Перспективы ранней диагностики рака эндометрия и яичников

О.Ю.Игнатченко¹, Л.А.Озолия¹, А.В.Финковская¹, Л.И.Патрушев², Т.Ф.Коваленко², К.И.Жордания³

¹Российский государственный медицинский университет, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой – проф. О.В.Макаров);

²Лаборатория биотехнологии Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва (зав. лабораторией – акад. РАН, проф. А.И.Миросшников);

³Отделение онкогинекологии Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва (директор – акад. РАН проф. М.И.Давыдов)

Обследованы 100 пациенток: у 30 был рак эндометрия, у 30 – гиперпластические процессы в эндометрии, у 20 – рак яичников, у 20 – доброкачественные опухоли яичников, а также 20 здоровых женщин (контрольная группа) для выявления мутаций в промоторной области антионкогена *PTEN*. Обнаружено, что у больных раком эндометрия мутации выявляются в 57% случаев, при гиперплазии эндометрия – в 40%, при раке яичников – в 40%, при доброкачественных опухолях яичников – в 20% случаев; в контрольной группе ни у одной пациентки мутации не были выявлены. Данный участок генома в большей степени можно рассматривать в качестве перспективного генетического маркера рака эндометрия, чем рака яичников. Результаты данного исследования можно использовать для формирования групп риска возникновения злокачественной патологии эндометрия.

Ключевые слова: рак эндометрия, гиперпластические процессы эндометрия, рак яичников, доброкачественные опухоли яичников, мутация в промоторной области антионкогена *PTEN*

Prospects of early diagnosis of endometrial and ovarian carcinoma

O.Yu.Ignatchenko¹, L.A.Ozolinya¹, A.V.Finkovskaya¹, L.I.Patrushev², T.F.Kovalenko², K.I.Zhordania³

¹Russian State Medical University, Department of Obstetrics and Gynecology of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department – Prof. O.V.Makarov);

²Institute of Bioorganic Chemistry named after M.M.Shemyakin and Yu.A.Ovchinnikov, Laboratory of Biotechnologies, Russian Academy of Sciences, Moscow (Head of the Laboratory – Acad. of RAS A.I.Miroshnichenko);

³Russian Oncology Research Center named after N.N.Blokhin, Department of Oncogynecology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow (Director – Acad. of RAS M.I.Davydov)

100 patients with endometrial carcinoma (n = 30), endometrial hyperplasia (n = 30), ovarian carcinoma (n = 20), benign ovarian tumors (n = 20) and 20 healthy females (the control group) were studied to detect mutations in the promotor region of the antioncogen *PTEN*. Mutations were found in 57% of the cases of endometrial carcinoma, in 40% of the cases of endometrial hyperplasia, in 40% in ovarian carcinoma, and in 20% in benign ovarian tumors. They were absent in the control group. This area of genome may be to the greater extent considered as a promising genetic marker of carcinoma of the endometrium than that of the ovaries. The results of this study may be used for the formation of endometrial carcinoma risk groups.

Keywords: endometrial carcinoma, endometrial hyperplasia, ovarian carcinoma, benign ovarian tumors, mutations in promotor region of the antigen *PTEN*

Рак эндометрия (РЭ) занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости женского населения развитых стран мира. Последнее время в России, так же как и в экономически развитых странах Европы и Северной Амери-

ки, имеется тенденция к снижению заболеваемости раком шейки матки и росту числа злокачественных опухолей молочной железы, тела матки и яичников. Так, в 2000 г. в России РЭ занял первое место, составляя 18,8 новых случаев на 100 000 населения [1]. Анализ проблемы показывает, что в перспективе нельзя ожидать существенных сдвигов в снижении смертности от рака эндометрия и яичников только за счет совершенствования методов лечения [2]. В связи с этим вопросы этиологии, патогенеза, уточняющего диагноза, дифференциальной диагностики предрака и рака эндометрия и яичников вызывают постоянный интерес с самых разных позиций изучения проблемы. Для диагностики патологи-

Для корреспонденции:

Игнатченко Ольга Юрьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Российского государственного медицинского университета

Адрес: 113152, Москва, Загородное шоссе, 18а. Городская клиническая больница №55, 8-й корпус, 2-е гинекологическое отделение
Телефон: (495) 952-9661
E-mail: olgalyon@yandex.ru

Статья поступила 02.02.2009 г., принята к печати 08.04.2009 г.

