

Микросателлитная нестабильность и эпигенетические нарушения гена ESR у больных с полипами и гиперплазией эндометрия

Н.А. Щербина, М.А. Карташова

Харьковский государственный медицинский университет

У 210 больных с патологией эндометрия (61 с полипами эндометрия, 80 – с гиперплазией эндометрия (ГЭ) без атипии и 69 больных с атипической ГЭ) в ткани изучена частота встречаемости микросателлитной нестабильности (MSI) и метилирования гена ESR. Установлено, что развитие рецидива ГЭ без атипии и атипии в клетках эндометрия, которому предшествовали гиперпролиферативные процессы, достоверно коррелирует с фенотипом MSI+ и метилированием гена ESR. Сочетание этих факторов является одним из генетических аспектов патогенеза данных патологических процессов.

Ключевые слова: полип и гиперплазия эндометрия, микросателлитная нестабильность (MSI), ген ESR.

Гиперпластические процессы в эндометрии являются большой медико-биологической и социально-экономической проблемой. Постоянный интерес к ним обусловлен тенденцией гиперпластических процессов эндометрия к длительному, рецидивирующему течению, отсутствием специфических, патогномичных симптомов, сложностью дифференциальной диагностики [2, 5, 8]. Гиперпластические процессы в эндометрии относятся к числу пролиферативных процессов, которые при длительном течении без лечения могут служить фоном для развития неоплазий. В текущем десятилетии наблюдается прогрессивное увеличение числа случаев рака эндометрия (РЭ), который занимает 4-е место среди других форм злокачественных новообразований у женщин [4]. Возникновение рака тела матки у больных с рецидивирующей формой гиперплазии эндометрия (ГЭ) отмечено в 20–30% случаев. Иногда РЭ развивается из полипа эндометрия [1, 8]. Полип эндометрия представляет собой локальное, экзофитно растущее образование из ткани базального слоя эндометрия. Малигнизация эндометриальных полипов составляет 2–5%, но в постменопаузе число случаев малигнизации достигает 10% [6, 10].

Существующие подходы к лечению больных с гиперплазией и полипами эндометрия имеют разную эффективность – от полного излечения до рецидива и дальнейшей прогрессии [5, 11]. В настоящее время отсутствует связь между указанными патологическими процессами эндометрия и реакцией пациентки на лечение. По-видимому, необходимо дополнительное уточнение природы патологического процесса с учетом генетических особенностей организма больной и молекулярных механизмов патогенеза. Биологическим маркером, определяющим агрессивность патологического процесса и ответ на лечение, может быть эпигенетическое нарушение (метилирование) гена ESR [7, 8, 11]. Кроме того, в 15–40% случаев РЭ в опухоли наблюдается высокая генетическая нестабильность, которую выявляют с помощью анализа микросателлитных маркеров (микросателлитная нестабильность – MSI). Это значит, что мутантными могут быть гены ферментов репарации ДНК – MSH2, MSH3, MSH6 и

MLH1. Предполагают, что MSI развивается при доброкачественной патологии эндометрия. Однако роль данного вида генетического нарушения требует дальнейшего изучения [3, 8].

Таким образом, выявление связи между клиническими проявлениями заболевания и лежащими в их основе молекулярными повреждениями, открывают возможности идентификации новых форм болезни и установления причин их развития, что может привести к повышению эффективности лечения доброкачественной и предраковой патологии эндометрия, определить риск малигнизации и предотвратить развитие рака.

Цель исследования – изучить частоту встречаемости MSI и метилирования гена ESR у больных с полипами и ГЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 210 больных с патологией эндометрия: 61 пациентка с полипами эндометрия, 80 – с ГЭ без атипии и 69 больных с атипической ГЭ. В зависимости от вида гиперпластического процесса больные разделены на 3 группы: 1-я группа – пациентки с ГЭ без атипии; 2-я группа – больные с рецидивирующей гиперплазией без атипии и 3-я группа – больные с атипической ГЭ. Пациентки с полипами эндометрия были разделены на 2 группы: 1-я группа имела впервые выявленный полип, 2-я – рецидив заболевания. Диагноз во всех случаях был верифицирован морфологически после диагностического выскабливания и/или гистероскопии с прицельной биопсией. Гистологическое исследование тканей проводили в соответствии со стандартной методикой. Возраст больных колебался от 32 до 69 лет, а средний возраст составил $54,4 \pm 2,6$ года.

