

Ферментативные и генетические особенности рака эндометрия разной степени дифференцировки у больных разных возрастных групп

С.М. Карташов¹, Р.И. Мусаев¹, В.С. Сухин²

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования

²ГУ «Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева НАМН Украины», г. Харьков

Биологические свойства (наличие мутации гена p53, экспрессия гена FOXO1 и антигена Ki-67, активность теломеразы) рака эндометрия (РЭ) G1 и G2 коррелируют с возрастным периодом больных (репродуктивным, перименопаузальным и менопаузальным), а для наименее дифференцированных карцином (G3-4) связь биологии опухолей с возрастными особенностями прослеживается слабо. Частота рецидивов РЭ G1 и G2 возрастает с увеличением возраста больных и не зависит от возрастного периода при низко- и недифференцированных карциномах.

Ключевые слова: рак эндометрия, возраст, степень дифференцировки опухоли, гены p53, FOXO1, Ki-67.

В структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в Украине рак эндометрия (РЭ) занимает лидирующие позиции, что связано с изменением биологии и развитием в молодом возрасте [2, 9]. Причины возникновения и особенности течения РЭ у молодых женщин и пациенток, находящихся в менопаузе, имеют значительные отличия, которые обусловлены метаболическими, гормональными и рецепторными особенностями, свойственными каждому возрастному периоду [3, 8]. Это приводит к образованию РЭ, который имеет «возрастные» особенности, что проявляется сначала в биологии опухоли, а затем приобретает и клинические проявления. Все эти вопросы требуют дальнейшего изучения [1, 9].

Как в литературе, так и в клинике, в последнее время большое внимание уделяют значению иммуногистохимических показателей, более полно отражающих функциональное и биохимическое состояние опухолевых клеток [4]. В частности в основе канцерогенеза находятся генетические нарушения, и изучение гена p53, стража генома, является основополагающим при уточнении биологии опухоли [5]. Представляет интерес изучение гена FOXO1, оказывающего антипролиферативное и проапоптотическое действие. Имеются данные и о влиянии данного гена на старение клеток [10].

Пролиферативный индекс служит независимым прогностическим показателем возникновения рецидива и коррелирует с показателем общей и безрецидивной выживаемости при самых разных новообразованиях. В первую очередь к ним относится антиген Ki-67 [4]. Теломеразная активность не проявляется в нормальных клетках и является маркером рака. Известно, что суперэкспрессия каждого из белков p53, E2F, p16, p21 и p15 останавливает клеточный цикл, что сопровождается угнетением теломеразной активности в карциномах [8]. Однако нет единого мнения о критическом прогностическом уровне пролифе-

ративной активности и активности теломеразы при РЭ и их связи с возрастными особенностями течения и прогноза заболевания [4, 5, 8].

Таким образом, исследования биологических особенностей РЭ у больных разного возраста являются актуальными, поскольку позволят обосновать подходы к формированию групп риска, методам диагностики и лечения.

Цель исследования: изучить ферментативные и генетические особенности РЭ разной степени дифференцировки у больных разных возрастных групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы данные 360 больных РЭ I–IV стадии (T1a–3bN0–1M0–1) в возрасте от 28 до 89 лет, которые находились на лечении в ХОКОЦ в период 2008–2012 гг. Во всех исследуемых случаях диагноз был верифицирован морфологически. Распределение больных РЭ в зависимости от степени дифференцировки опухоли и возрастного периода представлено следующим образом: репродуктивный возраст – G1 – 33 (63,5%), G2 – 14 (26,9%), G3–4 – 5 (9,6%) больных; климактерический период – G1 – 43 (41,0%), G2 – 38 (36,2%), G3–4 – 24 (22,8%) больных; менопауза – G1 – 80 (39,4%), G2 – 75 (37,0%), G3–4 – 48 (23,6%) больных соответственно группам. Все больные получили комбинированное или комплексное лечение согласно стандартам, а результаты оценены по частоте возникновения рецидивов за 3-летний период наблюдения.

При гистологическом исследовании определяли тип опухоли, гистологическую структуру и степень дифференцировки. У всех больных в опухолевой ткани определяли наличие мутации гена p53, экспрессию гена FOXO1 и антигена Ki-67, а также активность теломеразы. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) использовали по стандартной схеме при помощи программируемого термоциклера «Терцик-2». Суммарную мРНК выделяли с использованием набора «Выделение полноразмерной поли(А) мРНК на магнитных частицах» НПО «Силекс М».

