



Т. П. Якимова,  
С. М. Карташов,  
А. Г. Калаева,  
Л. П. Водолажская

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ГЕНОВ GST И ESR У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ РАЗЛИЧНОЙ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ

Харьковская медицинская  
академия последипломного  
образования

© Коллектив авторов

**Резюме.** У 159 больных раком эндометрия (РЭ) I-III ст. изучены морфологические особенности опухоли и наличие метилирования генов GST и ESR в сыворотке крови. Показано, что при эндометри-лидных формах РЭ с метилированием генов ESR и GST снижается степень дифференцировки опухоли, а у больных с неэндометри-лидными формами РЭ метилирование гена GST не оказывает достоверного отрицательного влияния на морфологические показатели опухоли.

**Ключевые слова:** рак эндометрия, гены GST и ESR, морфология.

### Вступление

В Украине показатель заболеваемости раком эндометрия (РЭ) в 2008 году составил 267 пациенток на 100 тысяч женского населения (6635 больных), а смертности — 7,7 (1911 больных) Летальность до года составила 13,5% [3]. Высокие показатели заболеваемости и летальности до года говорят о необходимости использования новых критериев как для определения риска развития карциномы эндометрия, так и для прогнозирования течения заболевания [1, 5, 6].

Существующие подходы в лечении больных раком тела матки определяют четкую зависимость прогноза от стадии заболевания и степени дифференцировки опухоли [2, 4, 8]. Тем не менее отсутствует взаимосвязь между указанными диагностическими критериями и ответом пациентки на традиционное лечение. Типичные клинические группы больных разнородны по эффективности лечебных мероприятий и прогнозу в будущем. По-видимому, необходимо дополнительное уточнение природы опухоли с учетом генетических особенностей организма больной и молекулярных механизмов канцерогенеза. Биологическими маркерами, определяющими агрессивность поведения опухоли и ее ответ на лечение, могут быть эпигенетические нарушения генов GST и ESR [7].

*Цель исследования* — изучить эпигенетические нарушения генов GST и ESR у больных РЭ с различной гистоструктурой и степенью дифференцировки опухоли.

### Материалы и методы

Обследованы 159 больных раком эндометрия I-III ст. ( $T_{1a-3b}N_{0-1}M_0$ ): у 122 пациенток наблюдали эндометриоидные формы рака тела матки, а у 37 рак имел неэндометриальное происхождение. Среди пациенток с эндометриоидным раком высокодифференцированная аденокарцинома диагностирована в 41 наблюдении, умереннодифференцированная — в 46 и низкодифференцированная — в 35 случаях. Возраст больных варьировал от 31 до 79 лет, а средний возраст составил  $60,3 \pm 2,4$  года.

Гистологическое исследование тканей проводилось в соответствии со стандартной методикой. Согласно классической гистологической методике обработки тканей применяли фиксацию в 10% растворе нейтрального формалина, проводка по спиртам возрастающей концентрации, заливка в парафиновые блоки. Изготавливали срезы толщиной 5 — 7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ван-Гизона. При гистологическом исследовании учитывали характер патологического процесса и устанавливали митотический индекс и количество патологических митозов, определяли тип опухоли, гистологическую структуру, степень дифференцировки. Для характеристики морфологической структуры рака тела матки руководствовались гистологической классификацией опухолей ВОЗ.

У всех больных в сыворотке крови методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) были изучены наличие метилирования генов GST и ESR. После выделения ДНК из сыворотки крови определяли метилирование промоторной области генов GST и ESR, для чего ДНК обрабатывали метилчувствительными рестриктазами. Исследования проводили в лаборатории «Вирола» ХМАПО.

### Результаты исследования и их обсуждение

В ходе проведенных исследований было установлено, что частота метилирования гена GST была выше у пациенток с неэндометриоидными формами рака —  $51,4 \pm 8,2\%$ , а в группе женщин с эндометриоидными карциномами —  $31,1 \pm 4,2\%$  соответственно (табл.1).