ческих процессов в эндометрии, выбора метода лечения и определения дальнейшего прогноза в настоящее время используется в основном гистологический метод исследования. Однако расхождения мнений патологоанатомов при оценке атипичической гиперплазии и рака эндометрия составляют 11–25% случаев [3]. Рак яичников (РЯ) в 95% случаев развивается на фоне доброкачественных опухолей, но предсказать злокачественное перерождение для конкретной пациентки в настоящее время не представляется возможным [2]. В связи с этим поиски более достоверных диагностических критериев продолжаются.

Одной из задач современной онкологии является поиск генетических маркеров онкологических заболеваний, позволяющих не только распознавать опухолевый процесс, но и выявлять пациентов, предрасположенных к возникновению злокачественных новообразований [4–6]. Исследования, проведенные в последние годы, показывают, что в основе злокачественного перерождения клеток и развития опухолей лежат мутационные повреждения генов, контролирующего рост, пролиферацию, дифференцировку и апоптоз соматических клеток [5–7]. Значительный прогресс в понимании механизмов канцерогенеза связан с открытием сначала онкогенов, а затем опухолевых супрессоров. Онкогены – это клеточные или вирусные (вносимые вирусом в клетку) гены, активация которых может привести к развитию новообразований. Опухолевые супрессоры (антионкогены, рецессивные опухолевые гены) – клеточные гены, инактивация которых резко увеличивает вероятность возникновения новообразований, а восстановление функции, наоборот, может подавить рост опухолевых клеток.

Два последних десятилетия характеризовались открытием новых онкогенов и опухолевых супрессоров. К настоящему времени известны около сотни потенциальных онкогенов (клеточных и вирусных) и около двадцати опухолевых супрессоров. Были описаны генетические события, приводящие к активации протоонкогенов или инактивации опухолевых супрессоров [8, 9].

Промоторная область антионкогена *PTEN* выполняет регуляторную функцию. Этот ген был открыт в 1997 г. Он расположен на участке хромосомы *10q23* [8, 9]. Белок, кодируемый этим геном, подавляет развитие опухолей и препятствует возникновению рака. В клетках с инактивированным геном *PTEN* наблюдается стимуляция клеточной пролиферации. Многочисленные данные такого рода указывают на важную роль гена *PTEN* в регуляции трансформации клеток, инициации и прогрессии роста опухолей, а также их метастазирования. Большинство мутаций, обнаруженных в гене *PTEN*, затрагивают кодирующую часть гена и приводят к образованию белка со сниженной активностью [10, 11]. Однако другим механизмом, вызывающим полное подавление функции гена, может быть инактивация его регуляторных элементов, обеспечивающих транскрипцию, точная локализация которых в настоящее время неизвестна.

Целью работы явилось изучение промоторной области антионкогена *PTEN* при доброкачественных и злокачественных заболеваниях эндометрия и яичников для обнаружения возможного нового генетического маркера рака и формирования групп риска по данным заболеваниям.

Пациенты и методы

Были обследованы 100 пациенток: у 30 диагностирован рак эндометрия, у 30 – гиперпластические процессы эндометрия (ГПЭ), у 20 – рак яичников, у 20 – доброкачественные опухоли яичников (ОЯ); 20 здоровых женщин составили контрольную группу (ткань эндометрия забиралась во время выскабливания стенок полости матки при медицинском аборте).

Работа состояла из двух этапов. Первый из них проводился на базах кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета РГМУ, Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина и заключался в обследовании больных, тщательном сборе анамнеза с учетом отягощенной наследственности и факторов риска развития новообразований эндометрия и яичников. Производился забор материала: биопсия эндометрия и яичников во время операции и венозной крови у этих же больных.