У всех больных в ткани методом полимеразной цепной реакции было изучено наличие MSI и метилирование гена ESR. После выделения ДНК из ткани (полип эндометрия, гиперплазированный эндометрий) фенольным методом определяли метилирование промоторной области гена ESR, для чего ДНК обрабатывали метилчувствительными рестриктазами. Наличие MSI генома определяли с использованием маркеров BAT 25 и BAT 26 [9]. Исследования проводили в лаборатории «Вирола» Харьковской медицинской академии последипломного образования.

Больным с ГЭ была проведена гормонотерапия по схеме согласно протоколу МЗ Украины № 676 от 31.12.2004 г. Полученные в результате исследования данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с использованием критерия χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценивая частоту наличия MSI у больных с полипами и рецидивирующими полипами эндометрия (табл. 1), нами отмечено две особенности. Во-первых, данный тип генетичес-

Частота наличия MSI и метилирования гена ESR у больных с полипами и рецидивирующими полипами эндометрия

Патология эндометрия	MSI +, п (%)	MSI -, п (%)	Неметилированный ген ESR, п (%)	Метилированный ген ESR, п (%)
Полип эндометрия, n=35	1 (2,9)	34 (97,1±2,8)	34 (97,1±2,8)	1 (2,9)
Рецидив полипа эндометрия, n=26	1 (3,8)	25 (96,2±3,8)	24 (94,3±4,7)	2 (7,7)
Всего, n=61	2 (3,3±2,3)	59 (96,7±2,3)	58 (95,1±2,8)	3 (4,9±2,8)

ких нарушений встречался редко как у больных с впервые диагностированным полипом эндометрия, так и при его рецидиве. Во-вторых, частота MSI + в обеих группах больных практически не отличалась.

Проводя анализ наличия метилирования гена ESR у пациентов с полипами эндометрия, мы получили следующие данные – в 1-й группе частота метилирования составила 2,9 %, во 2-й группе – 7,7% соответственно, что позволяет судить о тенденции к повышению частоты метилирования гена ESR при рецидивировании полипа эндометрия.

Таким образом, проведенный анализ показал низкую частоту наличия MSI и метилирования гена ESR у больных с полипами и рецидивирующими полипами эндометрия. Эти данные свидетельствуют о том, что в развитии полипов эндометрия оба вида исследуемых генетических и эпигенетических нарушений не имеют значения. В основе рецидивирования полипов эндометрия также лежат другие причины и механизм развития заболевания. Следовательно, можно предположить незначительную роль гормонального, в частности эстрогенного, аспекта в патогенезе полипов эндометрия. Не отмечено также влияния нарушения генов репарации ДНК, определяемого по наличию микросателлитной нестабильности, на развитие и рецидивирование данной патологии в гормонзависимой ткани матки.

Оценка данных частоты наличия MSI у больных с ГЭ без атипии (табл. 2), показала, что данный тип генетических нарушений встречается достаточно часто – у каждой десятой больной. У больных с рецидивом гиперплазии (2-я группа) частота микросателлитной нестабильности генома встречалась в 1,9 раза чаще ($p > 0,05$) – у каждой пятой больной. В общей группе пациенток, имеющих ГЭ без атипии (3-я группа), частота MSI+ составила 13,8%. То есть полученные данные свидетельствуют об определенной корреляции между типом (первичный или рецидив) гиперпролиферативного процесса без атипии в эндометрии и развитием микросателлитной нестабильности.

