УДК: 618.19-006.6-06:575

В.М.Запорожан, Р.П.Ромак

ЕПІГЕНЕТИЧНА РЕГУЛЯЦІЯ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ПРИ ДОБРОЯКІСНИХ ДИСПЛАЗІЯХ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Одеський національний медичний університет

Запорожан В.М., Ромак Р.П. Епігенетична регуляція проліферації при доброякісних дисплазіях молочної залози // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3. – С. 59-61.

Метою дослідження була оцінка активності метилування генів GSHR та DKK4 у хворих на фіброзно-кистозну мастопатію.

Середні значення активності метилування гену GSHR у пацієнток з РМЗ є значно вищими ніж у хворих на фіброзно-кистозну мастопатію (відповідно 51,6±2,5% й 4,9±1,1%). Активність метилування гену DKK4 у тканинах доброякісних новоутворень перевищує нормальну активність у 5-9 разів (із урахуванням 95% довірчого інтервалу), а при інвазивному раку молочної залози – у 15-25 разів. Перспективи подальших досліджень пов'язані із дослідженням ролі епігенетичних маркерів проліферації у прогнозуванні перебігу ДДМЗ.

Ключові слова: епігенетична регуляція, пухлини молочної залози, діагностика.

Запорожан В.Н., Ромака Р.П. Епигенетична регуляция пролиферации при доброкачественных дисплазиях молочной железы // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3. – С. 59-61.

Целью исследования была оценка активности метилирования генов GSHR и DKK4 у больных фиброзно - кистозной мастопатией.

Средние значения активности метилирования гена GSHR у пациенток с РМЖ значительно выше, чем у больных фиброзно - кистозной мастопатией (соответственно 51,6 ± 2,5 % и 4,9 ± 1,1 %). Активность метилирования гена DKK4 в тканях доброкачественных новообразований превышает нормальную активность в 5-9 раз (с учетом 95 % доверительного интервала), а при инвазивном раке молочной железы - в 15-25 раз. Перспективы дальнейших исследований связаны с исследованием роли эпигенетических маркеров пролиферации в прогнозировании течения ДДМЗ .

Ключевые слова: эпигенетическая регуляция , опухоли молочной железы , діагностика.

Zaporozhan V.M., Romak R.P. Epigenetic regulation of the cell proliferation in benign breast dysplasia // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3. – С. 59-61.

The aim of the study was to evaluate the activity and the methylation of genes GSHR DKK4 in patients with fibro-cystic mastopathy.

The average activity of GSHR gene methylation in patients with breast cancer is significantly higher than in patients with fibro- cystic mastopathy (respectively 51,6 ± 2,5% and 4,9 ± 1,1%). DKK4 gene methylation activity in tissues of benign tumors than normal activity in 5-9 times (with the 95% confidence interval), and in invasive breast cancer - at 15-25 times. Prospects for further research are related to the study of the role of epigenetic markers of cell proliferation in predicting the course DDMZ .

Key words: epigenetic regulation, breast tumors, diagnosis.

Доброякісні дисплазії молочної залози (ДДМЗ) є одною з найбільш поширених видів патології у жінок – за оцінками вітчизняних та західних фахівців вони зустрічаються у 30-92% жінок. [1, 2]. Відповідно до МКХ-10 розрізняються дифузну кистозну мастопатію, солітарні кисти молочної залози, фіброаденоз та фібросклероз молочної залози, ектазію протоків молочної залози та інші патологічні стани, пов'язані з проліферацією залозистого епітелію молочної залози [3].

Етіологія ДДМЗ досі є неясною, але більшість дослідників вважають беззаперечною роль дисгормональних порушень, в тому числі індукованих екзогенними впливами [1, 2, 4]. Доведено, що гіперпластичні процеси молочних залоз нерідко є безпосереднім наслідком ендокринної патології. При доброякісних гіперпластичних захворюваннях геніталій у 74,4% хворих розвиваються захворювання молочних залоз, а в цілому при нейроендокринних гінекологічних захворюваннях ця цифра становить 97,8%. 70% хворих з дифузійними фіброаденомами міють різноматні гінекологічні захворювання [1, 4, 5].