Второй этап работы проходил в лаборатории биотехнологии, группе анализа и коррекции генома Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова и состоял в выделении ДНК по стандартной методике, проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) и электрофореза в агарозном геле.

Результаты исследования и их обсуждение

При изучении распределения показателя наличия мутаций в исследуемой области М (+) у 30 больных РЭ они были выявлены в 17 (57%) наблюдениях. В то же время при ГПЭ мутации определялись у 12 (40%) из 30 больных. В контрольной группе из 20 здоровых женщин мутации не были выявлены ни в одном из случаев. Как показали данные анамнеза, большинство пациенток как с РЭ, так и с ГПЭ были в периоде постменопаузы: 26 (87%) и 16 (53%) больных соответственно. В группе больных с ГПЭ наибольшее число случаев заболевания пришлось на более молодой возраст пациенток в отличие от больных РЭ: $54,2 \pm 3,0$ и $62,8 \pm 2,2$ года соответственно.

Известно, что с возрастом частота спонтанных мутаций возрастает, поэтому можно предположить, что показатель М (+) должен увеличиваться по мере увеличения возраста пациенток, свидетельствуя о риске возникновения РЭ. Однако, по данным нашего исследования, наоборот, с увеличением возраста отмечалось снижение частоты М (+) в различных возрастных категориях с 78 до 45%. Средний возраст больных с М (+)-фенотипом составил $60,5 \pm 4,1$ года, тогда как у пациенток с М (-)-фенотипом он был выше ($62,1 \pm 3,9$ года). Аналогичная тенденция прослеживается и при ГПЭ: возраст пациенток с наличием и отсутствием мутаций был различным и составил в среднем $50,6 \pm 10,2$ и $57,1 \pm 4,4$ года соответственно. Мутации преимущественно обнаруживались у женщин в возрасте 40–55 лет (83%).

Таким образом, еще на этапе распределения пациенток по возрастному признаку можно предположить, что наличие мутаций в исследуемой области генома в большей степени характерно для пациенток более молодого возраста. По-видимому, в более старших возрастных группах в процесс канцерогенеза вовлекаются другие факторы, в том числе онкогены и опухолевые супрессоры. Больше число наблюдений рака и гиперпластических процессов в эндометрии в нашем исследовании, не-

зависимо от показателя М (+/–), относилось к первому (гормон-зависимому) патогенетическому варианту: 20 (67%) и 17 (57%) соответственно. Морфологическим подтверждением принадлежности к гормонзависимому патогенетическому варианту являлась гиперплазия стромы яичников в сочетании с феминизирующими опухолями яичников (текома, фиброма, гранулезоклеточная опухоль), причем достоверно чаще у пациенток с РЭ (20%), чем с ГПЭ (3,3%) ($p < 0,05$). Гиперпластические процессы в эндометрии в анамнезе, как и миома матки, свидетельствующие о гормональном дисбалансе в организме, выявлялись у больных раком эндометрия в 6 (20%) и 14 (47%), при рецидиве ГПЭ – соответственно в 12 (40%) и 12 (40%) случаях.

Эндокринные нарушения при раке и гиперпластических процессах в эндометрии проявлялись соответственно в 15 (50%) и 10 (33%) наблюдениях с ожирением и в 5 (17%) и 3 (10%) – сахарным диабетом. Первый (гормонзависимый) вариант преобладал у больных с М (+)-фенотипом как при РЭ, так и при ГПЭ: 11 (55%) и 9 (53%) случаев соответственно. Последнее может свидетельствовать об общности их не только патогенетических, но и молекулярно-генетических механизмов. Также на основании этого можно предположить, что наличие мутаций в промоторной области антионкогена *PTEN* в клетках РЭ может предопределять менее тяжелое клиническое течение заболевания, характерное для первого патогенетического варианта РЭ.