При этом у обследованных с серозно-папиллярным раком и светло-клеточной аденокарциномой метилирование гена GST отмечено в  $57,9 \pm 11,6$  и  $44,4 \pm 11,7\%$  соответственно. В свою очередь подобные изменения при эндометриоидной аденокарциноме, аденосквамозном раке и аденокантоме зарегистрированы в  $31,5 \pm 4,4$ ;  $25,0 \pm 21,0$  и  $28,6 \pm 17,2\%$  случаев. Тем не менее, можно предположить участие эпигенетических нарушений гена GST в развитии как гормонзависимых, так

и автономных форм рака тела матки. Наибольшая выраженность метилирования этого гена была обнаружена у контингента обследованных с низкодифференцированной карциномой —  $41,2 \pm 8,4\%$ . По-видимому, изменения гена GST играют иницирующую роль в канцерогенезе женщин, относящихся к группе риска по развитию рака тела матки. При этом предшествующие метаболические и эндокринные расстройства не имеют дальнейшего проявления в уровне дифференцировки опухоли. Эпигенетические нарушения гена GST изменяют типичную биологию рака эндометрия. Поэтому на фоне нарушений гена GST «метаболический» вариант рака тела матки имеет более агрессивное течение и сопровождается низким уровнем дифференцировки опухоли. Указанная особенность объясняет возникновение резистентности к гормональным препаратам как на этапе профилактики, так и лечения у данной категории больных. Наибольшее значение мутации гена GST имеют в развитии автономного роста злокачественных опухолей тела матки эпителиальной природы.

Таблица 1

Частота метилирования генов GST и ESR у больных раком эндометрия в зависимости от гистологической структуры опухоли

Гистологические структуры опухоли	Частота метилирование гена, абс %	
	GST	ESR
1.Эндометриоидная аденокарцинома, n=111	35 $31,5 \pm 4,4$	66 $59,5 \pm 4,6$
2.Аденосквамозный рак, n=4	1 $25,0 \pm 21,7$	1 $25,0 \pm 21,7$
3.Аденоакантома n=7	2 $28,6 \pm 17,2$	4 $57,1 \pm 18,7$
4.Эндометриоидный рак всего, n=122	38 $31,1 \pm 4,2$	71 $58,2 \pm 4,5$
5.Серозно- папиллярный рак, n=19	11 $57,9 \pm 11,6$	5 $26,3 \pm 10,1$
6.Светлоклеточная аденокарцинома, n=18	8 $44,4 \pm 11,7$	7 $38,9 \pm 11,5$
7. Неэндометриоидный рак всего n=37	19 *4 $51,4 \pm 8,2$	12 **4 $32,4 \pm 7,7$
8. ВСЕГО, n=159	57 $35,8 \pm 3,8$	83 $52,2 \pm 4,0$

Примечание: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  различие статистически достоверно.

Эпигенетические нарушения гена ESR были широко представлены у больных с эндометриальными формами рака, что составило —  $58,2 \pm 4,5\%$  (табл. 1). Выявляемость изменений этого гена была наибольшей среди пациенток с высоко- и умереннодифференцированными аденокарциномами —  $68,3 \pm 7,3$  и  $65,2 \pm 7,0\%$  соответственно

(табл. 2). При этом уровень этого показателя на фоне низкодифференцированной аденокарциномы составил всего лишь  $38,2 \pm 8,3\%$ . При неэндометриоидных формах рака тела матки частота метилирования гена ESR была зарегистрирована у  $32,4 \pm 7,7\%$  данного контингента больных.

Таблица 2

Частота метилирования гена GST и ESR у больных с эндометриоидными формами рака эндометрия в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Степень дифференцировки опухоли	Частота метилирование генов абс %	
	GST	ESR
1.Высокодифференцированная аденокарцинома, n=41	11 $26,8 \pm 6,9$	28 **3 $68,3 \pm 7,3$
2.Умереннодифференцированная аденокарцинома, n=46	13 $28,3 \pm 6,6$	30 **3 $65,2 \pm 7,0$
3.Низкодифференцированная аденокарцинома n=34	14 $41,2 \pm 8,4$	13 **1,2 $38,2 \pm 8,3$
4.Всего n=122	38 $31,1 \pm 4,2$	71 $58,2 \pm 4,5$

Примечание: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  различие статистически достоверно.

Можно предположить, что нарушения гена ESR являются пусковым моментом для развития более благоприятного «метаболического» варианта рака тела матки, который сопровождается гормональной зависимостью и высоким уровнем дифференцировки. Возможно, выявленная закономерность послужит поводом для обоснования терапевтической доктрины профилактики эндометриальных форм рака тела матки с помощью комплекса гормональных и метаболических препаратов, а также повысит качество прогноза лечения данной категории онкобольных. Профилактические мероприятия могут затрагивать женщин с явлениями гиперандрогенемии, метаболическим синдромом и нарушениями менструальной функции. Внедрение скрининга на эпигенетические нарушения гена ESR у данного контингента пациенток позволит глубже изучить механизмы развития метаболического варианта рака тела матки, определить более конкретные критерии оценки риска канцерогенеза и усовершенствовать раннюю диагностику и патогенетическую терапию РЭ.