Епідеміологія доброякісних захворювань молочної залози вивчена менше, ніж епідеміологія раку молочної залози [1, 6]. Це пояснюється тим, що регулярний облік і статистичний аналіз доброякісних захворювань молочної залози відсутній, а відомості про поширеність цих захворювань можна одержати тільки з окремих спеціальних обстежень населення [1, 2].

Проблема зв'язку ДДМЗ із раком молочної залози є одною з головних і, у той же час, найбільш спірних в профілактиці злоякісних новоутворень. Незважаючи на те, що ДДМЗ не є облігатним предраком, клінічні спостереження свідчать, що у хворих на ДДМЗ залоз рак даної локалізації розви-

вається в декілька разів частіше, ніж у здорових жінок, а при дисплазії з явищами проліферації - в 30 разів частіше [1, 2, 6].

В останні роки все більшої популярності у світі набувають методи вивчення епігенетичних факторів схильності до онкологічних захворювань [7-10]. Не є виключенням й РМЗ. Так, у дослідженнях вітчизняних та західних фахівців переконливо доведено, що незважаючи на відносну рідкісність мутацій генів ФІС або CTNNB1 при РМЗ, активація передачі сигналів у Wnt-клітинному шляху відіграє важливу роль в онкогенезі. При цьому одним з ймовірних механизмів контролю проліферативної активності клітин пухлини може виступати епігенетичної активації генів-антагонистів Wnt, зокрема представників сімейства Dickkopf (DKK). Таким чином, метилування гену DKK4 відіграє важливу роль при розвитку РМЗ. З іншого боку, зважаючи на патогенетичну роль процесів детоксикації ксенобіотиків та перекисного стресу в онкогенезі молочної залози значний інтерес являє епігенетична регуляція активності гену глутатіонредуктази (GSHR). Втім, до останнього часу подібних досліджень ані в Україні , ані за кордоном не проводилося.

Метою дослідження була оцінка активності метилування генів GSHR та DKK4 у хворих на фіброзно-кистозну мастопатію.

Матеріал та методи. Дослідження виконане на базі обласного онкологічного диспансеру та обласної клінічної лікарні (м. Одеса) протягом 2010-2011 р. Обстежено відповідно до клінічних протоколів затверджених наказами МОЗУ № 676 60 жінок, в тому числі 30 – з верифікованим РМЗ, та 30 – із ФКМ. Додатково до рутинних методів дослідження проведене дослідження активності метилування гену GSHR із використанням тестового набору EpiTect QIAGEN (США), та гену DKK4 за допомогою набору EZ DNA Methylation Kit (Zymo Research, Orange, CA, USA) методом специфічної ПЛР реакції та наступного піросеквенування.. Очищені зразки ДНК були одержані з цільної крові пацієнток, відібраної натще за стандартною методикою.

Статистична обробка проводилася з використанням непараметричних критеріїв Вілкоксона й Манна-Уїтні у програмному комплексі Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США).

Результати власних досліджень. Середній вік обстежених склав 51,4±1,6 у групі хворих на РМЗ й 35,3±1,5 років у групі пацієнток з ФКМ. При визначенні частоти різних форм ФКМ у пацієнток встановлено, що найчастіше у них реєструвалася фібраденома (19 випадків або 63,3%), значно рідше зустрічався локальний фіброаденоматоз (6,6%), аденоматоз (6,6%), солітарні кисти молочної залози та інші форми ДДМЗ.

Обтяжений гінекологічний й спадковий анамнез визначено у 50,0% пацієнток з ФКМ та 72,4% з РМЗ. У більшості (63,3%) пацієнток з ФКМ були супутні гінекологічні захворювання, в тому числі СПКЯ, ендометріоз та міоми матки. Натомість, у групі пацієнток з РМЗ супутня гінекологічна патологія визначена у 44,8% випадків.

У пацієнток з РМЗ найчастіше зустрічалися пухлини у стадії Т2 (23 випадків тобто 79,3%), рідше Т1 (10,3%), в поодиноких випадках – більш запущені стадії. У трьох випадках визначено метастазування в регіональні лімфатичні вузли (N1-2). Віддалених метастазів не було у жодної пацієнтки.

При порівнянні активності метилування гену GSHR (табл. 1) встановлено, що у групі пацієнток з РМЗ середні значення цього показника на порядок перевищували відповідні значення, встановлені у хворих на ФКМ.

