

РОЛЬ ПРОТЕОМІЧНИХ ТА ГЕНЕТИЧНИХ ПРЕДИКТОРІВ ВИЖИВАНОСТІ ХВОРИХ НА РАК ЯЄЧНИКА



А.І. Рибін

Адреса:
Рибін Андрій Ігорович
65023, Одеса, пров. Валіховський, 2
Одеський національний медичний університет
Тел.: (048) 720-26-17
E-mail: Andriy.Rybin@gmail.com

У статті проведено порівняльний аналіз протеомічних та генетичних маркерів прогнозу виживаності хворих на рак яєчника. Автори пропонують додатково до загальновідомих критеріїв прогнозу платинорезистентності такі параметри, як генетична обтяженість (наявність мутантних алелів поліморфізмів *BRCA1* 5832insC та *BRCA2* 6174delAG у гетеро- та гомозиготному варіанті, мікросателітної нестабільності), висока активність циклінів D та E, підвищення рівнів катехоламінів, високий ступінь експресії NO-синтетази, ступінь гіперурикемії, активність експресії рецепторів до епідермального фактора росту та активність CAS 20q13.

Рак яєчника залишається основною причиною смерті від злоякісних новоутворень геніталій у жінок, а за частотою поступається лише раку молочної залози, легені, кишкового тракту та тіла матки [1, 3, 7]. Мізерна клінічна симптоматика, висока частота метастазування, активне прогресування пухлинного росту призводять до того, що нерідко пухлину діагностують на пізніх стадіях. При цьому розроблені технології циторедукції, схеми хіміотерапії та радіотерапії дають лише парціальний ефект щодо підвищення виживаності. За статистичними даними, при III стадії частота 5-річної виживаності не перевищує 34%, а при IV стадії — 18% [1, 2, 8].

На жаль, близько 40% хворих є первинно-резистентними до препаратів платини, які у сучасних клінічних протоколах розглядаються як препарати першої лінії. Залежно від термінів прогресування хвороби розрізняють платиночутливі пухлини (прогресують більше ніж через 6 міс після терапії першої лінії), платинорезистентні (прогресують протягом 6 міс після терапії першої лінії) та платинорефрактерні (прогресують під час хіміотерапії першої лінії з включенням препарату платини) [2, 6].

Останніми роками бурхливо розвиваються нові розділи системної біології, в тому числі протеоміка, яка досліджує експресію білків залежно від впливу зовнішніх умов, та геноміка, яка досліджує експресію генів [7, 11]. Можливості застосування протеомічних та геномічних маркерів для ранньої діагностики та розробки методів таргетної терапії широко обговорюються у фаховій літературі [11]. Зокрема, порівняння протеому здорового і хворого пацієнтів дозволяє виявити конкретні білки, потенційно залучені в розвиток хвороби,

які в подальшому можуть стати мішенями для нових лікарських препаратів. Крім того, якщо такі білки вже відомі, аналіз протеому може використовуватися як метод ранньої діагностики. Перевагами аналізу протеому є те, що, на відміну від інформації про експресію гена за мРНК, він враховує ще й посттрансляційні модифікації й альтернативний сплайсинг [9, 11].

Метою дослідження була оцінка протеомічних та генетичних маркерів прогнозу виживаності хворих на рак яєчника.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на базі Одеського обласного онкологічного диспансеру протягом 2010–2015 рр. Обстежено 350 пацієнток з аденокарциномою яєчника III–IV стадії, яким було виконано циторедуктивні операції та з яких сформовано такі клінічні групи:

- I група (контрольна, n=50) — хворі на рак яєчника, що отримували стандартну ад'ювантну хіміотерапію першої лінії (цисплатин 75–100 мг/м² внутрішньовенно з гідратацією та формованим діурезом кожні 3 тиж);
- II група (n=100) — хворі з ймовірною платинорефрактерністю, які отримували терапію другої лінії (доксорубіцин 75–100 мг/м² внутрішньовенно крапельно 1 раз на 3 тиж);
- III група (n=100) — хворі з ймовірною платинорезистентністю, які отримували на фоні стандартної терапії першої лінії медикаментозну корекцію дизрегуляторних порушень (донатори оксиду азоту, детоксиканти, антиурікемічні засоби);
- IV група (n=100) — хворі з прогнозованою платиночутливістю

Ключові слова: рак яєчника, прогноз, маркери, платинорезистентність.

(стандартна терапія першої лінії після попереднього профілактичного курсу: 20 мг дексаметазону за 12 та 6 год до введення препаратів платини, 300 мг циметидину або 50 мг ранітідину та 50 мг димедролу за 30–60 хв).

Обстеження пацієнток проводили відповідно до вимог клінічного протоколу, затвердженого наказом Міністерства охорони здоров'я України від 17.09.2007 р. № 554 «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «онкологія» [1].