Полученный в результате исследования цифровой материал обработан общепринятыми методами вариационной статистики с использованием критерия χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Биологические особенности опухоли и частота рецидивов в зависимости от степени дифференцировки опухоли и возрастного периода больных РЭ, представленные в таблице, свидетельствуют, что в репродуктивном возрасте наиболее часто встречаются высокодифференцированные

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

Таблица 1

Биологические особенности опухоли и частота рецидивов в зависимости степени дифференцировки опухоли и возрастного периода больных РЭ

Степень дифференцировки опухоли	Исследуемые показатели		Возрастной период больных			
			1. Репродуктивный, n=52	2. Климактерический, n=105	3. Менопауза, n=203	
G1	ген p53, мутация	Абс. число	3	9	31, ** 1	
		%	9,1	20,9	38,9	
	ген FOXO1, экспрессия	Абс. число	28	36	48, ** 1;2	
		%	84,8	83,7	60,0	
	Теломераза	Абс. число	19	30	61, * 1	
		%	57,6	69,8	76,3	
	Ki-67	%	28,2	45,9 **1	38,4 **1	
	Частота рецидивов	Абс. число	1	2	8	
%		3,0 (n=33)	4,7 (n=43)	10,0 *1;2 (n=80)		
G2	Ген p53, мутация	Абс. число	5	15	36	
		%	35,7	39,5	48,0	
	Ген FOXO1, экспрессия	Абс. число	9	27	39	
		%	64,3	71,0	52,0	
	Теломераза	Абс. число	9	28	62	
		%	59,6	73,3	82,6 * 1	
	Ki-67	%	** G1 49,5	**1; G1 68,2	** G1 57,1	
	Частота рецидивов	Абс. число	1	5	11	
		%	* G1 7,1 (n=14)	**1; G1 13,2 (n=38)	**1 14,7 (n=75)	
	G3-4	Ген p53, мутация	Абс. число	2	12	30
			%	** G1 40,0	** G1 50,0	** G1 62,5
		Ген FOXO1, экспрессия	Абс. число	2	10	15
%			** G1 40,0	** G1;G2 41,6	** G1;G2 31,2	
Теломераза		Абс. число	3	19	43	
		%	60,0	79,2	87,5	
Ki 67, %		—	** G1 58,9	**G1 77,8	*G2; **G1 68,6	
Частота рецидивов		Абс. число	2	8	20	
		%	* G1; G2 40,0 (n=5)	* G1; G2 33,3 (n=24)	* G1; G2 41,7 (n=48)	

Примечание: * p<0,05; ** p<0,01 различие статистически достоверно по критерию χ^2 ; 1, 2, 3 – возрастные периоды; G1; G2; G3-4 – степень дифференцировки опухоли..

опухоли (63,5% случаев), в то время как период перименопаузы (41,0%) и менопаузы (39,4%) доля опухолей G1 уменьшается и составляет менее половины случаев.

Оценивая биологические особенности G1-опухоли больных РЭ в репродуктивном возрасте следует отметить редко встречающиеся мутации гена p53 (9,1% случаев) и наличие экспрессии гена FOXP1 у абсолютного большинства больных (84,8%). При этом активность теломеразы в опухолевых клетках была отмечена лишь у каждой второй больной (57,6%). Пролiferативный пул G1 РЭ был невысоким и составил 28,2%. Количество рецидивов было незначительным и составило 3,0% случаев.

У больных в перименопаузе выявлены определенные характерные биологические особенности G1-опухоли. В частности, по сравнению с новообразованиями у больных репродуктивного возраста установлен двукратный рост частоты мутаций гена p53, хотя следует отметить, что у абсолютного большинства больных исследуемой группы мутаций данного гена не выявлено (79,1%). При этом активность теломеразы возросла незначительно ($p > 0,05$), а экспрессия гена FOXP1 была такой же, как у пациенток репродуктивного возраста. Наибольшее отличие РЭ у больных в перименопаузе было выявлено по росту антигена Ki-67. Пролiferативный пул клеток достоверно возрос и составил 45,9%. Количество случаев рецидива РЭ в данной группе было небольшим – 4,7% случаев.