Враховуючи наявність статистично значущих відмінностей за віком пацієнток з РМЗ та ФКМ для виключення впливу вікового фактору були розраховані зважені коефіцієнти активності метилування.

При їх співставленні нами визначено, що відмінності між групами є статистично значущими ($Z=4,7$ $p=3,0x10^{-6}$). При значеннях активності метилування гену в діапазоні 17,8-24,9% рішення про характер пухлинного процесу має прийматися з використанням додаткових діагностичних критеріїв. Слід також зазначити, що у жінок з ФКМ у 15 (50,0%) випадків метилування гену GSHR було відсутнє. Цим пояснюються висока дисперсія показника у групі.

Таблиця 1. Активність метилування генів GSHR та DKK4 у обстежених хворих (M±m)

Групи порівняння	n	GSTM1	DKK4
РМЗ	30	51,6±2,5	43,3±4,8
ФКМ	30	4,9±1,1	23,2±3,4

Крім того, кількість метилованої ДНК гена DKK4 у зразках аденокарциноми був значно вищим ніж у жінок з доброякісними пухлинами молочної залози

Висновки:

1. Середні значення активності метилування гену GSHR у пацієнток з РМЗ є значно вищими ніж у хворих на ФКМ (відповідно 51,6±2,5% й 4,9±1,1%)

2. активність метилування гену DKK4 у тканинах доброякісних новоутворень перевищує нормальну активність у 5-9 разів (із

урахуванням 95% довірчого інтервалу), а при інвазивному раку молочної залози – у 15-25 разів

Перспективи подальших досліджень пов'язані із дослідженням ролі епігенетичних маркерів проліферації у прогнозуванні перебігу ДДМЗ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Breast cancer risk factors in a defined population: weighted logistic regression approach for rare events. / **Zare N, Haem E, Lankarani KB [et al.]** // J Breast Cancer. - 2013 – Vol. 16(2) – P. 214-219.
2. Ошибки в клинической онкологии /Под ред. **В.И. Чиссова, А.Х. Трахтенберга.** - ГЭОТАР-Медиа, 2009. -768 с.
3. Международная классификация болезней. Электронный ресурс. Режим доступа: http://www.mkb10.ru/
4. **Салех Самир А.** Прогнозирование и профилактика доброкачественных дисплазий молочных желез у женщин с гинекологическими заболеваниями / Салех Самир А., Мальхотра Л. // Вестник Российского государственного медицинского университета. - 2006. - № 2. - С. 450.
5. **Hanson CA.** Fibroadenomatosis (fibroadenomatoid mastopathy): a benign breast lesion with composite pathologic features. / Hanson CA, Snover DC, Dehner LP.// Pathology. - 1987 – Vol. 19(4) – P. 393-396.
6. Динамика аномалий метилирования функциональных групп генов при развитии рака молочной железы / **Скрябин Н.А., Толмачёва Е.Н., Лебедев И.Н. [и др.]** // Молекулярная биология. - 2013. - Т. 47. № 2. - С. 302.
7. Новые маркеры метилирования и экспрессии генов при раке молочной железы / **Кузнецова Е.Б., Кекеева Т.В., Ларин С.С. [и др.]** // Молекулярная биология. - 2007. - Т. 41. № 4. - С. 624-633.
8. Эпигенетические модификации генов контроля клеточного цикла RB1, CDKN2B, P14ARF в тканях молочной железы при развитии опухолевого процесса / **Толмачёва Е.Н., Васильева О.В., Лебедев И.Н. [и др.]** // Сибирский онкологический журнал. - 2008. - № S2.- С. 86-87.
9. Роль метилирования генов ингибиторов циклин-зависимых кинах в эпигенетической инактивации ретинобластомного пути регуляции клеточного цикла при раке молочной железы / **Скрябин Н.А., Лебедев И.Н., Толмачева Е.Н., Чердынцева Н.В.** // Якутский медицинский журнал. - 2009. - № 2. - С. 89-91.
10. Современный высокотехнологичный метод скрининга дифференциального метилирования геномов на основе амплификации интерметилированных сайтов / **Стрельников В.В., Танас А.С., Шкарупо В.В. [и др.]** // Молекулярная медицина. - 2009. - № 4. - С. 18-27.

Надійшла 14.03.2013 р.
Рецензент: проф. В.В.Сімрок