Усі пацієнтки були оперовані з використанням циторедукційних технологій, debulking. У частини пацієнток (n=90), обраних за допомогою рандомізаційного плану, у фрагментах пухлинної тканини визначали експресію білків HER2, Vcl-2, p53, сурвініну, фолістатину, mm23-HI, RB2/p130, фактора росту ендотелію судин (vascular endothelial growth factor — VEGF), епідермального фактора росту (epidermal growth factor — EGF), циклінів D та E, рецепторів епідермального фактора росту (epidermal growth factor receptors — EGFR), локальну експресію оксиду азоту [9]. Визначали вміст катехоламінів у сироватці крові методом рідинної хроматографії, сечової кислоти — колориметричним методом. Оцінювали вміст внутрішньоклітинної сірки за методикою Ван-Гемердена [5].

Додатково оцінювали наявність функціональних поліморфізмів генів *BRCA1* (185delAG, 5832insC), *BRCA2* 6174delAG, *MLH1*, *MSH1*, *CAS 20q13*, *TP53* методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі [10].

Критерієм резистентності до препаратів платини була реєстрація рецидиву раку яєчника шляхом проведення комп'ютерної томографії органів малого таза, а також визначення рівнів CA125 і HE4 у крові [2, 4].

Статистична обробка проведена методом факторного аналізу з використанням програмного забезпечення STATISTICA 13.0 (Dell StatSoft Inc., США) [5].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що за віком пацієнтки різних груп не відрізнялися (середній вік становив 55,3±3,9 року). Структура груп за стадією раку яєчника також не різнилася, переважали хворі з ІІІС стадією — у середньому їх було 64,9% у загальній вибірці.

Клінічна картина захворювання була стереотипною. Більшість пацієнток скаржилися на здуття та дискомфорт внизу живота, відчуття тиску у ділянці сечового міхура та прямої кишки, запор. У кожній десятій обстеженій відзначали вагінальні кровотечі. Частими були

диспептичні явища, задишка, загальна слабкість, підвищена втомлюваність, зменшення маси тіла та відчуття швидкого насичення при споживанні невеликої кількості їжі. У 12,6% хворих відзначали набряки нижніх кінцівок, у 5,4% — ознаки асцити. Водночас у 17,4% пацієнток захворювання не супроводжувалося суб'єктивними проявами й було діагностовано під час ультрасонографічного скринінгу.

У ході ультразвукового дослідження визначали мультилокулярні щільні гіперехогенні утворення розміром >10 см та посилення внутрішньоєичникового кровотоку. При біохімічному скринінгу виявляли високий вміст CA125 у 44,6% обстежених.

Впродовж терміну лікування у різних клінічних групах хворі скаржилися на нудоту, порушення смакових відчуттів, відразу до їжі, запаморочення, загальну слабкість. У 6,0% пацієнток контрольної групи та у 2,0% хворих ІV групи відзначали порушення зору. В одному випадку у пацієнтки реєстрували ознаки периферичної полінейропатії та симптом Лермітта. За даними загальної аналізу крові на тлі терапії препаратами платини були характерні ознаки помірної лейкопенії, рідше — анемії. Частим явищем була артеріальна гіпотензія. Протягом лікування хворі І та ІV груп також скаржилися на кашель, еритематозні висипання та екстравазати у місці введення препарату.

Щодо хворих ІІ групи, то на тлі терапії доксорубіцином у них проявлялися ознаки субфебрилітету, серцебиття, тромбоцитопенія та лейкопенія,

Таблиця. Результати факторного аналізу ролі різних протеомічних та генетичних факторів

Показник	Фактор-1	Фактор-2
VEGF	-0,29	0,09
EGF	0,20	0,45
Циклін D	0,73	0,41
Циклін E	0,84	-0,33
EGFR	0,24	0,71
HER2	0,41	0,16
Vcl-2	-0,19	0,70
p53	0,003	0,66
Сурвінін	-0,25	-0,009
FS	-0,12	-0,16
<i>BRCA1</i> 185delAG	0,42	0,54
<i>BRCA1</i> 5832insC	0,82	0,51
<i>BRCA2</i> 6174delAG	0,75	0,44
<i>MLH1</i>	-0,07	0,52
<i>MSH1</i>	0,84	-0,33
<i>CAS 20q13</i>	0,24	0,71
<i>TP53</i>	0,41	0,16
mm 23-HI	-0,19	0,69
RB2/p130	0,003	0,66
NO загально	0,20	0,45
NO локально	0,73	0,41
A	0,84	-0,33
NA	0,82	0,51
UA	0,75	0,44
S	0,42	0,54
Expl. var.	6,73	5,75
Prp. totl.	0,27	0,23

FS — фолістатин; A — адреналін; NA — норадrenalін; UA — сечова кислота; S — сірка.

нудота, блювання, ознаки стоматиту, діарея. На початку лікування пацієнтки ІІ групи відзначали зміну кольору сечі з появою червонуватого відтінку. Загальним явищем була алопеція, потемніння підошов та долоней, іноді — пальмарна еритема, зміна форми нігтів, шкірне свербіння та висипання. Окремі пацієнтки виявляли в себе явища фотофобії та збільшеної лакримачії за типом епіфори. Найменшу кількість суб'єктивних скарг протягом лікування відзначали у пацієнток ІІІ та ІV груп, які отримували патогенетично зумовлений комплекс метаболічної підтримки.

