

ВЗАИМОСВЯЗЬ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА (P53, BCL-2, BAX) С КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ И ВЫЖИВАЕМОСТЬЮ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

Д.С. Кобяков¹, А.Ф. Лазарев², Е.Л. Лушникова³, Л.М. Непомнящих³

*Бюджетное учреждение «Когалымская городская больница», г. Когалым¹
Алтайский филиал РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Барнаул²
ФГБУ «НИИ региональной патологии и патоморфологии» СО РАМН, г. Новосибирск³
628480, Тюменская область, г. Когалым, ул. Молодежная, 19,
e-mail: dskob@yandex.ru¹*

Исследована экспрессия p53, bcl-2 и bax во взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью при немелкоклеточном раке легкого (НМКРЛ). Отмечается взаимосвязь экспрессии p53, bcl-2 и bax с клинико-морфологическими параметрами НМКРЛ: экспрессия bcl-2 и p53 выше при плоскоклеточном раке, экспрессия bax выше при аденокарциноме, экспрессия bcl-2 выше при отсутствии лимфогенных метастазов и при НМКРЛ I стадии. Показатели выживаемости больных НМКРЛ зависят от экспрессии p53, bcl-2 и не зависят от экспрессии bax, показатели выживаемости повышаются при экспрессии bcl-2 и снижаются при экспрессии p53. Уровень выживаемости больных НМКРЛ взаимосвязан с взаимным содержанием bcl-2, p53 и bax, он выше при иммунофенотипах -p53/+bcl-2 и -p53/+bcl-2/-bax и ниже при иммунофенотипах +p53/+bax и +p53/-bcl-2/+bax. При однофакторном регрессионном анализе bcl-2 и p53 являлись факторами прогноза. Многофакторный регрессионный анализ не выявил взаимосвязи bcl-2, p53 и bax с прогнозом НМКРЛ.

Ключевые слова: p53, bcl-2, bax, немелкоклеточный рак легкого, отдаленная выживаемость.

RELATIONSHIP BETWEEN APOPTOSIS MARKERS(P53, BCL-2, BAX) AND CLINICAL-MORPHOLOGICAL PARAMETERS AND SURVIVAL IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

D.S. Kobayakov¹, A.F. Lazarev², E.L. Lushnikova³, L.M. Nepomnyashchikh³
Kogalym Municipal Hospital, Kogalym¹

*Altai branch of the N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, RAMS, Barnaul²
Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology of Siberian Division of the Russian Academy
of Medical Sciences, Novosibirsk³
19, Molodezhnaya Street, 628480-Kogalym, Tyumen region, Russia,
e-mail: dskob@yandex.ru¹*

The purpose of the study was to analyze the relationship between expression of the p53, bcl-2 and bax genes and clinical-morphological parameters and survival in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). Expression of bcl-2 and p53 was found to be higher in patients with squamous cell carcinoma, bax expression was higher in patients with adenocarcinoma and bcl-2 level was higher in patients with stage I NSCLC and in patients having no lymph node metastases. Survival of patients with NSCLC depended on the expression of p53, bcl-2 and depended no on the bax expression. Survival rates were increased in bcl-2 expression and decreased in p63 expression. Survival rate of patients with NSCLC was higher in -p53/+bcl-2 and -p53/+bcl-2/-bax immune phenotypes and lower in +p53/+bax and +p53/-bcl-2/+bax immune phenotypes. The unifactor regression analysis showed that bcl-2 and p53 were prognostic factors. The multifactor regression analysis revealed no relationship between bcl-2, p53, bax and prognosis of NSCLC.

Key words: p53, bcl-2, bax, non-small cell lung cancer, long-term survival.

Рак легкого (РЛ) занимает ведущее место в заболеваемости и смертности среди злокачественных новообразований. Не менее 80 % случаев РЛ приходится на немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ), отдаленные результаты лечения которого

остаются неудовлетворительными. В связи с этим ведется поиск предиктивных и прогностических морфологических параметров НМКРЛ.