Анамнестические данные свидетельствуют об отягощенной наследственности по раку органов репродуктивной системы у 20% пациенток с РЭ и у 13% с ГПЭ. Причем у одной пациентки с ГПЭ и отягощенной наследственностью (РЭ по материнской линии) у матери пациентки мутации обнаруживались не только в ткани эндометрия, но и в клетках крови, что может подтверждать отягощенную онкологическую наследственность. Полученные нами данные согласуются с общепринятой теорией о роли наследственного фактора в генезе развития гиперплазии и злокачественных заболеваний эндометрия.

При изучении особенностей менструальной функции было выявлено, что раннее или позднее наступление менархе (до 12 и после 16 лет) и в дальнейшем нерегулярность менструальной функции наблюдались достоверно чаще у пациенток с РЭ (40%), чем при ГПЭ (20%) ($p < 0,05$).

Средний возраст наступления менопаузы существенно не различался в двух группах и составил $50,6 \pm 0,8$ года. Ретроспективный анализ детородной функции показал, что среднее число беременностей на одну женщину при РЭ равнялось $2,1 \pm 0,5$. Вместе с тем у больных с ГПЭ этот показатель составил $4,3 \pm 0,6$ ($p < 0,05$). Менее половины беременностей у 33 (47%) из 65 пациенток с РЭ закончились родами, число которых на одну женщину в среднем составило $1,1 \pm 0,2$. Среди пациенток с ГПЭ преобладали женщины, имевшие в анамнезе большее число родов – в среднем $1,8 \pm 0,4$ и достоверно большее число аборт – $3,1 \pm 0,6$ и $1,6 \pm 0,4$ соответственно ($p < 0,05$).

При анализе клинической картины заболевания в изучаемых группах больных раком и пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия нами не были отмечены специфические симптомы, которые позволили бы проводить дифференциальную диагностику этих заболеваний. Нарушения менструального цикла и маточные кровотечения являлись основными клиническими проявлениями заболева-

ний. Отсутствие клинических симптомов не было зарегистрировано ни у одной пациентки.

На этапах формирования групп риска возникновения фоновых заболеваний приоритетное положение отводится дисгормональным, наследственным и, возможно, генетическим механизмам, природу которых еще предстоит изучить. Выявив М (+) как при раке, так и при гиперпластических процессах в эндометрии, наше исследование показало, что данный участок генома можно рассматривать в качестве перспективного маркера злокачественной трансформации ткани эндометрия. Это еще раз доказывает, что злокачественные новообразования, как правило, развиваются поэтапно, на фоне ряда предшествующих изменений. Однако этот показатель дестабилизации генома встречался в 57% случаев при РЭ и в 40% – при ГПЭ. В остальных случаях канцерогенез, по-видимому, обусловлен вовлечением других генетических механизмов.

Как показало наше исследование, явление М (+) не было обнаружено ни в одном случае при простой гиперплазии в отличие от такового при полипах эндометрия: 9 случаев М (+) (2 полипа с атипией, 7 – без атипии). На основании этого можно сделать вывод об относительной автономности полипов и их возможной роли в канцерогенезе. Как свидетельствуют результаты проведенного нами исследования, все 3 диагностированных случая высококодифференцированной аденокарциномы эндометрия на фоне комплексной гиперплазии с атипией демонстрировали М (+)-фенотип. Подобных изменений при М (–)-фенотипе РЭ выявлено не было. На наш взгляд, наблюдаемые эффекты могут быть вызваны либо трудностью морфологической дифференциальной диагностики предрака и высококодифференцированного РЭ, либо отражать этапы эволюционной трансформации эндометриальных неоплазий. В наиболее частой разновидности РЭ – аденокарциноме – мутации в исследуемом локусе наблюдались в 15 (88%) случаях этого типа рака. Достоверные результаты были получены при сопоставлении клинико-морфологических параметров, характеризующих агрессивность опухолевого роста, с наличием мутаций в исследуемой области. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что частота выявления М (+)-фенотипа уменьшается по мере снижения дифференцировки опухоли. Уровень выявления М (+) достигал своего наименьшего значения в случаях низкодифференцированных новообразований (10%) в отличие от высококодифференцированных (47%) и умеренно дифференцированных карцином (43%). По нашим данным, показатель М (+) коррелировал не только со степенью дифференцировки опухоли, но и с глубиной ее инвазии в миометрий. Так, в подгруппе больных с М (+) новообразованиями достоверно преобладали карциномы с поверхностной инвазией в миометрий или вообще ограниченные пределами слизистой оболочки матки – 12 из 17 (73%). И, наоборот, в М (–) опухолях, независимо от степени их гистологической дифференцировки, чаще выявлялась глубокая инвазия в миометрий – в 8 случаях (62%). В нашем исследовании выявлена корреляция между размерами опухоли и показателем М (+) в ее клетках. При М (+)-фенотипе число опухолей с поражением всего тела матки и число новообразований, ограниченных дном и верхними 2/3 тела матки, были приблизительно равными – 7 (41%) и 9 (53%), соответственно. В случаях М (–) новообразований частота поражения всего тела матки была приблизительно такой же, как при М (+) опухолях: 6 и 7 наблюдений, а распространен-

