



С. М. Карташов, М. Н. Гагуа

Харьковская медицинская академия последипломного образования

© С. М. Карташов, М. Н. Гагуа

ВЛИЯНИЕ ОБЪЕМА ЦИТОРЕДУКТИВНЫХ ОПЕРАЦИЙ И МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ RASSF И GST НА РЕЦИДИВИРОВАНИЕ РАКА ЯИЧНИКА

Резюме. У 168 больных раком яичника (РЯ) $T_{2a-3c}N_{0-1}M_{0-1}$ стадий методом полимеразно-цепной реакции изучены наличие метилирования генов RASSF и GST и частота возникновения рецидивов. Установлено, что частота выполнения оптимального циторедуктивного хирургического вмешательства не зависит от наличия или отсутствия метилирования генов RASSF и GST. Объем циторедукции особенно важен для пациенток с метилированием гена RASSF и не имеющих нарушения функции генов RASSF и GST, поскольку позволяет достоверно снизить частоту рецидивов заболевания (с 95,5 до 72,1% и 66,7 до 25,6%, соответственно группам, $p < 0,01$). Группы больных с метилированием гена GST не имеют достоверной связи между объемом циторедукции и частотой возникновения рецидивов, а результаты лечения в значительной степени зависят от других компонентов лечения, в частности, от эффективности схем химиотерапии.

Ключевые слова: рак яичника, метилирование генов RASSF и GST, рецидив, циторедуктивная операция.

Вступление

Рак яичника (РЯ) составляет 5,3% среди всех злокачественных опухолей у женщин, занимает седьмое место по частоте возникновения и пятое место в структуре смертности женского населения (6,7%) [4, 5].

Проблема диагностики РЯ видна по поздней выявляемости заболевания: большинство (75—80%) больных поступают в клинику с III—VI стадиями опухолевого процесса [6]. Лечение распространенных форм РЯ — актуальная проблема онкологии. В настоящее время остается проблематичным вопрос о значении традиционных клиничко-морфологических факторов прогноза у больных РЯ. Несомненно, что стадия заболевания и объем циторедуктивной операции являются ведущими факторами, на основании которых вырабатывается план лечебных мероприятий [4, 5]. Но современные данные о патогенетических факторах требуют поиска и клинического применения новых критериев, которые бы характеризовали биологические свойства опухоли [1, 2, 3]. Данные литературы по этому вопросу немногочисленны. При многих онкологических заболеваниях активно изучаются эпигенетические нарушения генов RASSF и GST, а при РЯ такие исследования являются особенно актуальными [7, 8, 9, 10].

Цель работы — изучить частоту возникновения рецидивов у больных РЯ в зависимости от наличия эпигенетических нарушений генов RASSF и GST и видов циторедуктивных хирургических вмешательств.

Материалы и методы

Обследованы 168 больные РЯ II—IV ($T_{2a-3c}N_{0-1}M_{0-1}$) стадий в возрасте от 32 до 79 лет, а средний

возраст составил $56,8 \pm 2,2$ года. Во всех исследуемых случаях диагноз был верифицирован морфологически. Всем больным РЯ было проведено комбинированное лечение. Хирургическое лечение больных состояло: в экстирпации (160 больных — 95,2%) или ампутации матки (8 больных — 4,8%) с придатками и резекцией (15 больных — 8,9%) или экстирпацией (153 больных — 91,1%) большого сальника. Объем операции определялся в каждом конкретном случае общим состоянием больной и распространенностью процесса. Все операции были циторедуктивными. К оптимальной циторедукции мы относили вмешательства, при которых размеры остаточной опухоли не превышали 0,5 см; субоптимальная — 0,5—1,0 см и неоптимальная — более 1,0 см. Учитывая небольшое количество субоптимальных циторедукций, данное вмешательство мы объединили с группой больных с неоптимальными циторедукциями.

Все больные получали полихимиотерапию (ПХТ) на основе препаратов платины по схеме CAP (цисплатин+циклофосфамид+доксорубин — 19 больных), CP (цисплатин+циклофосфамид — 116 больных) и TP (паклитаксел+цисплатин — 33 больных).

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

Для статистической обработки показателей использован пакет программ Excel 2003. Досто-

верность результатов лечения была оценена по t-Стьюдента и критерию χ^2 .