При проведенні факторного аналізу (таблиця) впливу різних протеомічних та генетичних маркерів на ступінь платинорезистентності встановлено існування двох прихованих факторів, для першого з яких найбільше значення мають показники активності циклінів D та E, а також наявність функціональних поліморфізмів *BRCA1* 5832insC та *BRCA2* 6174delAG, мікросателітної нестабільності, так само, як і активність катехоламінів та ступінь експресії NO-синтетази. Крім того, у складі цього фактора міститься ступінь гіперурикемії. Натомість другий чинник утворений переважно експресією EGFR та активністю CAS 20q13.

Наведене дозволяє додатково до критеріїв, сформульованих С.А. Тюляндіною [2, 4], включити до маркерів прогнозу платинорезистентності такі параметри, як генетична обтяженість (наявність мутантних алелів поліморфізмів *BRCA1* 5832insC та *BRCA2* 6174delAG у гетеро- та гомозиготному варіанті, мікросателітної нестабільності), висока активність циклінів D та E, підвищення рівнів катехоламінів, високий ступінь експресії NO-синтетази, ступінь гіперурикемії, активність експресії EGFR та активність CAS 20q13. У жінок з наявністю вказаних факторів доцільне застосування медикаментозної корекції дизрегуляторних порушень (донатори оксиду азоту, детоксиканти, антиурикемічні засоби).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Дубініна В.Г. (ред.), Рибін А.І., Тюева Н.В., Лук'янчук О.В. (2013) Онкогинекологія: Навч. посіб. Одеса, ОНМедУ, 200 с.
- Ашрафян Л.А., Киселев В.И., Муйжнек Е.Л. и др. (2015) Рак яєчника: концепція патогенеза і принципи терапії. Онкологія. Журнал им. П.А. Герцена, 4(3): 73–81.
- Свиницкий В.С. (2015) Серозный рак яєчника: тестирование мутаций генів *BRCA1* и *BRCA2* в Украине. Евразийский онкологический журнал (приложение): 79–82.
- Тюляндина С.А. (2013) Настоящее и будущее таргетной терапии в первой линии лечения рака яєчника. Фарматека, 8(261): 39–42.
- Халафян А.А. (2008) Statistica 6. Статистический анализ данных. М.: ООО «Бином-Пресс». 512 с.
- Чернобай А.В. (2013) Рак яєчника: патогенез, диагностика, современные аспекты лечения. Вестник проблем биологии и медицины, 1(2): 033–038.

7. Poisson L.M., Munkarah A., Madi H. et al. (2015) A metabolomic approach to identifying platinum resistance in ovarian cancer. *J. Ovarian Res.*, 8: 13.

8. Koshiyama M., Matsumura N., Konishi I. (2016) Clinical efficacy of ovarian cancer screening. *J. Cancer*, 7(10): 1311–1316.

9. Marks D.B. (1990) *Biochemistry*. Baltimore: Williams & Wilkins, 343 p.

10. Wadde S., Lehner M., Rubenwolf S. et al. (2015) Real-time PCR probe optimization using design of experiments approach. *Biomol. Detect. Quantif.*, 7: 1–8.

11. Sehrawal U., Pokhriyal R., Gupta A.K. et al. (2016) Comparative proteomic analysis of advanced ovarian cancer tissue to identify potential biomarkers of responders and nonresponders to first-line chemotherapy of carboplatin and paclitaxel. *Biomark. Cancer*, 8: 43–56.

Роль протеомических и генетических предикторов выживаемости больных раком яичника

А.И. Рыбин

Одесский национальный медицинский университет

Резюме. В статье проведен сравнительный анализ протеомических и генетических маркеров прогноза выживаемости больных раком яичника. Авторы предлагают дополнительно к общеизвестным критериям прогноза платинорезистентности такие параметры, как генетическая отягощенность (наличие мутантных аллелей полиморфизмов *BRCA1* 5832insC и *BRCA2* 6174delAG в гетеро- и гомозиготном варианте, микросателлитной нестабильности), высокая активность циклинов D и E, повышение уровня катехоламинов, высокая степень экспрессии NO-синтазы, степень гиперурикемии, активность экспрессии рецепторов к эпидермальному фактору роста и активности CAS 20q13.

Ключевые слова: рак яичника, прогноз, маркеры, платинорезистентность.

The role of proteomic and genomic predictors of survival in patients with ovarian cancer

A. I. Rybin

Odessa State Medical University

Summary. There was a comparative analysis of genomic and proteomic markers of prognosis of survival in patients with the ovarian cancer in the article. The authors propose in addition to well-known criteria of resistance to platinum prognosis to include such parameters as genetic history (the presence of mutant alleles of SNPs *BRCA1* and *BRCA2* 6174delAG 5832insC in hetero- and homozygous variant, microsatellite instability), high activity of cyclins D and E, increased levels of catecholamines, high degree of expression of NO synthase, degree of hyperuricemia, active expression of receptors for epidermal growth factor and activity of CAS 20q13.

Key words: ovarian cancer, prognosis, markers, platinum resistance.