní cesty indukce apoptózy u savčích buněk. *Rad Onkol* 2003; 3: 1–9.

Diskuze

Expresí survivinu, v operačním resektátu po předoperační radioterapii dávkou 25 Gy / 5 frakcí/ 5x týdně, byla hodnocena u 98 pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinomem rekta, kteří se účastnili studie Swedish Rectal Cancer Trial (14, 15). Imunohistochemické vyšetření bylo provedeno u 57 pacientů léčených pouze chirurgicky a u 41 pacientů léčených předoperační radioterapií a operací. Medián poléčebného sledování (follow-up) pacientů činil 63 měsíců. Expresí survivinu statisticky významně korelovala s kratší dobou přežití ($p = 0,02$) v celém souboru 98 pacientů (léčených pouze chirurgicky nebo předoperační radioterapií a operací). V kohortách pacientů léčených pouze chirurgicky ($p = 0,08$) a předoperační radioterapií a operací ($p = 0,19$), tento vztah exprese survivinu k době přežití nebyl prokázán. Předpokládaným mechanismem vztahu mezi expresí survivinu a nepří-

znou prognózou pacientů s adenokarcinomem rekta je inhibice apoptózy survivinem (15).

V německé studii byla v endobiopsiích před předoperační radiochemoterapií u 54 pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinomem rekta vyšetřena exprese survivinu, p53, Bcl-2 a apoptotický index. Výsledky imunohistochemického vyšetření byly korelovány s klinickými daty pětiletého poléčebného sledování. Expresí survivinu inverzně korelovala s apoptotickým indexem: silná exprese survivinu, která byla u 56 % případů, byla spojena s nižším apoptotickým indexem (1,22 %) a naopak nízká exprese survivinu byla spojena s vyšším apoptotickým indexem (2,29 %; $p = 0,0001$). Nízká exprese survivinu korelovala s prodloužením doby přežití bez známek onemocnění (77 % vs. 18 %, 5 let po léčbě, $p = 0,02$), sníženým rizikem vzdálených metastáz (18 % vs. 78 %, 5 let po léčbě, $p = 0,05$) a lokálních recidiv (6 % vs. 37 %, v porovnání s vysokou expresí survivinu, $p = 0,07$). Dle výsledků této studie, inverzní korelace mezi expresí survivinu a apoptózou dokládá, že survivin silně inhibuje apoptózu u adenokarcinomu rekta (16).

Některé recentní práce poukazují na možnou odlišnou úlohu survivinu u různých nádorových onemocnění (2, 13). K validaci jeho role bude zapotřebí ještě řady studií.

Závěr

Tato studie zmapovala expresi survivinu pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinomem rekta. V hodnoceném souboru nebyl prokázán prediktivní ani prognostický význam exprese survivinu u pacientů léčených pooperační adjuvantní radioterapií pro lokálně pokročilý adenokarcinom rekta, což může být způsobeno limitovaným počtem pacientů.

Práce byla podpořena projektem PRVOUK P37/01 a PRVOUK P37/11.

6. Voboril R, Voborilova J, Rychterova V, Jirasek T, Dvorak J. Dissociated invasively growing cancer cells with NF-kappaB/p65 positivity after radiotherapy: a new marker for worse clinical outcome in rectal cancer? Preliminary data. *Clin Exp Metastasis* 2008; 25(4): 491–496.
7. Voboril R, Rychterova V, Voborilova J, Kubecova M, Fanta J, Dvorak J. NF-kB/p65 expression before and after treatment in rectal cancer patients undergoing neoadjuvant (chemo)radiotherapy and surgery: prognostic marker for disease progression and survival. *Neoplasma* 2016 Mar 14. doi: 10.4149/317_151013N525. [Epub ahead of print].
8. Rödel C, Haas J, Groth A, Grabenbauer GG, Sauer R, Rödel F. Spontaneous and radiation-induced apoptosis in colorectal carcinoma cells with different intrinsic radiosensi-

9. Capalbo G, Rödel C, Stauber RH, et al. The role of survivin for radiation therapy. Prognostic and predictive factor and therapeutic target. *Strahlenther Onkol* 2007; 183: 593–599.
10. Kawasaki H, Toyoda M, Shinohara H, et al. Expression of survivin correlates with apoptosis, proliferation, and angiogenesis during human colorectal tumorigenesis. *Cancer* 2001; 91: 2026–2032.
11. Kim PJ, Plescia J, Clevers H, Fearon ER, Altieri DC. Survivin and molecular pathogenesis of colorectal cancer. *Lancet* 2003; 362: 205–209.
12. Rödel F, Sprenger T, Kaina B, et al. Survivin as a prognostic/predictive marker and molecular target in cancer therapy. *Curr Med Chem* 2012; 19: 3679–3688.

» PŮVODNÍ PRÁCE

PROGNOSTICKÝ VÝZNAM SURVIVINU U PACIENTŮ S LOKÁLNĚ POKROČILÝM ADENOKARCINOMEM REKTA LÉČENÝCH POOPERAČNÍ ADJUVANTNÍ RADIOTERAPIÍ

13. Soleimanpour E, Babaei E. Survivin as a Potential Target for Cancer Therapy. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 6187–6191.

14. Swedish Rectal Cancer Trial. Improved survival with preoperative radiotherapy in resectable rectal cancer. *Swedish*

Rectal Cancer Trial. N Engl J Med 1997; 336: 980–987.

15. Knutsen A, Adell G, Sun XF. Survivin expression is an independent prognostic factor in rectal cancer patients with and without preoperative radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60: 149–155.

16. Rödel F, Hoffmann J, Grabenbauer GG, et al. High survivin expression is associated with reduced apoptosis in rectal cancer and may predict disease free survival after preoperative radiochemotherapy and surgical resection. *Strahlenther Onkol* 2002; 178: 426–435.