Результаты исследования и их обсуждение

Один из важных прогностических факторов, влияющих на результаты лечения при распространенных формах РЯ, являются размеры оставленной опухолевой ткани. В этой связи проанализировали частоту проведения разных видов циторедуктивных операций. Результаты исследования проанализированы с учетом метилирования генов RASSF и GST и представлены в табл. 1.

Таблица 1

Частота выполнения различных видов циторедуктивных хирургических вмешательств у больных РЯ II—IV ст. в зависимости от наличия эпигенетических нарушений генов RASSF и GST

Виды хирургических вмешательств	Частота выполнения операций (абс/%)		
	1.Метилирование гена RASSF	2.Метилирование гена GST	3.Отсутствие метилирования генов RASSF и GST
Оптимальная циторедукция	61/ 73,5±5,6	49/ 79,0±5,2	43/ 71,1±5,8
Суб- и неоптимальная циторедукция	22/ 26,5±5,6**	13/ 21,0±5,2**	15/ 25,9±5,8**

Примечание: — **<0,01 — различие между группами с разными видами вмешательств статистически достоверно.

Как видно из представленных в табл. 1. данных, количество пациенток, которым было проведено оптимальное циторедуктивное хирургическое вмешательство, было достоверно больше, чем больных, у которых была суб- или неоптимальная циторедукция. Причем эта зависимость сохраняется независимо от наличия метилирования гена RASSF, гена GST или отсутствия их метилирования. Более того, полученные данные в группах не имели даже четко выраженной тенденции. Результаты исследования указывают на то, что на возможность выполнения оптимальной циторедукции, при распространенных опухолевых процессах, метилирование исследуемых генов влияния не оказывает. Как известно, возможность выполнения оптимального циторедуктивного хирургического вмешательства зависит не только от стадии заболевания, сколько от особенностей распространения опухолевого процесса, в частности, наличия имплантационных метастазов на висцеральной брюшине. Следовательно, на основании полученных выше данных, подтверждающих влияние метилирования генов RASSF и GST на биологическую активность опухолевых клеток, результаты, представленные в данной таблице, указывают на то, что ни ген RASSF, ни ген GST не влияют на особенность имплантационного метастазирования.

Учитывая, что размеры и объем оставленной опухолевой ткани оказывают значительное вли-

яние на прогноз заболевания, мы оценили частоту возникновения рецидивов в данных группах больных. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Частота возникновения рецидивов у больных РЯ II—IV ст. в зависимости от наличия эпигенетических нарушений генов RASSF и GST и видов циторедуктивных хирургических вмешательств

Виды хирургических вмешательств	Частота возникновения рецидивов (абс/%)		
	1.Метилирование гена RASSF	2.Метилирование гена GST	3.Отсутствие метилирования генов RASSF и GST
А.Оптимальная циторедукция	44/ 72,1±5,7 ³ n=61	34/ 69,4±6,6 ³ n=49	11/ 25,6±6,7 ^{1,2} n=43
В.Суб- и неоптимальная циторедукция	21/ 95,5±4,6 ^{**А} n=22	10/ 76,9±11,7 n=13	10/ 66,7±12,1 ^{**А} n=15

Примечание: — *<0,05; **<0,01 — различие между группами статистически достоверно по критерию χ^2

Как видно из приведенных в таблице данных, частота возникновения рецидивов зависела от объема хирургического вмешательства, однако результаты лечения имели четкую связь и с наличием эпигенетических нарушений исследуемых генов. Так, достоверно меньшая частота рецидивов заболевания у больных с оптимальной циторедукцией в сравнении с суб- и неоптимальным хирургическим вмешательством, отмечена нами в группах с метилированием гена RASSF и не имеющих нарушение функции генов RASSF и GST. Причем особо следует отметить группу больных без метилирования исследуемых генов, в которой оптимально выполненное хирургическое вмешательство позволяет снизить частоту рецидивов в 2,6 раза (с 66,7 до 25,6%, p<0,01).

В группе больных с наличием эпигенетических нарушений гена GST частота возникновения рецидивов при оптимально выполненной циторедукции имела лишь тенденцию к улучшению показателя в сравнении с группой пациенток, которым была выполнена суб- или неоптимальное хирургическое вмешательство. Эти данные, с одной стороны, подтверждают роль хирургического компонента, а с другой — позволяют объяснить, почему в ряде случаев при оптимально выполненной операции мы наблюдаем быстрый рецидив. Вероятно, именно у данной группы больных с метилированием гена GST результаты в значительной степени зависят от других компонентов лечения, в частности, от эффективности схем химиотерапии.