Развитие апоптоза происходит в результате последовательной активации каспаз (сериновых

протеаз). Апоптоз запускается двумя путями: рецепторным (через активацию каспаз 8 и 10) и митохондриальным путем (через активацию каспазы 9). Оба пути на конечном этапе активируют эффекторные каспазы 3, 6 и 7. Bcl-2 является антиапоптотическим белком, а bax – проапоптотическим белком митохондриального пути активации апоптоза, которая происходит через белок p53, а инактивация – через димеризацию с белком bcl-2. Белок p53 является транскрипционным фактором, регулирующим функцию большинства генов, выполняя супрессорную функцию (остановка клеточного цикла, репарация ДНК и апоптоз). Белки семейства bcl-2 (около 20 белков) расположены на наружной митохондриальной мембране, способны к димеризации – от вида димеризации (анти- и проапоптотических белков) и их баланса зависят проницаемость митохондриальной мембраны и вступление клетки в апоптоз. Анализ существующей литературы показал противоречивый характер связи маркеров апоптоза (p53, bax и bcl-2) с клинико-морфологическими параметрами, выживаемостью больных и прогнозом НМКРЛ [12, 17, 21]. Кроме того, взаимосвязи коэкспрессии p53,

bax и bcl-2 с выживаемостью больных при НМКРЛ посвящены единичные исследования.

Целью работы явилось исследование экспрессии p53, bcl-2 и bax во взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами и показателями 5-летней выживаемости при НМКРЛ.

Материал и методы

Исследованы 237 образцов операционного материала НМКРЛ, полученных за период с 2007 по 2009 г. в Алтайском краевом онкологическом диспансере, случаи РЛ с отдаленными метастазами и множественными опухолями исключены из исследования. Средний возраст пациентов составил 59 лет (35–75 лет), мужчин было 203 (86 %), женщин – 34 (14 %). Лобэктомия выполнена 166 (70 %), пневмонэктомия – 71 (30 %) пациенту. Все больные получали хирургическое лечение без дополнительной химиотерапии. Патогистологическая характеристика опухолей определена согласно классификации TNM 7-го пересмотра [18] (табл. 1).

Фрагменты опухолевой ткани фиксировали 18–24 ч в 10 % нейтральном забуференном формалине. После стандартной проводки операционного

Таблица 1

Экспрессия p53, bcl-2 и bax при НМКРЛ

Характеристика	Кол-во случаев	+p53	+bcl-2	+bax
Первичная опухоль				
T ₁	63 (27 %)	25 (40 %)	14 (22 %)	32 (51 %)
T ₂₋₃	174 (73 %)	79 (45 %)	29 (17 %)	98 (56 %)
Наибольший размер				
<3 см	98 (41 %)	36 (37 %)	21 (21 %)	50 (51 %)
≥3 см	139 (59 %)	68 (49 %)	22 (16 %)	80 (56 %)
Лимфатические узлы				
N ₀	150 (63 %)	62 (41 %)	34 (23 %)	85 (57 %)
N ₁₋₃	87 (37 %)	42 (48 %)	9 (10 %)	45 (52 %)
Стадия				
I	120 (51 %)	51 (43 %)	30 (25 %)	68 (57 %)
II–III	117 (49 %)	53 (45 %)	13 (11 %)	62 (53 %)
Гистогенез				
Аденокарцинома	109 (46 %)	39 (36 %)	13 (12 %)	69 (63 %)
Плоскоклеточный рак	128 (54 %)	65 (51 %)	30 (23 %)	61 (48 %)
Дифференцировка				
Высокая	58 (25 %)	23 (40 %)	15 (26 %)	33 (57 %)
Умеренная/низкая	179 (75 %)	81 (45 %)	28 (16 %)	97 (54 %)

материала готовили гистологические срезы толщиной 4 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, ШИК-реактивом/альциановым синим, по Крейбергу. Для уточнения гистогенеза опухоли, а также с дифференциально-диагностической целью иммуногистохимическим методом определяли цитокератины 7 (клон SP52), 20 (клон SP33), High Molecular Weight (клон 34βE12), цитокератины 5/6 (клон D5 16B4) в автоматическом стейнере Ventana XT (контроль окрашивания – эпидермис кожи и слизистая оболочка желудка). Для карцином железистого генеза характерным было положительное окрашивание на цитокератины 7/20 и отрицательное на цитокератины High Molecular Weight и 5/6, наоборот, для плоскоклеточного рака – положительное окрашивание на цитокератины High Molecular Weight, 5/6 и отрицательное на цитокератины 7/20.

