

С.М. Карташов, М.Н. Гагуа

Влияние эпигенетических нарушений генов RASSF и GST на эффективность химиотерапии при раке яичника

Харьковская медицинская академия последиplomного образования

Ключевые слова: рак яичника, метилирование генов RASSF и GST, рецидив, схема химиотерапии.

У 184 больных раком яичника $T_{1c-3c}N_{0-1}M_{0-1}$ 1-стадий методом полимеразно-цепной реакции изучены наличие метилирования генов RASSF и GST и частота возникновения рецидивов. Установлено, что частота рецидивирования заболевания зависит от схемы химиотерапии. При метилировании генов RASSF наиболее эффективной оказалась комбинация TP (паклитаксел+цисплатин – 60% рецидивов) и CP (цисплатин+циклофосфамид – 71,4% рецидивов), а при эпигенетическом нарушении функции гена GST – схема TP (56,3% рецидивов) и CAP (цисплатин+циклофосфамид+доксорубин – 63,5% рецидивов). У больных раком яичника без метилирования генов RASSF и GST эффективность использования всех исследуемых комбинаций оказалась одинаковой: CP (34,3% рецидивов) и CAP (31,3%), TP (30%).

Вплив епігенетичних порушень генів RASSF та GST на ефективність хіміотерапії при раку яєчника

С.М. Карташов, М.Н. Гагуа

У 184 хворих на рак яєчника $T_{1c-3c}N_{0-1}M_{0-1}$ -стадії методом полімеразно-ланцюгової реакції вивчено наявність метилування генів RASSF і GST та частота виникнення рецидивів. Встановлено, що частота рецидивування захворювання залежить від схеми хіміотерапії. При метилуванні генів RASSF найбільш ефективнішою виявилась комбінація TP (паклітаксел+цисплатин – 60% рецидивів) і CP (цисплатин + циклофосфамід – 71,4% рецидивів), а при епігенетичному порушенні функції гену GST – схема TP (56,3% рецидивів) і CAP (цисплатин + циклофосфамід + доксорубіцин – 63,5% рецидивів). У хворих на рак яєчника без метилування генів RASSF і GST ефективність усіх використаних комбінацій виявилась однаковою: CP (34,3% рецидивів) і CAP (31,3%), TP (30%).

Ключові слова: рак яєчника, метилування генів RASSF та GST, рецидив, схема хіміотерапії.**Патологія.** – 2011. – Т.8., №1. – С. 33–35

The influence of RASSF and GST gene epigenetic disorders on the chemotherapy efficiency in ovarian cancer cases

S.M. Kartashov, M.N. Gagua

The presence of RASSF and GST gene methylation and the frequency of recidivations were studied in 184 ovarian cancer cases of $T_{1c-3c}N_{0-1}M_{0-1}$ stages by the method of polymerase chain reaction. It was found out that the frequency of the disease recidivations depends on the chemotherapy regimen. In RASSF gene methylation cases more efficient the combination of TP (paclitaxel+cisplatin — 60% recidivations) and CP (cisplatin+cyclophosphamide — 71,4% recidivations) turned to be and in cases of epigenetic disorders of GST gene functions - TP regimen (56,3% recidivations) and CAP (cisplatin+cytophosphamide+doxorubicine — 63,5% recidivations). In ovarian cancer cases without RASSF and GST gene methylations the efficiency of all studied combinations was the same: CP (34,3% recidivations) and CAP (31,3% recidivations), TP (30% recidivations).

Key words: ovarian cancer, RASSF and GST gene methylation, recidivation, chemotherapy regimen.**Pathologia.** 2011; 8(1): 33–35

Ежегодно в мире регистрируется около 166 тыс. новых случаев рака яичников (РЯ) и около 101 тыс. женщин погибают от прогрессирования заболевания, что обуславливает интерес отечественных и зарубежных исследователей к проблеме онкогенеза РЯ [6,9]. Среди множества факторов, влияющих на возникновение и течение РЯ, немаловажную роль играют генетические факторы [2,6]. Установлено, что при РЯ накапливаются генетические повреждения, которые лежат в основе канцерогенеза. При РЯ часто встречаются обратимые изменения активности генов, не связанные с нарушением структуры ДНК, но приводящие к изменению их функции (эпигенетические). К таким изменениям относят метилирование генов RASSF и GST [7,8,10].