Оценивая частоту возникновения рецидивов у пациенток с оптимальной циторедукцией, нами установлено достоверное различие показателей в анализируемых группах больных. В частности, достоверно лучшие результаты лечения отмечены в группе больных, не имеющих нарушение



функции генов RASSF и GST. Причем частота возникновения рецидивов в данной группе больных (25,6%) была меньше как по сравнению с группой, имеющих эпигенетические нарушения и гена RASSF (72,1%, $p < 0,01$), и гена GST (69,4%, $p < 0,01$). Эти данные позволяют также утверждать, что метилирование генов RASSF и GST является отрицательным прогностическим фактором, поскольку при одинаковых исходных показателях частота рецидивирования РЯ в данных группах больных в последующем в 2,8 раза выше. Эти данные говорят о малой эффективности последующей за операцией химиотерапии и требуют как анализа схем химиотерапии, так и поиска новых подходов к лечению.

Результаты лечения в группах больных после суб- и неоптимальной циторедукцией также различались. Причем отсутствие метилирования исследуемых генов у больных РЯ II—IV ст. сопровождалось наименьшей частотой рецидивирования заболевания (66,7%), а наличие эпигенетических нарушений гена RASSF у пациенток коррелировало с наибольшей частотой возникновения рецидивов (95,5%, $p < 0,01$ по критерию χ^2). Результаты лечения больных, имеющих метилирование гена GST, были средними (76,9% частота рецидивов) в сравнении с указанными группами. Частота возникновения рецидивов наиболее различалась в группах больных РЯ, у которых исходные показатели, в частности, частота выполнения суб- и неоптимальной циторедукции были практически одинаковы. А последующее лечение и исходные биологические свойства опухолей привели к достоверно разным результатам лечения. Эти данные указывают на необходимость выполнения оптимальных хирургических вмешательств у большего количества больных. Особенно это касается пациенток с эпигенетиче-

скими нарушениями гена RASSF. Однако большая частота возникновения рецидивов как при оптимальной, так и неоптимальной циторедукции у больных, имеющих нарушение функции генов RASSF и GST, требует нового подхода к диагностике и химиотерапевтическому лечению.

Выводы

1. Количество пациенток РЯ II—IV ст., которым было проведено оптимальное циторедуктивное хирургическое вмешательство, было достоверно больше, чем больных, у которых была суб- или неоптимальная циторедукция. Причем эта зависимость сохраняется независимо от наличия метилирования гена RASSF, гена GST или отсутствия их метилирования.

2. Объем циторедукции у больных РЯ II—IV ст. особенно важен для пациенток с метилированием гена RASSF и не имеющих нарушения функции генов RASSF и GST, поскольку позволяет достоверно снизить частоту рецидивов заболевания (с 95,5 до 72,1% и 66,7 до 25,6%, соответственно группам, $p < 0,01$).

3. У пациенток с оптимальной циторедукцией частота возникновения рецидивов была достоверно меньшей в группе больных, не имеющих нарушения функции генов RASSF и GST (25,6%), как по сравнению с группой, имеющих эпигенетические нарушения гена RASSF (72,1%, $p < 0,01$), так и гена GST (69,4%, $p < 0,01$).