Иммуногистохимическим методом определяли p53 (клон DO-7, Dako), bcl-2 (клон 124, Dako) и baх (клон SP47, SpringBio) в автоматическом стейнере Ventana XT, система визуализации ultraView. В каждом случае исследовали 1000 клеток в 5–7 полях зрения, при увеличении $\times 400$. Определяли индекс метки – количество положительно окрашенных клеток от общего количества подсчитанных клеток в процентах (для p53 ядерное окрашивание, для bcl2 и baх – цитоплазматическое). Индекс метки p53, bcl2, baх более 10 % считался положительной экспрессией (+) антигена в опухоли, менее 10 % – отрицательной экспрессией (–) [4, 8, 10, 16]. Результат иммуногистохимической окраски определялся в виде окрашивания (от светло- до темно-коричневого оттенка) ядер (для p53) или цитоплазмы (для bcl-2 и baх) клеток.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе STATISTICA 6.0. При проверке статистических гипотез применяли двусторонний точный критерий Фишера для таблиц 2×2 , коэффициент корреляции рангов Спирмена. Определяли общую скорректированную выживаемость больных за пятилетний период после операции, использовали метод Каплана–Мейера, логарифмический ранговый тест, регрессионную модель Кокса. Достоверность полученных критериев оценивали при $p < 0,05$.

Результаты исследования

При анализе уровня экспрессии p53, bcl-2 и baх в эпителиальных клетках НМКРЛ в зависимости от

морфологических параметров опухоли корреляции между этими показателями не обнаружено ($p < 0,3$) (см. табл. 1). Выявлено статистически значимое увеличение количества случаев с +p53 при плоскоклеточном раке по сравнению с аденокарциномой ($p < 0,05$). Отмечается значимое увеличение +bcl-2 в группе опухолей без поражения лимфатических узлов по сравнению с опухолями с наличием лимфогенных метастазов ($p < 0,05$), при НМКРЛ I стадии по сравнению с НМКРЛ II–III стадий ($p < 0,01$), а также при плоскоклеточном раке по сравнению с аденокарциномой ($p < 0,05$). Количество случаев с +baх значимо выше при аденокарциноме по сравнению с плоскоклеточным раком ($p < 0,05$). При НМКРЛ гистогенез имел слабую корреляцию с p53 ($r = 0,15$, $p < 0,05$), bcl-2 ($r = 0,15$, $p < 0,05$) и baх ($r = 0,16$, $p < 0,01$), показатель N и стадия процесса – с bcl-2 ($r = 0,15$, $p < 0,05$ и $r = 0,18$, $p < 0,01$). Таким образом, гистогенез НМКРЛ взаимосвязан с экспрессией p53, bcl-2 (выше в плоскоклеточном раке) и baх (выше в аденокарциноме), что, вероятно, отражает взаимосвязь особенностей генетических нарушений и гистогенеза опухоли. При появлении лимфогенных метастазов и при более поздних стадиях заболевания экспрессия белка bcl-2 снижается, что указывает и на снижение антиапоптотического влияния этого белка.

Общая 5-летняя скорректированная выживаемость больных НМКРЛ, получивших оперативное лечение, составила $40,4 \pm 3,5$ %. Показатели выживаемости больных НМКРЛ имели статистически значимые отличия в зависимости от экспрессии p53 ($p = 0,03$) и bcl-2 ($p = 0,004$) (табл. 2). Отдаленная выживаемость при +baх имела тенденцию к снижению, однако отличия не значимы. При анализе взаимосвязи уровня отдаленных результатов лечения больных НМКРЛ и коэкспрессии антигенов выявлено, что показатели 5-летней выживаемости уменьшались в ряду иммунофенотипов опухоли: 1) –p53/+bcl-2, –p53/–bcl-2, +p53/+bcl-2 и +p53/–bcl-2; 2) –p53/–baх, –p53/+baх, +p53/–baх и +p53/+baх; 3) +bcl-2/–baх, +bcl-2/+baх, –bcl-2/–baх и –bcl-2/+baх (рис. 1). При анализе парной коэкспрессии p53 и bcl-2 статистически значимые отличия показателей выживаемости больных получены только для иммунофенотипа –p53/+bcl-2 ($p < 0,001$). При анализе парной коэкспрессии p53 и baх больные с иммунофенотипом +p53/+baх имели наилучшие 5-летние показатели,