ние опухоли на шейку матки отмечалось значительно чаще при М (-)-фенотипе: в 5 случаях (1 случай при М (+) опухолях).

Подводя общие итоги проведенного исследования, можно заключить, что выявляемые генетические изменения в промоторной области антионкогена *PTEN* в клетках эндометрия ответственны за такие клинико-морфологические свойства опухоли, как степень дифференцировки, локализация, инвазивность, а значит, и за потенцию к метастазированию. При изучении распределения показателя наличия мутаций в исследуемой области у 20 больных раком яичников мутации были выявлены в 8 (40%) наблюдениях. В то же время при доброкачественных опухолях яичников мутации определялись у 4 (20%) больных.

У 6 больных РЯ III стадии, помимо ткани яичника, была исследована и ткань большого сальника. В то время как у всех 6 больных были выявлены мутации в ткани яичника, ни в одном образце ткани сальника мутации не выявлялись. При подтверждении данного явления на большем количестве образцов можно будет связать происхождение метастазов с другими генетическими механизмами, нежели у первичной опухоли.

По данным анамнеза была определена отягощенная наследственность у 6 больных РЯ и ОЯ, причем у всех из них были выявлены мутации в ткани яичника и у одной пациентки еще и в клетках крови. По данным о перенесенных заболеваниях и сведениях гинекологического анамнеза группы больных РЯ и ОЯ были сопоставимы. В группе пациенток с РЯ отмечается тенденция увеличения до 35% числа к возрастному промежутку от 56 до 65 лет (в среднем $57,1 \pm 4,5$ года), в то время как в группе с ОЯ средний возраст больных существенно ниже – $40,4 \pm 5,7$ года. Положительный М (+)-фенотип характерен, по нашим данным, для пациенток более старшего возраста как при РЯ, так и при ОЯ: $59,3 \pm 4,1$ и $53,0 \pm 2,2$ года соответственно. М (-)-фенотип наблюдался у больных, средний возраст которых составил $55,1 \pm 3,9$ года при РЯ и $42,5 \pm 3,4$ года при ОЯ. Несмотря на большое количество больных РЯ с III стадией заболевания – 17 из 20 (85%) случаев, показатель М (+) выявлялся не только у 6 больных с III стадией, но и у единственной больной со II стадией и у одной – с IV стадией.

При анализе гистологической структуры опухоли нами были получены следующие данные: в 95% случаев РЯ определяли как аденокарциному и в 5% – как метастаз рака желудка; среди ОЯ эпителиальные опухоли встречались в 75% случаев, 5% составила зрелая тератома и 20% – опухолевидные образования (киста желтого тела, фолликулярные и параовариальные кисты). При распределении показателя М (+) при РЯ все 8 случаев М (+) положительного фенотипа были представлены аденокарциномой, причем чаще ее папиллярной муцинозной формой (37,5%). Интересно, что для ОЯ мутации определялись только в случаях эпителиальных опухолей (4). Полученные нами результаты соответствуют данным литературы о более частом озлокачествлении папиллярных и муцинозных эпителиальных опухолей [1].