Анализ наличия MSI+ у пациенток с атипической ГЭ показал высокую частоту данного типа генетического нарушения – 30% случаев. Следует отметить, что фенотип MSI+ у больных анализируемой группы встречался достоверно чаще в сравнении со всеми типами ГЭ без атипии.

При анализе данных о частоте метилирования гена ESR установлено, что при гиперплазии без атипии этот показатель достоверно ниже соответствующего значения больных с

атипической ГЭ: 1-я группа – 6 (12,2%) больных; 3-я группа – 32 (46,4%) ($p < 0,01$).

Следует отметить, что у больных с рецидивом ГЭ частота эпигенетических нарушений гена ESR (35,5%), так же как и больных с атипической ГЭ, была достоверно выше ($p < 0,01$), чем в группе больных с гиперплазией без атипии.

Обращает внимание тот факт, что при атипической ГЭ метилирование гена ESR выявлено в 2 раза чаще, чем в случаях гиперплазии без атипии: 22,5% в группах больных с гиперплазией без атипии (выявленной впервые и рецидивирующей) и 46,4 % – у пациенток с атипической ГЭ ($p < 0,01$).

В ходе проведения данного исследования установлено, что у больных 2-й группы (с наличием рецидива ГЭ) показатель частоты встречаемости метилирования гена ESR принципиально ($p > 0,05$) не отличается от аналогичного показателя группы больных с атипической гиперплазией: 2-я группа – 35,5% больных; 3-я группа – 46,4% больных.

Таким образом, частота наличия MSI у больных с ГЭ без атипии (10,2%), с рецидивом гиперплазии (19,4%) и в общей группе пациенток, имеющих ГЭ без атипии (13,8% случаев), не позволяет говорить о ведущей роли данного типа генетических нарушений в развитии гиперпролиферативных процессов в эндометрии, не сопровождающихся атипией клеток. Однако полученные данные дают возможность предположить, что отсутствие длительного клинического эффекта от стандартной гормональной терапии, которую получали пациентки с ГЭ без атипии и повторное развитие данной патологии в эндометрии обусловлено в том числе с наличием фенотипа MSI+. При изучении частоты эпигенетических нарушений гена ESR установлена зависимость от патологии эндометрия: в 1-й группе больных метилирование гена выявлено у каждой восьмой больной; во 2-й группе данный признак встречается у трети больных, а при атипической гиперплазии почти в половине случаев наблюдения. При анализе данных частоты метилирования гена ESR в зависимости от различных вариантов гиперпластических процессов в эндометрии установлен ряд закономерностей. Так, высокая частота встречаемости эпигенетических нарушений гена ESR при рецидиве гиперплазии без атипии (35,5%) и достоверное отличие от аналогичного показателя у больных с гиперплазией без атипии, выявленной впервые (12,2%), свидетельствует о патогенетической роли данного гена в развитии фоновых заболеваний эндометрия. Следует отметить, что по мере усугубления гиперпластических процессов

Таблица 2

Частота наличия MSI и метилирования гена ESR у больных с ГЭ

Патология эндометрия	MSI +, п (%)	MSI -, п (%)	Неметилированный ген ESR, п (%)	Метилированный ген ESR, п (%)
ГЭ без атипии, n=49	5 (10,2±4,3)	44 (89,8±4,3)	43 (87,8±4,6)	6 (12,2±4,6)
Рецидив ГЭ без атипии, n=31	6 (19,4±7,0)	25 (80,6±7,0)	20 **1 (64,5±8,6)	11 **1 (35,5±8,6)
Всего ГЭ без атипии, n=80	11 (13,8±3,9)	69 (86,2±3,9)	62 (77,5±4,6)	18 (22,5±4,6)
Атипическая ГЭ, n=69	20 *2 **1;3 (30,0±5,5)	49 *2 **1;3 (70,0±5,5)	37 **1; 3 (53,6 ±6,0)	32 **1; 3 (46,4%±6,0)

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – различие между группами статистически достоверно по критерию χ^2 .