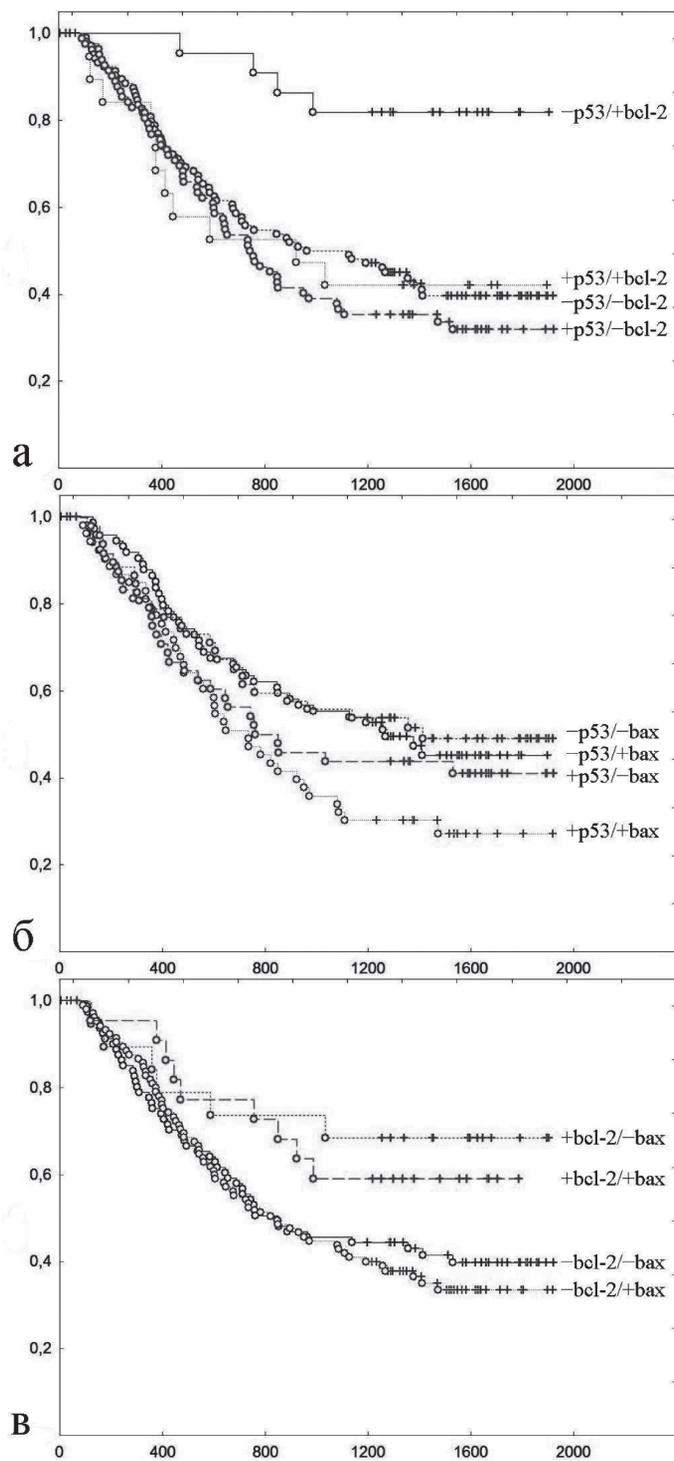


Рис. 1. Графики выживаемости больных НМКРЛ по Каплану–Мейеру: а – при иммунофенотипе p53/bcl-2; б – при иммунофенотипе p53/bax; в – при иммунофенотипе bcl-2/bax. По оси абсцисс – время жизни (в днях), по оси ординат – доля выживших больных

