



С. М. Карташов, Т. П. Якімова,
А. Г. Калаєва, В. Н. Мазур

Харьковская медицинская
академия последипломного
образования

© Коллектив авторов

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОГНОСТИЧЕСКОГО ЗНАЧЕНИЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ GST И ESR ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ

Резюме. У 182 больных раком эндометрия (РЭ) I—III ст. методом ПЦР изучено наличие метилирования генов GST и ESR в сыворотке крови. Показано, что метилирование гена ESR, имеющего связь с гормональным канцерогенезом РЭ, не ухудшает ближайшие результаты лечения больных; метилирование гена GST сопровождается более частыми рецидивами, что может быть связано фактором корреляции данной группы больных с гистологически менее дифференцированными формами рака.

Ключевые слова: рак эндометрия, гены GST и ESR, метилирование.

Вступление

Сохранение репродуктивного здоровья женского населения является неотъемлемой частью демографической политики государства, а онкологические заболевания, в том числе рак эндометрия (РЭ), остаются одними из важнейших медико-социальных проблем, требующих решения [1]. В Украине показатель заболеваемости РЭ в 2008 году составил 267 случаев на 100 тысяч женского населения (6635 больных), а смертности — 7,7 (1911 больных) Летальность до года составила 13,5% [2, 4]. 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 [3, 5]. Отсутствие надежных критериев прогноза РЭ до начала лечения и непосредственно в процессе его проведения является одной из причин, препятствующих коррекции методов лечения и, следовательно, повышению их эффективности [6, 7, 8]. Данные литературы указывают на возможность использования генов GST и ESR для оценки эффективности лечения РЭ и уточнения прогноза заболевания [8, 9]. Изучение данных вопросов актуально, поскольку это позволит повысить результаты лечения больных РЭ [6, 7, 8].

Цель исследования — изучить у больных РЭ частоту возникновения рецидивов с учетом основных клинических, фенотипических прогностических факторов и наличия эпигенетических нарушений генов GST и ESR.

Материалы и методы

Нами были обследованы 182 больные раком I—III ст. ($T_{1a-3b}N_{0-1}M_0$), из которых у 138 был обнаружен эндометриоидный рак, у 44 — неэндометриоидный. Возраст больных варьировал от 31 до 79 лет, а средний возраст составил $60,3 \pm 2,4$ года. Во всех исследуемых случаях диагноз был верифицирован морфологически.

У всех больных в сыворотке крови методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) было изучено наличие метилирования генов GST и ESR. После выделения ДНК из сыворотки крови определяли метилирования промоторной области генов GST и ESR, для чего ДНК обрабатывали метилчувствительными рестриктазами. Поиск сайтов рестрикции осуществлялся с помощью программы «WIN-SUN». Исследования проводили в лаборатории «Вирола» ХМАПО.

Все больные в послеоперационном периоде получали дистанционную лучевую терапию с суммарной очаговой дозой на точки А/В 40—45 Гр. У 91 больной со II—III ст. РЭ в послеоперационном периоде проводилось 4 курса химиотерапии на основе препаратов платины: 51 больной — по схеме CAP и 40 — по схеме CP. Дозы соответствовали следующим дозам химиопрепаратов в неделю: цисплатин — 20 (CAP) — 25 (CP) мг/м²; циклофосфан — 150 и 250 мг/м² соответственно; доксорубин — 15 мг/м².

После проведенного специального лечения больные наблюдались у онкогинеколога. В процессе динамического наблюдения у части больных был обнаружен рецидив заболевания. В этой связи нами была оценена частота возникновения рецидивов. Эти данные были проанализированы с учетом основных клинических, фенотипических прогностических факторов и наличия эпигенетических нарушений генов GST и ESR.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что частота рецидивирования РЭ в зависимости от стадии заболевания и метилирования генов GST и ESR представлена в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, всего у больных с I стадией процесса рецидив заболевания был обнаружен в 1,1% случаев. У больных контрольной группы с I стадией и наличием эпигенетических нарушений гена ESR рецидив не возник ни в одном



из 25 и 44 случаев соответственно. При I стадии РЭ выявлен всего один случай рецидива, который был диагностирован в группе больных с нарушенной функцией гена GST. Полученные результаты не позволяют провести анализ эффективности лечения больных раком тела матки в зависимости от метилирования генов GST и ESR.

Всего у больных с РЭ II ст. рецидив заболевания возник в 10,8% случаев. У женщин со II стадией и наличием метилированного гена GST рецидив заболевания выявлен в 5,9% случаев, а в группе пациенток с эпигенетическими нарушениями гена ESR частота возникновения рецидивов составила 8,0%. В контрольной группе больных результаты лечения оказались худшими, а исследуемый показатель составил 10,0%. Однако в полученных нами результатах отсутствует статистическая достоверность, поэтому различие в показателях можно трактовать как тенденции. Так, лучшие результаты лечения оказались в группе больных с метилированными генами GST, что противоречит тенденциям, наблюдаемым у больных с РЭ I ст.