Биологические особенности G1 РЭ больных, находящихся в менопаузе, имели наибольшие отличия от двух ранее анализируемых групп больных. Так, у пациенток данной возрастной категории достоверно чаще отмечали мутации гена p53, а экспрессию гена FOXP1 – достоверно реже. Активность теломеразы была выше, чем у молодых пациенток, но не имела принципиального отличия от аналогичного показателя больных РЭ, находящихся в перименопаузе.

Несмотря на большую частоту генетических нарушений, в частности по генам p53 и FOXP1, и несколько большую активность теломеразы у больных, находящихся в менопаузе, Ki-67, в сравнении с пациентами перименопаузы, не возрос, но была значительно выше, чем у больных репродуктивного возраста. Частота рецидивов в анализируемой группе больных была наибольшей и составила 10,0%.

Анализируя биологические особенности опухоли и частоту рецидивов заболевания при РЭ G2 у пациенток репродуктивного возраста следует отметить четкую тенденцию в увеличении количества мутаций гена p53 (с 9,1% до 35,7%), снижение экспрессии гена FOXP1 (с 84,8% до 64,3%, $p > 0,05$) и достоверное увеличение пролиферативной активности опухоли (с 28,2% до 49,5%, $p < 0,01$). При этом активность теломеразы в опухолях G1 и G2 у больных репродуктивного возраста практически не изменилась. Однако произошедшие биологические изменения свойств РЭ G2 имели и клинические проявления – частота рецидивов в данной группе возросла с 3,0% до 7,1% случаев ($p < 0,05$).

У больных в перименопаузе отмечены аналогичные тенденции при сопоставлении анализируемых биологических критериев в опухолях G1 и G2. Из достоверных различий следует отметить увеличение пролиферативного пула с 45,9% до 68,2% и увеличение количества рецидивов заболевания с 4,7% до 13,2%. При анализе показателей в G2-опухолях у больных разных возрастных периодов – репродуктивного и перименопаузы – принципиальные отличия были отмечены по содержанию антигена Ki-67 (45,9% и 68,2%, $p < 0,01$ соответственно группам). Достоверно отличался и клинический показатель – частота рецидивов, которая была выше у больных в перименопаузе (13,2% в сравнении с 7,1%).

Особенности G2-форм РЭ у больных, находящихся в менопаузе, были нами отмечены как в сравнении с новообразованиями G1 у пациентов аналогичной возрастной группы (достоверное увеличение пролиферативного пула клеток на фоне четкой тенденции к увеличению количества мутаций гена p53, снижения экспрессии гена FOXP1). В то же время активность теломеразы практически не изменилась. При сопоставлении показателей в G2-опухолях у больных разных возрастных периодов следует отметить, что у больных старшей возрастной группы, как и при высокодифференцированных формах РЭ, чаще отмечали сниженную экспрессию гена FOXP1 ($p > 0,05$), повышенную активность теломеразы ($p < 0,05$, в сравнении с репродуктивным периодом), повышенную пролиферативную активность ($p > 0,05$). Причем следует отметить, что указанные выше отличия в биологических показателях имели отличие только от РЭ у пациенток репродуктивного возраста, а в сравнении с новообразованиями больных в перименопаузе анализируемые критерии практически не отличались. Аналогичная зависимость прослеживается и по частоте рецидивов, которых в перименопаузе и менопаузе было больше, чем у больных репродуктивного возраста, но не было отличий между собой.

Оценивая биологические особенности G3–4-опухолей больных РЭ в разных возрастных группах нами отмечены принципиальные отличия от РЭ G1 по частоте мутаций гена p53, которая возросла. Еще большие отличия были характерны для экспрессии гена FOXP1 и показателя Ki-67, которые только у больных репродуктивного возраста достоверно отличались от аналогичного показателя опухолей G1, а для пациентов в перименопаузе и менопаузе отличия были выявлены и с новообразованиями G2. Наименьшие изменения выявлены только по активности теломеразы, которая по мере снижения степени дифференцировки опухолевых клеток имела тенденцию к незначительному росту во всех анализируемых возрастных группах. Выявленные биологические изменения РЭ G3–4 проявились клинически увеличением количества рецидивов заболевания в сравнении с пациентками, имеющими карциномы G1 и G2.