Лечение РЯ – актуальная проблема онкологии. В настоящее время остается проблематичным вопрос о значении традиционных клинико-морфологических факторов прогноза у больных РЯ. На эффективность лечения больных РЯ существенное влияние оказывает схема химиотерапии. Существующие стандарты лече-

ния предусматривают комбинации цитостатиков, дозы и режим введения [4,6]. В тоже время РЯ, как и другие злокачественные новообразования, имеют массу различий в свойствах, которые влияют как на рост опухоли, особенности метастазирования, так и на чувствительность к цитостатикам, однако такие критерии на сегодня не применяются. Современные данные о патогенетических факторах требуют поиска и клинического применения новых критериев, которые характеризовали бы биологические свойства опухоли и чувствительность к терапевтическим методам лечения [2,4,5]. В этом направлении изучают эпигенетические нарушения генов RASSF и GST, а при РЯ такие исследования особенно актуальны, поскольку результаты лечения во многом зависят от эффективности химиотерапии [1,3,9].

Цель работы

Изучить частоту возникновения рецидивов у больных РЯ, в зависимости от наличия эпигенетических нарушений генов RASSF и GST и схемы химиотерапии.

Пациенты и методы исследования

Обследованы 184 больные РЯ I–IV (T_{1c-3c}N₀₋₁M₀₋₁) стадий в возрасте от 32 до 79 лет (средний возраст – 56,8±2,2 года). Во всех исследуемых случаях диагноз верифицирован морфологически. Всем больным РЯ проведено комбинированное лечение. Хирургическое лечение пациентов состояло в экстирпации (179 больных – 96,3%) или ампутации матки (5 больных – 2,7%) с придатками и резекцией (15 больных – 8,2%) или экстирпацией (169 больных – 91,8%) большого сальника. Объем операции определяли в каждом конкретном случае общим состоянием больной и распространенностью процесса.

Все пациенты получали полихимиотерапию (ПХТ) на основе препаратов платины по схеме CAP (цисплатин + циклофосфамид + доксорубин – 26 больных), CP (цисплатин + циклофосфамид – 120) и TP (паклитаксел + цисплатин – 38).

Методом полимеразно-цепной реакции у всех больных 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 осуществляли с помощью программы «WIN-SUN». Исследования проводили в лаборатории «Вирола» ХМАПО. Результаты лечения оценены по частоте рецидивирования заболевания за 2-летний период наблюдения.

Для статистической обработки показателей использован пакет программ Excel 2003. Достоверность результатов лечения оценена по критерию χ^2 .

Результаты и их обсуждение

Исследования показали, что наиболее часто для лечения РЯ использовалась комбинация CP (данные представлены в табл. 1).

Таблица 1

Частота возникновения рецидивов у больных РЯ, в зависимости от наличия эпигенетических нарушений генов RASSF и GST и использования схем химиотерапии

Схемы химиотерапии	Частота возникновения рецидивов (абс/%)		
	Метилирование гена RASSF	Метилирование гена GST	Отсутствие метилирования гена RASSF и GST
CP	35/71,4±6,5 n=49	27/90,0±5,5** ¹ n=30	12/34,3±8,0** ^{1,2} n=35
CAP	17/89,5±6,9 ^A n=19	12/63,5±11,0** ^{A1} n=19	5/31,3±11,5** ^{1,2} n=16
TP	12/60,0±10,9** ^B n=20	9/56,3±12,4 ^A n=16	5/30,0±11,8 ¹ n=15

Примечания: * – <0,05; ** – <0,01 – различие между группами статистически достоверно по критерию χ^2 ; ¹ – сравнение с I группой; ^A – сравнение со степенью A; ^B – сравнение со степенью B.

При использовании данной схемы результаты лечения имели достоверное различие, в зависимости от анализируемых критериев – наличия метилирования генов RASSF и GST. Так, наиболее эффективной комбинация CP оказалась у пациентов без эпигенетических нарушений исследуемых генов (частота рецидивов 34,3%). Достоверно худшие результаты при использовании данной схемы получены в группах больных, имеющих метилирование генов RASSF (71,4% рецидивов) и GST (90% рецидивов). То есть при выявлении нарушения функции гена GST использование у больных РЯ комбинации CP нецелесообразно.

Применение у больных РЯ комбинации CAP, также как и при схеме CP, позволило получить достоверно различные результаты лечения. Наибольшая эффективность комбинации CAP достигнута у пациентов без эпигенетических нарушений исследуемых генов (частота рецидивов 31,3%). Наибольшее количество рецидивов диагностировано у пациентов, имеющих метилирование гена RASSF (89,5% случаев рецидивов). В группе больных с наличием эпигенетического нарушения гена GST (63,5% рецидивов) получены промежуточные показатели, которые были достоверно лучше, чем у больных с нарушенной функцией гена RASSF, но в 2 раза хуже (p<0,01), чем у пациентов без эпигенетических нарушений исследуемых генов. Следовательно, применение схемы CAP наиболее обосновано у больных без метилирования генов RASSF и GST и нецелесообразно, если у пациентов диагностировано метилирование гена RASSF.