отличия значимы, по сравнению с иммунофенотипами $-p53/-bax$ и $-p53/+bax$ ($p < 0,05$). При анализе парной коэкспрессии $bcl-2$ и bax отмечается тенденция к снижению выживаемости при $+bax$ в опухолях с $+bcl-2$ или $-bcl-2$ иммунофенотипом. Таким образом, показатели выживаемости больных НМКРЛ выше при $+bcl-2$ опухолях, хуже – при $+p53$ опухолях и имеют тенденцию к снижению при $+bax$ опухолях. В связи с этим были проанализированы отдаленные результаты лечения больных НМКРЛ при тройной экспрессии антигенов. Наилучший показатель выживаемости ($60,4 \pm 22,6$ %) наблюдался при иммунофенотипе $p53/+bcl-2/-bax$, который был выявлен у 8 (3 %) больных НМКРЛ. Наихудший показатель выживаемости ($23,9 \pm 7,1$ %) отмечен

при иммунофенотипе $+p53/-bcl-2/+bax$, который диагностирован у 45 (19 %) больных НМКРЛ. Однако при сравнении уровня выживаемости с тройной экспрессией антигенов $p53$, $bcl-2$ и bax статистически значимые отличия не получены. Таким образом, показатели выживаемости больных НМКРЛ взаимосвязаны как с экспрессией отдельных антигенов $p53$, $bcl-2$ и bax , так и с их коэкспрессией.

При проведении однофакторного регрессионного анализа с выживаемостью больных НМКРЛ были связаны экспрессия $p53$ ($\chi^2=4,6$, $\beta=0,38$, стандартная ошибка – $0,18$, $p=0,03$) и экспрессия $bcl-2$ ($\chi^2=8,5$, $\beta=0,75$, стандартная ошибка – $0,28$, $p=0,008$). Показатель N (отсутствие или наличие

Таблица 2

Показатели 5-летней общей скорректированной выживаемости у больных НМКРЛ в зависимости от экспрессии $p53$, $bcl-2$, bax

Характеристика	Кол-во случаев	Показатели 5-летней выживаемости
p53		
$-p53$	133 (56 %)	$46,2 \pm 4,7$ %
$+p53$	104 (44 %)	$32,4 \pm 5,1$ %
bcl-2		
$-bcl-2$	194 (82 %)	$35,6 \pm 3,8$ %
$+bcl-2$	43 (18 %)	$58,4 \pm 8,8$ %
bax		
$-bax$	107 (45 %)	$44,8 \pm 5,2$ %
$+bax$	130 (55 %)	$36,8 \pm 4,7$ %
p53 и bcl-2		
$-p53/+bcl-2$	23 (10 %)	$70,1 \pm 12,5$ %
$-p53/-bcl-2$	110 (46 %)	$38,9 \pm 5,1$ %
$+p53/+bcl-2$	20 (8 %)	$32,6 \pm 12,7$ %
$+p53/-bcl-2$	84 (36 %)	$30,3 \pm 5,6$ %
p53 и bax		
$-p53/-bax$	56 (24 %)	$47,4 \pm 7,3$ %
$-p53/+bax$	77 (32 %)	$43,5 \pm 6,4$ %
$+p53/-bax$	51 (22 %)	$38,8 \pm 7,5$ %
$+p53/+bax$	53 (22 %)	$25,3 \pm 6,8$ %
bcl-2 и bax		
$+bcl-2/-bax$	20 (8 %)	$58,9 \pm 13,3$ %
$+bcl-2/+bax$	23 (10 %)	$56,2 \pm 10,8$ %
$-bcl-2/-bax$	87 (37 %)	$39,5 \pm 5,7$ %
$-bcl-2/+bax$	107 (45 %)	$32,4 \pm 5,1$ %

метастазов в лимфатические узлы), размер опухоли (до 3 см или более), дифференцировка (высокая или умеренная/низкая) имели независимую взаимосвязь с выживаемостью больных НМКРЛ при многофакторном регрессионном анализе ($\chi^2=95,5$, $p<0,001$). Таким образом, однофакторный анализ показал, что p53 и bcl-2 являются значимыми прогностическими факторами, однако в совокупности с клинико-морфологическими данными по системе TNM маркеры апоптоза не взаимосвязаны с прогнозом НМКРЛ.