При сопоставлении биологических особенностей G3–4-опухолей у больных РЭ следует отметить рост частоты мутаций гена p53, снижение экспрессии гена FOXP1, увеличение активности теломеразы и пролиферативного пула клеток происходит по мере увеличения возраста пациентов. Однако все указанные изменения для опухолей с наименьшей степенью дифференцировки клеток прослеживались в виде слабо выраженной тенденции. Клинически частота рецидивов РЭ также не зависела от возраста пациентов и оказалась одинаковой для больных репродуктивного и менопаузального возраста и несколько меньшей ($p > 0,05$) у пациенток в перименопаузе.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют, что биологические особенности РЭ имеют четкую связь как со степенью дифференцировки опухолевых клеток, так и с возрастными особенностями пациентов. Причем наибольшая зависимость изучаемых параметров, характеризующих биологию новообразования, от возрастных периодов нами отмечена для опухолей G1 и G2, а для наименее дифференцированных форм РЭ (G3–4) связь биологии опухоли с возрастными периодами прослеживается слабо, что подтверждается клиническими особенностями. Так, влияние возрастных особенностей на частоту рецидивов РЭ, которая четко прослеживается при высоко- и умереннодифференцированных формах РЭ, при низко- и недифференцированных карциномах нивелируется. Полученные нами данные могут быть

объяснены, с нашей точки зрения, следующими особенностями. Так, опухоли G1 и в меньшей степени G2 возникают чаще на фоне предшествующих гиперпластических процессов эндометрия, при которых происходит медленная селекция клонов клеток с нарушенными свойствами [3, 7]. Эта селекция возможна, прежде всего, при наличии дефектов в основных системах, контролирующих целостность гено типа клетки. А это в первую очередь ген p53 и в меньшей степени ген FOXO1. Этот контроль осуществляется как путем остановки клеточного цикла с целью репарации поврежденных участков ДНК, так и путем апоптоза клетки [5, 9]. Именно эти гены, по нашим данным, коррелируют с возрастными периодами женщин. Аналогичная зависимость прослеживается и для фермента теломеразы и пролиферативной активности опухолевых клеток. В результате меньшего количества генетических нарушений и меньшей автономности G1-опухолей в целом возрастные особенности – гормональные, иммунологические, ферментативные – оказывают большее влияние на течение заболевания, что проявляется меньшим количеством рецидивов у больных репродуктивного возраста. РЭ G3–4 отличается высокой степенью анаплазии клеток с потерей рецепторного аппарата и значительным изменением ферментативной системы клеток и большим количеством генетических нарушений [1, 6]. На этом фоне роль нескольких генов и ферментов, даже тех которые осуществляют важнейшие функции в здоровых клетках, мало влияет на биологию раковой клетки и опухоли в целом. Именно эти факторы, с нашей точки зрения, являются основными, потому что не прослеживается связь между анализируемыми нами показателями.

Выводы

1. При РЭ G1 и G2 биологические свойства опухоли коррелируют с возрастным периодом больных – репродуктивным, климактерическим и менопаузальным, а для наименее дифференцированных форм РЭ (G3-4) связь биологии опухоли с возрастными особенностями прослеживается слабо.

2. У больных репродуктивного возраста карциномы эндометрия G1 и G2 отличаются невысокой частотой нарушений функции генов p53 и FOXO1, умеренной активностью теломеразы и низкой пролиферативной активностью опухолевых клеток.

3. У больных в период климактерия, в отличие от пациентов репродуктивного возраста, достоверно возрастает

пролиферативный пул опухолевых клеток и имеется четкая тенденция к повышению активности теломеразы, а частота мутаций гена p53 и экспрессия гена FOXO1 не имеют принципиального отличия.

4. Больные РЭ G1 и G2 в период менопаузы отличаются высокой частотой мутации гена p53, сниженной экспрессией гена FOXO1, повышенной активностью теломеразы и высокой пролиферативной активностью опухолевых клеток, причем принципиальное отличие выявлено с показателями пациентов репродуктивного возраста и в меньшей степени с больными в период перименопаузы.