В группе женщин с РЭ III ст. рецидив встречался в 23,1% случаев. В исследуемых группах больных показатели не отличались. Так, в группе

пациенток с наличием метилированного гена GST рецидивирование РЭ встречалось в 22,2% случаев. У пациенток с РЭ III ст. и наличием эпигенетических нарушений гена ESR рецидив был выявлен в 21,4% случаев. Показатели в контрольной группе больных оказались выше ($p < 0,05$), чем в исследуемых группах, и составили 28,6%.

Всего в контрольной группе больных, то есть без учета стадии заболевания, частота рецидивирования РЭ оказалась равной 7,1%. В исследуемых группах больных частота рецидивирования заболевания составила соответственно 10,5% при метилировании гена GST и 6,0% — в случаях эпигенетического нарушения гена ESR. При сравнении показателей анализируемых групп можно отметить отсутствие статистически достоверной разницы. Из тенденций наблюдались такие особенности. Частота возникновения рецидивов в контрольной группе больных и при наличии метилирования гена ESR не отличалась. В то же время показатели данных групп больных были несколько ниже, чем у больных РЭ, имеющих эпигенетические нарушения гена GST. Учитывая, что РЭ имеет относительно благоприятное течение и появление рецидивов в анализируемый нами период небольшое, то установленные нами тенденции позволяют сделать ряд предположений. Во-первых, метилирование гена ESR, имеющего четкую связь с гормональным канцерогенезом РЭ, не ухудшает ближайшие результаты лечения больных раком тела матки. В то же время метилирование гена ESR коррелирует с гистологически более дифференцированными формами карциномы эндометрия и логично было бы предположить наличие в данной группе пациентов лучших, по сравнению с контролем, результатов лечения. Однако такой зависимости нами не установлено. Во-вторых, метилирование гена GST сопровождается у больных РЭ более частыми рецидивами, что может быть связано как с фактором корреляции данной группы пациентов с гистологически менее дифференцированными формами рака, так и, возможно, с меньшей чувствительностью опухолевых клеток с данными изменениями генома к используемым нами методам лечения.

Возраст человека имеет значение не только для развития и течения заболеваний, но и влияет на частоту генетических нарушений. В этой связи нами проанализирована частота рецидивирования РЭ в зависимости от возрастного периода женщин и метилирования генов GST и ESR (табл. 2).

Среди всех 18 пролеченных больных репродуктивного периода рецидив заболевания возник у одной (5,6% случаев) пациентки, у которой наблюдалось метилирование гена GST. В группе контроля, как и в группе женщин с выявленными эпигенетическими нарушениями гена ESR, рецидив заболевания обнаружен не был ни в одном случае. Полученные данные не позволяют про-

Таблица 1

Частота рецидивирования рака эндометрия в зависимости от стадии заболевания и метилирования генов GST и ESR

Стадия РЭ	Частота рецидивирования, абс/%		
	Контроль	Метилирование гена GST	Метилирование гена ESR
I	— (n=25)	1 4,5 (n=22)	— (n=44)
II	1 10,0 (n=10)	1 5,9 (n=17)	2 8,0±5,4 (n=25)
III	2 28,6±17,2 (n=7)	4 22,2±9,8 (n=18)	3 21,4±10,9 (n=14)
Всего	3 7,1±3,9 (n=42)	6 10,5±4,1 (n=57)	5 6,0±2,6 (n=83)

Таблица 2

Частота рецидивирования рака эндометрия в зависимости от возрастного периода больных и метилирования генов GST и ESR

Возрастной период больных	Частота рецидивирования, абс/%		
	Контроль	Метилирование гена GST	Метилирование гена ESR
Репродуктивный	— n=5	1 25,0 n=4	— n=9
Климактерический	— n=12	— n=20	3 10,3±5,6 n=29
Менопауза	3 12,0±6,5 n=25	5 15,2±6,2 n=33	2 4,4±2,9 n=45

анализировать влияние функции исследуемых генов на эффективность лечения больных РЭ.

В группе больных климактерического периода на протяжении срока наблюдения нами получены следующие данные: рецидив заболевания был выявлен только у пациенток, у которых имелись эпигенетические нарушения гена ESR (10,3% случаев). У пациенток, находящихся в климактерическом периоде как без эпигенетических нарушений, так и с наличием метилирования гена GST, рецидив заболевания не был диагностирован ни в одном случае.

У больных, находящихся в менопаузе, рецидив заболевания возник в всех исследуемых нами группах и оказался ниже среди пациенток с наличием метилированного гена ESR (4,4% случаев). Наиболее часто в менопаузе рецидивы были диагностированы у пациенток с эпигенетическими нарушениями гена GST (15,2%, что оказалось в 3,5 раза выше, чем у больных с нарушенной функцией гена ESR). Однако небольшое количество рецидивов не позволяет говорить о статистической достоверности в показателях. В контрольной группе пациенток рецидив заболевания наблюдался в 12% случаев.