Обсуждение

По нашим данным не найдена корреляция между маркерами апоптоза p53, bcl-2 и bax, что согласуется с результатами других исследований [1, 6, 8, 16] и указывает на их независимую экспрессию в НМКРЛ. Однако в некоторых исследованиях показана обратная корреляция между p53 и bcl-2 при НМКРЛ [3, 10]. В клеточных структурах НМКРЛ содержание p53, bcl-2 и bax взаимосвязано с гистогенетическим происхождением опухоли: экспрессия p53 и bcl-2 выше при плоскоклеточном раке по сравнению с аденокарциномой, экспрессия bax выше при аденокарциноме по сравнению с плоскоклеточным раком. Полученные результаты подтверждаются данными мировой литературы [1, 9, 10, 14, 15]. В нашем исследовании выявлена высокая экспрессия белка bcl-2 в опухолях без лимфогенных метастазов и при НМКРЛ I стадии. Аналогичные результаты получены рядом зарубежных исследователей [3, 6], однако в сообщении Y. Shibata et al. представлены противоположные данные [16].

Выживаемость больных НМКРЛ с +p53 достоверно ниже по сравнению с -p53. Наши результаты совпадают с литературными данными [2, 7, 8, 13, 17, 21]. Однако в других исследованиях не установлена взаимосвязь экспрессии p53 с выживаемостью больных НМКРЛ [3, 5, 10, 14, 16, 19] или получены противоположные результаты [11]. Снижение выживаемости больных НМКРЛ при +p53 объясняется высокой корреляцией (более 70 %) иммуногистохимически выявляемого мутантного белка p53 и наличием точечных мутаций в гене p53 [19]. При возникновении мутаций в гене p53 изменяется не только функция белка p53 в отношении апоптоза, но и удлиняется время распада белка p53, в результате чего становится возможным его определение методом иммуногистохимии.

В проведенном исследовании выявлено, что показатели выживаемости больных НМКРЛ с +bcl-2 достоверно выше по сравнению с -bcl-2, что совпадает с данными мировой литературы [1–3, 8, 12–14]. Тем не менее в некоторых публикациях не показано взаимосвязи экспрессии bcl-2 с уровнем выживаемости больных НМКРЛ [5, 7, 10, 16, 20] или представлены противоположные результаты [6, 15]. Данный факт труднообъясним, поскольку bcl-2 – это антиапоптотический белок, однако инициация митохондриального апоптоза зависит не только от экспрессии bcl-2, но и от совокупного влияния всех белков семейства bcl-2. Кроме того, при +bcl-2 отмечаются снижение пролиферативной активности [8] и увеличение площади некрозов в опухоли [2].

Выживаемость больных НМКРЛ не связана с экспрессией bax, что совпадает с большинством литературных данных [1, 2, 6, 20]. Взаимосвязь увеличения выживаемости больных с высокой экспрессией bax выявлена в единичных исследованиях – при распространенном НМКРЛ [4] и при аденокарциноме легкого [9]. Вероятно, влияние на выживаемость экспрессии bax взаимосвязано с суммарным влиянием других белков семейства bcl-2.

Нами установлено, что на выживаемость больных НМКРЛ влияет также коэкспрессия p53, bcl-2 и bax. В частности, при иммунофенотипе -p53/+bcl-2 выживаемость НМКРЛ наилучшая. Аналогичные результаты получены Y. Ohsaki et al. [14], H. Ishida et al. [8] и R.M. Apolinario et al. [1], которые показали, что при иммунофенотипе +p53/-bcl-2 показатели выживаемости при НМКРЛ наихудшие, однако в нашем исследовании не получено значимых отличий. Кроме того, R.M. Apolinario et al. [1] сообщают, что при иммунофенотипе +bax/-bcl2 выживаемость наихудшая, что также согласуется с нашими данными (в нашем исследовании отличия не значимы). Противоположные данные опубликованы R.S. Lai et al. [10], которые не выявили различий в выживаемости больных НМКРЛ во взаимосвязи с коэкспрессией p53, bcl-2 и bax. Таким образом, для получения более точных актуаральных кривых выживания больных НМКРЛ необходимо учитывать взаимную коэкспрессию маркеров апоптоза p53, bcl-2 и bax.

При однофакторном регрессионном анализе выявлено, что p53 и bcl-2 являются

прогностическими факторами при НМКРЛ. Однако при многофакторном регрессионном анализе молекулярно-биологические данные об экспрессии маркеров апоптоза p53, bcl-2 и bax не были взаимосвязаны с прогнозом НМКРЛ в совокупности с клинико-морфологическими данными по системе TNM. Данные метаанализов также подтверждают ограниченную прогностическую значимость экспрессии p53 и bcl-2 [12, 17, 21].