5. Частота рецидивов РЭ G1 и G2 возрастает с увеличением возраста больных и не зависит от возрастного периода при низко- и недифференцированных карциномах.

Ферментативні та генетичні особливості раку ендометрія різного ступеня диференціювання у хворих різних вікових груп

С.М. Карташов, Р.І. Мусаєв, В.С. Сухін

Біологічні властивості (наявність мутації гена p53, експресія гена FOXO1 та антигену Ki-67, активність теломеразы) раку ендометрія (РЕ) G1 і G2 корелюють з віковим періодом хворих (репродуктивним, перименопаузальним і менопаузальним), а для найменш диференційованих карцином (G3-4) зв'язок біології пухлини з віковими особливостями простежується слабо. Частота рецидивів РЕ G1 і G2 зростає зі збільшенням віку хворих і не залежить від вікового періоду при низько- та недиференційованих карциномах.

Ключові слова: рак ендометрія, вік, ступінь диференціювання пухлини; гени p53, FOXO1, Ki-67.

Enzymatic and genetic features of endometrial cancer of different tumor grade in patients of different age groups

S.M. Kartashov, R.I. Musayev, V.S. Sukhin

Biological properties (the presence of mutations in p53 gene, expression of gene FOXO1 and antigen Ki-67, telomerase activity) of endometrial cancer (EC) grade G1 and G2 correlate with patients age period (reproductive, perimenopausal and menopausal), and for the low grade carcinomas (G3-4) the relation of tumor biology with age period is weak. The relapse-rate of G1 and G2 increases with the senior age of patients, and does not depend on the age period at low – and nondifferentiated carcinomas.

Key words: endometrial cancer, age, tumor grade, genes p53, FOXO1, Ki-67.

Сведения об авторах

Карташов Сергей Михайлович – Харьковская медицинская академия последипломного образования, 61135, г. Харьков, ул. Героев Широнинцев, 59, кв. 220; тел.: (096) 368-83-54

Мусаев Рамин Исмихан-Оглы – Харьковская медицинская академия последипломного образования, 61135, г. Харьков, ул. Героев Широнинцев, 59

Сухин Владислав Сергеевич – ГУ «Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева НАМН Украины», 61024, г. Харьков, ул. Пушкинская, 82; тел.: (067) 573-37-84

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Казубская Т.П. Генетические основы этиологической гетерогенности злокачественных новообразований / Дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2010. – 36 с.
2. Седаков І.Є. Щодо проблем онкологічної служби України / І.Є. Седаков //Новоутворення. – 2011. – № 2 (8). – С. 3–9.
3. Серов В.Н. Гинекологическая эндокринология. / Серов В.Н., Прилепская В.Н., Пшеничникова Т.Я. – М.: Медицина, 2008. – 178 с.

4. Мельник М.М. Клініко-морфологічне значення імуногістохімічних маркерів при предпухлинних процесах та раку ендометрія / Воробійова Л.І., Неспрядько С.В., Пустоваров С.Ю. // Здоровье женщины. – 2011. – № 3 (59). – С. 213–215.
5. Чехун В.Ф. Функціональний онкогеном – основа сучасної діагностики та нової стратегії протипухлинної терапії / В.Ф. Чехун // Онкологія. – 2003. – № 2 (8). – С. 96–101.

6. Delmonte A., Sessa C. Molecule – targeted agents in endometrial cancer // Curr. Opin. Oncol. – 2008. – Vol. 20. – P. 554–559
7. Goto T., Takano M., Albergaria A., et al. Mechanism and functional consequences of loss of FOXO1 expression in endometrioid endometrial cancer cells. Oncogene 2008;27:9–19.
8. Pertynski T. Telomerase expression and activity in endometrial cancer /

K. Wozniak, H. Romanovicz, A. Czechowka // Experiment. onkol. – 2002. – № 24. – P. 265–269.
9. Sorosky J.I. Endometrial cancer // Obstet Gynecol. – 2008. – Vol. 111. – P. 436–447.
10. Ward E.C., Hoekstra A.V., Blok L.J., et al. The regulation and function of the forkhead transcription factor, Forkhead box O1, is dependent on the progesterone receptor in endometrial carcinoma. Endocrinology 2008;149:1942–50.

Статья поступила в редакцию 10.07.2013