Обнаружение мутаций в промоторной области антионкогена *PTEN* более характерно, по нашим данным, для РЭ (57%), нежели для РЯ (40%). Тем не менее, принимая во внимание простоту методики забора материала во время операций по поводу доброкачественных (фоновых) процессов и быстрое получение результатов исследования, выявление мутаций в данной области генома можно использовать для

оценки вероятности злокачественного перерождения клеток, что позволит формировать группы риска развития как РЭ, так и РЯ. Необходимо иметь в виду, что, хотя сам факт наличия обнаруженных нами генетических изменений в промоторной области антионкогена *PTEN* не вызывает сомнений, молекулярный механизм, лежащий в основе этих изменений, пока остается непонятным и требует дальнейшего изучения. Поэтому использованный нами термин «мутации» необходимо понимать в более широком смысле, чем это принято в литературе. Хотя наиболее вероятным механизмом обнаруженных нами изменений гена *PTEN* при раке и ГПЭ могут быть изменения первичной структуры ДНК (последовательности ее нуклеотидов), т.е. истинные мутации.

Таким образом, в схему обследования больных с доброкачественными опухолями яичников или гиперпластическими процессами в эндометрии целесообразно включать определение показателя наличия мутаций в промоторной области антионкогена *PTEN*. При обнаружении у этих больных положительного М (+)-фенотипа можно формировать группы риска развития злокачественных новообразований эндометрия и яичников, что потребует проведения профилактических осмотров, динамики цитологических и гистологических исследований, а в некоторых случаях – решения вопроса о своевременном оперативном лечении.

Литература

1. Погосян Н.П., Жордания К.И. //Совр. онкол. – 2002. – Т.4. – №2. – С.41–48.
2. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии. – СПб., 2002.
3. Maxwell G.L., Risinger J.I. et al. // Clin. Cancer Res. – 2000. – №6. – P.299.
4. Baidinu P., Cossu A. et al. // Cancer. – 2002. – V.94. – №12. – P.3157–3168.
5. Cheryl C.G., Mark G.F., Lan K. // Cancer Res. – 1999. – №59. – P.426–466.
6. Risinger J.I., Hayes A.K. et al. // Cancer Res. – 1997. – V.57. – №21. – P.4736–38.
7. Dowries C.P., Bennet D. et al. // Biochem. Soc. Transact. – 2001. – №29. – P. 235–244.
8. Yoshinaga K., Sasano H. et al. // Japan J. Cancer Res. – 1998. – V.89. – №10. – P.985–90.
9. Maxwell G.L., Rismger J.I. et al. // Int. J. Gynec. Cancer. – 1998. – №8. – P.489–93.
10. Mutter G.L., Lin M.C. et al. // J. Nat. Cancer Inst. – 2000. – V.92. – №11. – P.924–930.
11. Nielson A.L., Nyholm H.C. // Am. J. Clin. Pathol. – 1994. – №102. – P.76–79.

Информация об авторах:

Озолина Людмила Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета РГМУ
Адрес: 113152, Москва, Загородное шоссе, 18а, 8-й корп.
Городская клиническая больница №55, 2-е гинекологическое отделение
Телефон: (495) 952-9661
E-mail: ozolina@yandex.ru

Финковская Анна Владимировна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета РГМУ
Адрес: 113152, Москва, Загородное ш., 18а
Телефон: (495) 952-9661

Патрушев Лев Иванович, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией биотехнологии Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
Адрес: 117871, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
Телефон: (495) 429-8610

Коваленко Татьяна Федоровна, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
Адрес: 117871, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
Телефон: (495) 429-8610

Жордания Кирилл Иосифович, доктор медицинских наук, профессор отделения онкогинекологии Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24
Телефон: (495) 324-9825