Таким образом, частота возникновения рецидивов заболевания не имела достоверного отличия в зависимости от возраста больных и метилирования генов GST и ESR. Однако нами отмечен ряд тенденций. Во-первых, частота рецидивов, не зависимо от наличия или отсутствия нарушения функции генов GST и ESR, возрастает с увеличением возраста больных. Во-вторых, метилирование исследуемых генов увеличивает частоту возникновения рецидивов у больных РЭ. Но в разные возрастные периоды больных эта тенденция обусловлена разными генами: в климактерическом — геном ESR; в менопаузе — геном GST.

Выводы

1. Результаты исследования показали, что частота возникновения рецидивов РЭ, с учетом стадии заболевания, не имела достоверного отличия в зависимости от наличия эпигенетических нарушений генов GST и ESR: 7,1% в контрольной группе больных; 10,5% — при метилировании гена GST и 6,0% — в случаях эпигенетического нарушения гена ESR. Однако различие в показателях позволяет выделить две тенденции:

- а) метилирование гена ESR, имеющего четкую связь с гормональным канцерогенезом РЭ, не ухудшает ближайшие результаты лечения больных;
- б) метилирование гена GST сопровождается у больных РЭ более частыми рецидивами, что может быть связано как с фактором корреляции данной группы пациентов с гистологически менее дифференцированными формами рака, так и, возможно, с меньшей чувствительностью опухолевых клеток с данными изменениями генома к используемым нами методам лечения.

2. Анализ частоты возникновения рецидивов заболевания в зависимости от возраста выявил следующие тенденции:

- а) независимо от наличия или отсутствия нарушения функции генов GST и ESR частота развития рецидивов увеличивается с возрастом больных;
- б) увеличение частоты возникновения рецидивов у больных РЭ в разные возрастные периоды больных связано с разными генами: в климактерическом — с геном ESR; в менопаузе — с геном GST.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии / Я.В. Бохман. — Л.: Медицина, 1989. — 464 с.
2. Воробьева Л.И. Состояние онкогинекологической помощи и влияние на демографическую ситуацию в Украине / Л.И. Воробьева // Здоровье женщины. — 2009. — № 7. — С. 4—6.
3. Пронин С.М. Диагностика и лечение начального рака эндометрия / С.М. Пронин, Е.Г. Новикова // Российский онкологический журнал. — 2003. — № 5. — С. 19—23.
4. Рак в Украине. Бюллетень национального канцерреестра № 9. — Киев, 2009. — 99 с.
5. Jason R. Navari. Loss of Estrogen Receptors Expression in Endometrial tumors is not associated with de Novo Methylation of the ERS gene / R. Navari Jason, Philip Y. Roland, Pacita Keh // Clinical Cancer Research. — 2000. — № 6. — P. 426—432.
6. Macleod Kay. Tumor suppressor genes / Macleod Kay // Current opinion in genetics and development. — 2000. — Vol. 10. — P. 81—93.
7. Masahiro Sasaki. Cytosine-Phosphoguanine Methylation of Estrogen Receptors in Endometrial Cancer / Masahiro Sasaki, Loulia Kotcherguina, Abhipsa Dharia // Cancer Research. — 2001. — Vol. 61. — P. 362—366.
8. Sambrook, Fritsch. Maniatis. Molecular cloning / Sambrook, Fritsch. Maniatis // Cold Spring Harbor Laboratory Press. — 1989. — P. 250.
9. Sara Wedren. Estrogen receptor alpha gene polymorphism and endometrial cancer risk—a case—control study / Sara Wedren, Lovisa Lovmar, Keith Humphreys // BMC Cancer. — 2008. — P. 1—11.



ВСТАНОВЛЕННЯ
ПРОГНОСТИЧНОГО
ЗНАЧЕННЯ МЕТИЛУВАННЯ
ГЕНІВ GST ТА ESR ПРИ
ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА РАК
ЕНДОМЕТРІЮ

*С. М. Карташов, Т. П. Якімова,
А. Г. Калаєва, В. М. Мазур*

Резюме. У 182 хворих на рак ендометрію (РЕ) I—III ст. методом ПЛР вивчено наявність метилування генів GST та ESR у сироватці крові. Показано, що метилування гена ESR, який має зв'язок із гормональним канцерогенезом РЕ, не погіршує найближчі результати лікування хворих; метилування гена GST супроводжується частішими рецидивами, що може бути пов'язано з фактором кореляції даної групи хворих із гістологічно менш диференційованими формами раку.

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

DETERMINATION
OF THE PROGNOSTIC VALUE
OF METHYLATION OF GST
AND ESR GENES IN THE
TREATMENT OF PATIENTS
WITH ENDOMETRIAL
CANCER

*S. M. Kartashov, T. P. Yakimova,
A. G. Kalayeva, V. N. Mazur*

Summary. In 182 patients with endometrial cancer stage I—III by PCR was studied the presence of methylation of GST and ESR gene in the blood serum. Shown that methylation of the ESR gene, which has connection with hormonal carcinogenesis of endometrial cancer did not affect immediate results of treatment of patients; GST gene methylation is accompanied by more frequent relapses, which may be due to the correlation factor of this group of patients with histologically less differentiated cancers.

Key words: *endometrial cancer, GST and ESR genes, methylation.*