в эндометрии частота эпигенетических нарушений гена ESR достоверно возрастает и, следовательно, повышает риск малигнизации [8, 10]. Кроме того, нами установлено, что частота наличия MSI и метилирования гена ESR у больных с ГЭ является достаточно частым нарушением и имеет достоверную корреляцию с развитием в эндометрии атипии. Данные, полученные в группе больных с атипической ГЭ, свидетельствуют не только о высокой частоте наличия микросателлитной нестабильности (30%), но и о достоверном отличии от всех разновидностей ГЭ без атипии. Вероятно, развитие у пациенток с гиперпролиферативными процессами в эндометрии фенотипа MSI+ приводит к селекции клонов клеток с накоплением генетических нарушений именно из-за отсутствия возможности восстанавливать поврежденные в процессе деления клеток ДНК. А одной из причин появления поврежденных в процессе митоза клеток эндометрия является избыточная пролиферация нормальных клеток эндометрия. Эта первичная селекция атипических по генотипу клеток эндометрия возможна по двум причинам. Во-первых, избыточная пролиферация эндометрия, особенно длительно существующая, ухудшает трофику ткани, что повышает вероятность повреждения ДНК в процессе митоза [8, 10]. Во-вторых, гиперпролиферация эндометрия обусловлена какими-то эндогенными и/или экзогенными факторами, в частности гормональными причинами. Эти факторы могут вначале приводить к развитию гиперпролиферации, а в дальнейшем к атипии и РЭ [1, 2, 11].

Выводы

1. Незначительная частота наличия MSI и метилирования гена ESR у больных с полипами, рецидивирующими полипами и гиперплазией эндометрия без атипии свидетельствуют, что в развитии данных патологических процессов исследуемые генетические и эпигенетические нарушения не имеют существенного значения.

2. Рецидив ГЭ без атипии после стандартной гормональной терапии обусловлен комплексными причинами, включающими нарушение функции гена ESR и микросателлитную нестабильность.

3. Развитие атипии в клетках эндометрия, которому предшествовали гиперпролиферативные процессы, достоверно коррелирует с фенотипом MSI+ и метилированием гена ESR.

4. Сочетание гормонального фактора, связанного с нарушением экспрессии гена ESR, с наличием микросателлитной нестабильности генома и сопровождающиеся вслед за этим процессом нарушения функции генов репарации ДНК, является одним из ведущих генетических аспектов патогенеза атипической ГЭ.

Мікросателітна нестабільність та епігенетичні порушення гена ESR у хворих з поліпами та гіперплазією ендометрія

М.О. Щербина, М.О. Карташова

У 210 хворих з патологією ендометрія (61 з поліпами ендометрія, 80 – з гіперплазією ендометрія (ГЕ) без атипії та 69 хворих з ати-

повою ГЕ) вивчена частота зустрічаємості микросателітної нестабільності (MSI) та метилування гена ESR. Показано, що розвиток рецидиву ГЕ без атипії, а також атипії в клітинах ендометрія, котрому передували гіперпроліферативні процеси, достовірно корелює з фенотипом MSI+ та метилуванням гена ESR. Поєднання цих факторів є одним із генетичних аспектів патогенезу даних патологічних процесів.

Ключові слова: поліп та гіперплазія ендометрія, микросателітна нестабільність (MSI), ген ESR.

Microsatellite instability and epigenetic infringements of gene ESR at patients with polyps and endometrial hyperplasia

N.A. Shcherbina, M. A. Kartashova

At 210 patients with a pathology of endometrium (61 with endometrial polyps, 80 – with endometrial hyperplasia (EH) without atipia and 69 patients with atipical hyperplasia) frequency of occurrence of microsatellite instability (MSI) and methylation gene ESR was studied. It is shown that development of relapse EH without atipia, and also atipia in endometrial cells to which preceded giperprolyphyrative processes, authentically correlates with phenotype MSI+ and methylation of gene ESR. The combination of these factors is one of leading genetic patogenetic aspects these pathological processes.