Проведенная работа дает возможность считать, что РЭ во многом обусловлен генными нарушениями. По-видимому, эпигенетические нарушения GST и ESR генов играли роль пускового механизма в разбалансировке молекулярных, клеточных и тканевых механизмов противораковой защиты. Это приводило к расстройствам процессов клеточного деления и дифференцировки, связанного с системой киназ, увеличивало уровень апоптоза и активность ангиогенных факторов роста [3, 6]. Для эндометриоидных форм рака тела матки характерны нарушения гена ESR, а для рака неэндо-



метриального походження — GST. Нарушения гена GST сопровождаются наиболее агрессивным ростом злокачественной опухоли, при эндометриальных формах рака — низким уровнем дифференцировки клеток. В свою очередь, нарушения гена ESR более характерны для развития «благоприятного» метаболического варианта РЭ.

### Выводы

1. Эпигенетические нарушения функции гена GST при развитии у больных неэндометриаль-

ных форма РЭ не оказывает достоверного отрицательного влияния на морфологические показатели опухоли.

2. При эндометриальных формах РЭ с метилированием генов ESR и GST имеется четкая зависимость усиления степени злокачественности опухолей при снижении степени их дифференцировки, что указывает не только на роль этих генов в развитии злокачественных опухолей, но и во влиянии их на биологические свойства опухоли.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Берштейн Л.М. Эпидемиология, патогенез и пути профилактики рака эндометрия: стабильность или эволюция? / Л.М. Берштейн // Практическая онкология. — 2004. — № 1. — С. 1—8.
2. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии / Бохман Я.В. — СПб.: — 2002. — 542 с.
3. Рак в Украине: Бюллетень Национального канцер-реестра — № 10. — К.: 2009. — 99 с.
4. Чулкова О.В. Предрак и рак эндометрия у женщин репродуктивного возраста: автореф. дис. ... д-ра мед. наук.: спец. 14.01.07, «Онкология» / О. В. Чулкова. — М., 2003. — 34 с.
5. Экспрессия маркеров пролиферации в клетках аденокарцином эндометрия / Л.Г. Бучинская, Л.З. Полищук, Л.И. Воробьева [и др.] // Онкология. — 2004. — № 4. — С. 265—268.
6. Coupier I. Hereditary predispositions to gynaecological cancers / Coupier I, Pujol P // Gynecol. Obstet. Fertil. — 2005. — № 11. — P. 851 — 856.
7. Hahn W.C. Modelling the molecular circuitry of cancer / Hahn W.C, Weinberg R.A. // Nature Rev. Cancer. — 2002. — Vol. 2. — P. 331 — 341.
8. Methylation of adenomatous polyposis coli in endometrial cancer occurs more frequently in tumors with microsatellite instability phenotype / Zysman M., Saka A., Millar A., Knight J. // Cancer Research. — 2002. — № 13. — P. 3663—3666.
9. Mutter G.L. Histopathology of genetically defined endometrial precancer / Mutter G.L // Int. J. Gynecol. Pathol. — 2000. — Vol. 19. — P. 301 — 309.

### ЕПІГЕНЕТИЧНІ ПОРУШЕННЯ ГЕНІВ GST ТА ESR У ХВОРИХ НА РАК ЕНДОМЕТРІЮ РІЗНОЇ ГІСТОЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ

**Т. П. Якімова,  
С. М. Карташов, А. Г. Калаєва,  
Л. П. Водолажська**

### EPIGENETIC DISORDERS OF GST AND ESR GENES IN PATIENTS WITH ENDOMETRIAL CANCER OF DIFFERENT HISTOLOGICAL STRUCTURE

**T. P. Yakimova,  
S. M. Kartashov, A. G. Kalayeva,  
L. P. Vodolazhskaya**

**Резюме.** У 159 хворих на рак ендометрію (РЕ) I—III ст. вивчені морфологічні особливості пухлини і наявність метилування генів GST і ESR у сироватці крові. Показано, що при ендометриальних формах РЕ з метилуванням генів ESR та GST знижується ступінь диференціації пухлини, а у хворих із неендометриальними формами РЕ метилування гена GST не має достовірного негативного впливу на морфологічні показники пухлини.

**Ключові слова:** рак ендометрію, гени GST та ESR, морфологія.

**Summary.** In 159 patients with I—III st. endometrial cancer (EC) morphological features of tumours as well as GST and ESR genes methylation in blood serum were studied. It was shown that in case of endometrioid forms of EC with GST and ESR genes methylation tumour differentiation degree tends to decrease, whereas in patients with non-endometrioid forms of EC gene GST methylation produces no proven negative effect on morphological features of tumours.

**Key words:** endometrial cancer; GST and ESR genes; morphology.