Анализ результатов лечения при использовании комбинации TP выявил меньшую зависимость, с учетом анализируемых показателей. Тем не менее, в некоторых группах больных частота рецидивирования заболевания отличалась в 2 раза. Так, лучшие результаты получены у больных РЯ, не имеющих метилирование гена RASSF и GST (30% рецидивов), а худшие – у больных с метилированием гена RASSF (60% случаев рецидивов, p<0,05). Частота возникновения рецидивов у больных с наличием эпигенетического нарушения гена GST (56,3% случаев) мало отличалась от пациентов с нарушенной функцией гена RASSF. То есть, полученные данные указывают на необходимость применения комбинации у больных, не имеющих метилирование генов RASSF и GST.

При оценке частоты рецидивирования РЯ в группе больных с нарушенной функцией гена RASSF установлено, что наиболее эффективна комбинация TP, возможно также использование схемы CP. Применение схемы CAP у пациентов, имеющих высокопролиферирующие опухоли, малоэффективно.

Анализ частоты рецидивирования заболевания в группе больных с наличием эпигенетического нарушения гена GST показал наличие 2 наиболее эффективных комбинаций цитостатиков: TP и CAP. Применение схемы CP у данного контингента больных не целесообразно. Вероятнее всего, это связано с отсутствием функции гена GST, наличием в таких случаях резистентных опухолевых клеток.

Для больных РЯ без нарушенных функций генов RASSF и GST использование всех исследуемых комбинаций оказалось достаточно эффективным и мало отличающимся в результатах лечения. То есть, в клинике возможно использование всех 3 исследуемых комбинаций.

Таким образом, проведенный анализ позволил выявить дополнительные критерии, на основании которых можно подобрать комбинацию цитостатиков, оказывающую наибольшую эффективность в пределах существующих стандартов. Так, при метилировании генов RASSF и GST наиболее эффективной оказалась комбинация TP, однако у пациентов данных групп возможно использование и других схем: при эпигенетически нарушенной функции гена RASSF – это схема CP, а гена GST – комбинация CAP. Для больных РЯ без метилирования генов RASSF и GST использование всех исследуемых комбинаций оказалось достаточно эффективным. Вероятно, именно в данной группе больных в качестве препаратов первой линии следует применять наименее дорогостоящие комбинации CP и CAP, а схему TP оставить для использования в качестве терапии 2 линии.

Выводы

1. Проведенный анализ частоты рецидивирования у больных РЯ позволил выявить дополнительные критерии, на основании которых можно подобрать комбинацию цитостатиков в пределах существующих стандартов, которая окажет наибольшую эффективность:

- при метилировании генов RASSF наиболее эффективной оказалась комбинация TP (60% рецидивов) и CP (71,4%);
- при эпигенетическом нарушении функции гена GST наиболее обоснованными комбинациями являются TP (56,3% рецидивов) и CAP (63,5%);

- для больных РЯ без метилирования генов RASSF и GST использование всех исследуемых комбинаций оказалось достаточно эффективным. Следует применять наименее дорогостоящие комбинации CP (34,3% рецидивов) и CAP (31,3%), а схему TP (30%) оставить для использования в качестве терапии 2 линии.

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 / Залетаев Д.В., Немцова М.В., Бочков Н.П. // 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, №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, №4. – P. 250–257.
9. Makarla P.B. Promoter Hypermethylation Profile of Ovarian Epithelial Neoplasms / P.B. Makarla, M.H. Saboorian, R. Ashfaq [et al.] // Clinical Cancer Research – 2005. – Vol. 11, №15. – P. 5365–5369.
10. Lallas A. 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.

Сведения об авторах:

Карташов С.М., д. мед. н., профессор, зав. каф. онкологической гинекологии ХМАПО.

Гагуа М.Н., аспирант каф. онкологической гинекологии ХМАПО.

Адрес для переписки:

Гагуа Михаил Нугзарович, г. Харьков, ул. Корчагинцев, 58, каф. онкологической гинекологии ХМАПО.

Тел.: (095) 612 16 12.

E-mail: m_gagua@mail.ru