Key words: polyp and endometrial hyperplasia, microsatellite instability (MSI), gene ESR.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии. – СПб.: СпецЛит, 2002. – 542 с.
2. Бочкарева Н.В. Особенности метаболизма и рецепции эстрогенов при гиперпластических процессах и раке эндометрия: Дисс. ... д-ра мед. наук. – Томск, 2007. – 40 с.
3. Казубская Т.П. Генетические основы этиологической гетерогенности злокачественных новообразований: Дисс. ... д-ра мед. наук. – Москва, 2010. – 36 с.
4. Седаков И.С. Щодо проблем онкологічної служби України // Новоутворення. – 2011. – Т. 8, №2. – С. 3 – 9.
5. Татарчук Т.Ф., Бурлака Е.В. Современные принципы диагностики и лечения гиперпластических процессов эндометрия // Здоровье женщины. – 2003. – Т. 16, № 4. – С. 107 – 114.
6. Хужокова И.Н. Диагностика и лечение полипов эндометрия // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 102 – 106.
7. Чехун В.Ф. Функциональный онкогеном – основа современной диагностики та нової стратегії протипухлинної терапії //Онкологія. – 2003. – Т. 8, № 2. – С. 96 – 101.
8. Coupiet I., Pujol P. Hereditary predispositions to gynaecological cancers // Gynecol. Obstet. Fertil. – 2005. – V. 33, № 11. – P. 851 – 856.
9. De Letuw W.J., Dierssen J., Vasen H.F., et al. Prediction of a mismatch repair gene defect by microsatellite instability and immunohistochemical analysis in endometrial tumours from HNPCC patients. //J. Pathol. – 2007. – V. 192, № 3. – P. 328–335.
10. Haimovitch S., Checa MA, Mancebo G, Fustij P, Carreras R. Treatment of endometrial hyperplasia without atypia in peri- and postmenopausal women with a levonorgestrel intrauterine device. Menopause. 2008. – V. 15, № 5. – P. 1002
11. Hu K, Zhong G, He F. Expression of estrogen receptors ERβ and ERα in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma // Int. J. Gynecol. Cancer. –2005. – V. 15. – P. 537–541.

Искусственная менопауза и опыт применения экстракта цимицифуги (Климадинон)

Ю.Г. Паяниди, К.И. Жордания

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва

Ежегодно в мире регистрируется около 11 млн новых случаев заболевания раком, более 850 тыс. из них приходится на поражение органов женской половой сферы. Сложные хирургические вмешательства, специальные методы лечения онкологических больных влекут за собой тяжелые изменения в организме. И если успехи, достигнутые в лечении злокачественных новообразований, способствуют увеличению числа излеченных больных, то перед онкологами встает острая серьезная задача – улучшение качества жизни таких пациенток.

Следствием проводимого лечения онкологических больных является проявление у них посткастрационного синдрома.

Посткастрационный синдром – комплекс соматопсихических проявлений, возникающих у женщин репродуктивного возраста вследствие проведения у них оперативной (удаление яичников), лучевой или лекарственной кастрации. Вегетососудистые нарушения возникают практически у каждой 3-й женщины после надвлагалищной ампутации матки без придатков и в 2 раза чаще – при экстирпации матки с придатками. Если естественный климактерий – процесс, как правило, плавный, когда включаются механизмы адаптации организма, то искусственный – это всегда стресс [1]. Особенно остро он протекает в молодом возрасте, когда женщина ни физиологически, ни психологически не подготовлена к наступлению менопаузы.

Выпадение гормональной функции яичников вызывает сложные реакции адаптации в нейроэндокринной системе. Внезапное снижение уровня половых гормонов приводит к нарушению секреции нейротрансмиттеров в подкорковых структурах мозга, обеспечивающих координацию кардиоваскулярных, респираторных, температурных реакций. Это вызывает патологические симптомы, весьма сходные с симптомами, возникающими при климактерическом синдроме. Нарушения секреции нейропептидов гипоталамуса (люлиберин, тиролиберин, кортиколиберин и др.) изменяют функцию эндокринных желез, особенно надпочечников, в корковом веществе которых усиливается образование глюкокортикоидов. После кастрации андрогены коры надпочечников являются единственным источником синтеза эстрогенов. Уменьшение образования андрогенов приводит к снижению синтеза эстрогенов и затрудняет процессы адаптации организма. В щитовидной железе нарушается синтез Т3 и Т4.