Заключение

В проведенном исследовании установлено, что маркеры апоптоза p53, bcl-2 и bax взаимосвязаны с клинико-морфологическими параметрами и уровнем выживаемости больных при немелкоклеточном раке легкого. Экспрессия bcl-2 и p53 выше при плоскоклеточном раке, экспрессия bax выше при аденокарциноме, экспрессия bcl-2 выше при отсутствии лимфогенных метастазов и при раке легкого I стадии. Показатели выживаемости больных НМКРЛ взаимосвязаны с экспрессией p53, bcl-2 и не зависят от экспрессии bax, они выше при экспрессии bcl-2 и ниже при экспрессии p53. Уровень выживаемости больных НМКРЛ связан с взаимным содержанием bcl-2, p53 и bax. Он возрастает при иммунофенотипах -p53/+bcl-2 и -p53/+bcl-2/-bax и снижается при иммунофенотипах +p53/+bax и +p53/-bcl-2/+bax. При однофакторном регрессионном анализе bcl-2 и p53 являлись факторами прогноза. Многофакторный регрессионный анализ не выявил взаимосвязи bcl-2, p53 и bax с прогнозом НМКРЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Apolinario R.M., van der Valk P., de Jong J.S., Deville W., van Arkotte J., Dingemans A.M., van Mourik J.C., Postmus P.E., Pinedo H.M., Giaccone G. Prognostic value of the expression of p53, bcl-2, and bax oncoproteins, and neovascularization in patients with radically resected non-small-cell lung cancer // *J. Clin. Oncol.* 1997. Vol. 15 (6). P. 2456–2466.
2. Borner M.M., Brousset P., Pfanner-Meyer B., Bacchi M., Vonlanthen S., Hotz M.A., Altermatt H.J., Schlaifer D., Reed J.C., Betticher D.C. Expression of apoptosis regulatory proteins of the Bcl-2 family and p53 in primary resected non-small-cell lung cancer // *Br. J. Cancer.* 1999. Vol. 79 (5–6). P. 952–958.
3. Fontanini G., Vignati S., Bigini D., Mussi A., Lucchi M., Angeletti C.A., Basolo F., Bevilacqua G. Bcl-2 protein: a prognostic factor inversely correlated to p53 in non-small-cell lung cancer // *Br. J. Cancer.* 1995. Vol. 71 (5). P. 1003–1007.
4. Gessner C., Liebers U., Kuhn H., Stiehl P., Witt C., Schauer J., Wolff G. BAX and p16INK4A are independent positive prognostic markers for advanced tumour stage of non-small cell lung cancer // *Eur. Respir. J.* 2002. Vol. 19 (1). P. 134–140.
5. Gregor V., Darwish S., Ludovini V., Pistola L., De Angelis V., Mihaylova Z., Bellezza G., Sidoni A., Cavaliere A., Bucciarelli E., Massaro G., Tonato M. The clinical relevance of Bcl-2, Rb and p53 expression in advanced non-small cell lung cancer // *Lung cancer.* 2003. Vol. 42 (3). P. 275–281.
6. Groeger A.M., Esposito V., De Luca A., Cassandro R., Tonini G., Ambrogi V., Baldi F., Goldfarb R., Mineo T.C., Baldi A., Wolner E. Prognostic value of immunohistochemical expression of p53, bax, Bcl-2 and Bcl-xL in resected non-small-cell lung cancers // *Histopathology.* 2004. Vol. 44 (1). P. 54–63.
7. Han H., Landreneau R.J., Santucci T.S., Tung M.Y., Macherey R.S., Shackney S.E., Sturgis C.D., Raab S.S., Silverman J.F. Prognostic value of immunohistochemical expressions of p53, HER-2/neu, and bcl-2 in stage I non-small-cell lung cancer // *Hum. pathol.* 2002. Vol. 33 (1). P. 105–110.
8. Ishida H., Irie K., Itoh T., Furukawa T., Tokunaga O. The prognostic significance of p53 and bcl-2 expression in lung adenocarcinoma and its correlation with Ki-67 growth fraction // *Cancer.* 1997. Vol. 15 (6). P. 1034–1045.