4. Группа больных с метилированием гена GST не имеют достоверной связи объема циторедукции с частотой возникновения рецидивов, а результаты лечения в значительной степени зависят от других компонентов лечения, в частности, от эффективности схем химиотерапии, что требует поиска новых подходов к лечению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранова А. В. Гены-супрессоры опухолевого роста / А. В. Баранова, Н. К. Янковский // Молекулярная биология. — 1998. — № 32. — С. 206—218.
2. Брага Э. А. От идентификации геномного полиморфизма к диагностическим и прогностическим маркерам эпителиальных опухолей человека / Э. А. Брага, Л. Л. Киселев, Е. Р. Забаровский // Молекулярная биология. — 2004. — № 38. — С. 179—190.
3. Залетаев Д. В. Метилирование ДНК как этиологический фактор канцерогенеза / Д. В. Залетаев, М. В. Немцова, Н. П. Бочков // Вестник РАМН. — 2002. — № 4. — С. 6—11.
4. Орлова Р. В. Современное стандартное лечение больных раком яичников / Р. В. Орлова // Практическая онкология. — 2000. — № 4. — С. 42—44.
5. Стенина М. Б. Химиотерапия первой линии при раке яичников: Стандарты и нерешенные вопросы / М. Б. Стенина // Практическая онкология. — 2000. — № 4. — С. 25—31.
6. Хансон К. П. Молекулярная генетика рака яичников / К. П. Хансон, Е. Н. Имянитов // Практическая онкология. — 2000. — № 4. — С. 3—6.
7. Agathangelou A. Role of the Ras—Association Domain Family 1 Tumor Suppressor Gene in Human Cancers / A. Agathangelou, W. N. Cooper, F. Latif // Cancer Research. — 2005. — Vol. 65, No. 9. — P. 3497—3508.
8. Coughlin S. S. Glutathione S—transferase polymorphisms and risk of ovarian cancer: A huge review / S. S. Coughlin, I. J. Hall // Genetics In Medicine. — 2002. — Vol. 4, No. 4. — P. 250—257.
9. Promoter Hypermethylation Profile of Ovarian Epithelial Neoplasms / P. B. Makarla, M. H. Saboorian, R. Ashfaq [et al.] // Clinical Cancer Research. — 2005. — Vol. 11, No. 15. — P. 5365—5369.
10. The Glutathione S—Transferase M1 Genotype in Ovarian Cancer / A. Lallas, S. K. McClain, M. S. Shahin [et al.] // Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention. — 2000. — Vol. 9. — P. 587—590.

ВПЛИВ ОБ'ЄМУ
ЦИТОРЕДУКТИВНИХ
ОПЕРАЦІЙ ТА
МЕТИЛУВАННЯ ГЕНІВ
RASSF ТА GST НА
РЕЦЕДИВУВАННЯ РАКУ
ЯЄЧНИКА

С. М. Карташов, М. Н. Гагуа

Резюме. У 168 хворих РЯ $T_{2a-3c}N_{0-1}M_{0-1}$ стадій методом полімерно-ланцюгової реакції вивчена наявність метилування генів RASSF та GST і частоту виникнення рецидивів. Установлено, що частота виконання оптимального циторедуктивного хірургічного втручання не залежить від наявності або відсутності метилування генів RASSF та GST. Об'єм циторедукції є особливо важливим для пацієнтів із метилуванням гену RASSF та таких, що не мають порушення функції генів RASSF та GST, оскільки дозволяє достовірно знизити частоту рецидивів захворювання (від 95,5 до 72,1% і від 66,7 до 25,6%, відповідно до груп, $p < 0,01$). Групи хворих з метилуванням гену GST не мають достовірного зв'язку між об'ємом циторедукції та частотою виникнення рецидивів. А результати лікування у значній мірі залежать від інших компонентів лікування, в тому числі від ефективності схем хімотерапії.

Ключові слова: рак яєчника, метилування генів RASSF та GST, рецидив, циторедуктивна операція.

THE INFLUENCE OF
THE VOLUME OF
CYTOREDUCTION
OPERATIONS AND
RASSF AND GST GENE
METHYLATION ON
OVARIAN CANCER
RECIDIVATION

S. M. Kartashov, M. N. Gagua

Summary. The presence of RASSF and GST gene methylation and the frequency of recidivations was studied in 168 ovarian cancer patients of $T_{2a-3c}N_{0-1}M_{0-1}$ stage by polymerase chain reaction. It was found out that the frequency of optimal cytoreduction operation does not depend on the presence or absence of RASSF and GST genes. The volume of cytoreduction is especially important in cases with RASSF gene methylation and without RASSF and GST gene function disorders as it allows to reduce the frequency of disease recidivation (from 95,5% to 72,1% and from 66,7% to 25,6%, according to the group, $p < 0,01$). The groups of patients with GST gene methylation do not have reliable correlation between the cytoreduction volume and the recidivation frequency and the treatment result mainly depends on other treatment components, particularly on the effectiveness of chemotherapy procedure.

Key words: ovarian cancer, RASSF and GST gene methylation, recidivation, cytoreduction operation.