Посткастрационный синдром у оперированных женщин репродуктивного возраста развивается в 80% наблюдений, часто он протекает тяжело, с утратой трудоспособности. Основными клиническими проявлениями его служат вегетативнососудистые симптомы – «приливы жара». Они могут сопровождаться усиленным потоотделением, учащением пульса, ощущением нехватки воздуха, чувством страха, иногда полубоморочным состоянием, судорогами. Эти симптомы усиливаются ночью, в жаркое время года, особенно при нервном возбуждении. Частоту и интенсивность приливов считают показателем тяжести посткастрационного синдрома. Они развиваются уже через 2–3 нед после операции и достигают пика своего развития через 2–3 мес [2].

К числу обменно-эндокринных нарушений, связанных с посткастрационным синдромом, относят также ожирение,

гиперхолестеринемию. Изменения гормонального баланса обуславливают нарушения липидного обмена и развитие атеросклероза. С метаболическими нарушениями связывают также трофические изменения в наружных и внутренних половых органах, мочевом пузыре, уретре. У таких больных очень часто развиваются кольпиты, появляются трещины, лейкоплакии, крауроз вульвы. Наступают атрофические изменения в молочных железах, происходит замещение железистой ткани соединительной и жировой.

Частым спутником вегетативно-сосудистых нарушений посткастрационного синдрома является остеопороз. Остеопороз – это системное заболевание скелета, характеризующееся снижением плотности костной массы и ухудшением архитектоники костной ткани, вследствие чего повышается хрупкость костей и подверженность переломам.

Ф. Элбрайт в серии клинических очерков среди различных причин развития остеопороза выдвигал недостаточность половых гормонов. В своих наблюдениях он показал, что среди пациентов с остеопорозом было значительно больше женщин с овариэктомией, чем ожидалось. Операции у них почти всегда были выполнены в более молодом возрасте, чем возраст наступления естественной менопаузы. Резкое снижение синтеза эстрогенов у женщин после удаления яичников – одна из основных причин развития остеопороза. Эстрогены оказывают как прямое, так и опосредованное влияние на метаболизм костной ткани. Они имеют высокоспецифичные рецепторы на остеокластах. Эти клетки являются органом-мишенью для эстрогенов. Опосредованное действие заключается в стимулировании образования в организме ряда высокоактивных биологических веществ, участвующих в процессе ремоделирования. Под влиянием эстрогенов активность остеокластов снижается, воздействие на остеобласты носит опосредованный характер.

Эстрогены оказывают на костную ткань защитное действие против резорбции. Защитное действие может быть также опосредовано кальцитонином, секреция которого стимулируется эстрогенами. Снижение продукции половых гормонов делает кости более чувствительными к паратиреоидному гормону. Эстрогены являются его физиологическим антагонистом и сдерживают вызываемую им резорбцию костной ткани.

Эстрогены поддерживают баланс между активностью остеобластов и остеокластов в процессе ремоделирования за счет снижения резорбции и вторичного понижения образования костной ткани. При дефиците эстрогенов одновременно утрачиваются как органические, так и минеральные элементы костной ткани, что типично для остеопороза.

Остеопороз у женщин после удаления яичников развивается постепенно и поэтому долгое время может оставаться незамеченным. Характерными симптомами являются боль в поясничном и грудном отделах позвоночника, медленное уменьшение роста с соответствующими изменениями осанки, переломы при минимальных травмах. При этом риск возникновения перелома позвоночника возрастает в 9 раз, а шейки бедренной кости – в 3 раза по сравнению с таковыми у здоровых женщин того же возраста. И если у большинства больных в течение первого года после операции наблюдает-