9. Jeong S.H., Lee H.W., Han J.H., Kang S.Y., Choi J.H., Jung Y.M., Choi H., Oh Y.T., Park K.J., Hwang S.C., Sheen S.S., Oh Y.J., Kim J.H., Lim H.Y. Low expression of Bax predicts poor prognosis in resected non-small cell lung cancer patients with non-squamous histology // *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2008. Vol. 38 (10). P. 661–669. doi: 10.1093/jjco/hyn089.
10. Lai R.S., Wang J.S., Hsu H.K., Chang H.C., Lin C.H., Lin M.H. Prognostic evaluation of the expression of p53 and bcl-2 oncoproteins in patients with surgically resected non-small cell lung cancer // *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2002. Vol. 32 (10). P. 393–397.
11. Lee J.S., Yoon A., Kalapurakal S.K., Ro J.Y., Lee J.J., Tu N., Hittelman W.N., Hong W.K. Expression of p53 oncoprotein in non-small-cell lung cancer: a favorable prognostic factor // *J. Clin. Oncol.* 1995. Vol. 13 (8). P. 1893–1903.
12. Martin B., Paesmans M., Berghmans T., Branle F., Ghisdal L., Mascaux C., Meert A.P., Steels E., Vallot F., Verdebout J.M., Lafitte J.J., Sculier J.P. Role of Bcl-2 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis // *Br. J. Cancer.* 2003. Vol. 89 (1). P. 55–64.
13. Moldvay J., Scheid P., Wild P., Nabil K., Siat J., Borrelly J., Marie B., Farre G., Labib T., Pottier G., Sesboue R., Bronner C., Vignaud J.M., Martinet Y., Martinet N. Predictive survival markers in patients with surgically resected non-small cell lung carcinoma // *Clin. Cancer Res.* 2000. Vol. 6 (3). P. 1125–1134.
14. Ohsaki Y., Toyoshima E., Fujiuchi S., Matsui H., Hirata S., Miyokawa N., Kubo Y., Kikuchi K. bcl-2 and p53 protein expression in non-small cell lung cancers: correlation with survival time // *Clin. Cancer Res.* 1996. Vol. 2 (5). P. 915–920.
15. Poleri C., Morero J.L., Nieva B., Vazquez M.F., Rodriguez C., de Titto E., Rosenberg M. Risk of recurrence in patients with surgically resected stage I non-small cell lung carcinoma: histopathologic and immunohistochemical analysis // *Chest.* 2003. Vol. 123 (6). P. 1858–1867.
16. Shibata Y., Hidaka S., Tagawa Y., Nagayasu T. Bcl-2 protein expression correlates with better prognosis in patients with advanced non-small cell lung cancer // *Anticancer res.* 2004. Vol. 24 (3b). P. 1925–1928.
17. Steels E., Paesmans M., Berghmans T., Branle F., Lemaitre F., Mascaux C., Meert A.P., Vallot F., Lafitte J.J., Sculier J.P. Role of p53 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with a meta-analysis // *Eur. Respir. J.* 2001. Vol. 18 (4). P. 705–719.
18. *TNM classification of malignant tumours* / Eds. L. Sobin, M. Gospodarowicz, C. Wittekind. 7th edition. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009. P. 138–146.
19. Tomizawa Y., Kohno T., Fujita T., Kiyama M., Saito R., Noguchi M., Matsuno Y., Hirohashi S., Yamaguchi N., Nakajima T., Yokota J. Correlation between the status of the p53 gene and survival in patients with stage I non-small cell lung carcinoma // *Oncogene.* 1999. Vol. 18 (4). P. 1007–1014.
20. Yaren A., Oztop I., Kargi A., Ulukus C., Onen A., Sanli A., Binicier O., Yilmaz U., Alakavuklar M. Bax, bcl-2 and c-kit expression in non-small-cell lung cancer and their effects on prognosis // *Int. J. Clin. Pract.* 2006. Vol. 60 (6). P. 675–682.
21. Zhu C.Q., Shih W., Ling C.H., Tsao M.S. Immunohistochemical markers of prognosis in non-small cell lung cancer: a review and proposal for a multiphase approach to marker evaluation // *J. Clin. Pathol.* 2006. Vol. 59 (8). P. 790–800.

Поступила 8.04.14