

Влияние микросателлитной нестабильности генома и метилирования гена ESR на эффективность применения гормонотерапии у больных с гиперплазией эндометрия

Н.А. Щербина, М.А. Карташова

Харьковский государственный медицинский университет

У 83 больных с гиперплазией эндометрия (ГЭ) без атипии изучена эффективность применения гормонотерапии в зависимости от возраста, наличия микросателлитной нестабильности (MSI) и метилирования гена ESR. Показано, что эффективность стандартной гормонотерапии снижается с увеличением возраста пациентов, а наличие MSI или метилирования гена ESR достоверно увеличивают частоту рецидивов ГЭ.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, микросателлитная нестабильность (MSI), ген ESR, клинические проявления, гормонотерапия.

Гиперплазия эндометрия (ГЭ) – гиперпролиферативный процесс слизистой оболочки матки – наиболее частая доброкачественная патология у женщин разных возрастных групп, в основе которой лежит комплекс причин, связанных с особенностями фенотипа и генотипа [1, 4, 5]. Особенности фенотипа женщин определяют риск развития ГЭ [1, 2]. Генетические факторы влияют на дальнейшее течение гиперпролиферативного процесса в эндометрии, поскольку могут снижать эффективность гормонотерапии и способствовать прогрессии ГЭ в атипическую гиперплазию и в дальнейшем – в рак [8, 9]. К таким генетическим факторам может быть отнесен ген рецепторов эстрогена (ESR), при нарушении функции которого теряется контроль над гормонозависимыми тканями, в частности эндометрием. При РЭ чаще происходит метилирование гена ESR [7, 10]. Кроме того, в 15–40% случаев РЭ в опухоли наблюдается высокая генетическая нестабильность генома, которая выявляется по анализу микросателлитных маркеров (микросателлитная нестабильность – MSI). Это значит, что мутантными могут быть гены ферментов репарации ДНК – *MSH2*, *MSH3*, *MSH6* и *MLH1* [8]. MSI развивается при ГЭ, однако роль данного вида генетического нарушения и его влияние на эффективность лечения требуют дальнейшего изучения [1, 8].

Таким образом, определение связи между клиническими проявлениями ГЭ и лежащими в их основе молекулярными повреждениями открывают возможности повышения эффективности лечения гиперпролиферативных процессов и профилактики рака эндометрия.

Цель исследования – изучить клиническую эффективность, частоту рецидивов и прогрессий гиперплазий эндометрия без атипии при использовании гормонотерапии в зависимости от возраста больных, наличия MSI и метилирования гена ESR.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 83 больных с ГЭ без атипии в возрасте от 32 до 67 лет, средний возраст составил $50,2 \pm 4,5$ года. Диагноз во всех случаях был верифицирован морфологически после диагностического выскабливания и/или гистероскопии с прицельной биопсией. Гистологическое исследование тка-

ней проводилось в соответствии со стандартной методикой. У всех больных в ткани методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) было изучено наличие MSI и метилирование гена ESR. После выделения ДНК из ткани (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 [6]. Исследования проводили в лаборатории «Ви-рола» ХМАПО. Всем больным была проведена гормонотерапия по схеме согласно протоколу МЗ Украины № 676 от 31.12.2004 г. Эффективность применения гормонотерапии оценивали по частоте жалоб, рецидивов и прогрессирования заболевания.

Полученные в результате исследования данные обработаны по общепринятым методам вариационной статистики с использованием критерия χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты клинической эффективности гормонотерапии у больных репродуктивного и перименопаузального возраста с ГЭ в зависимости от наличия MSI и метилирования гена ESR представлены в табл. 1. Как видно из приведенных данных, частота ациклических кровянистых выделений до начала лечения была одинаковой и не зависела от наличия у пациенток микросателлитной нестабильности и эпигенетического нарушения гена ESR. Через 3 мес от начала лечения частота ациклических кровянистых выделений в контрольной группе больных снизилась в 1,5 раза, в группе с метилированием гена ESR – в 1,3 раза и не изменилась при наличии у женщин MSI+. После окончания стандартной терапии анализируемый симптом встречался значительно реже, причем наибольший клинический эффект нами отмечен в контрольной группе (частота жалоб уменьшилась в 6 раз), а в исследуемых группах частота ациклических кровянистых выделений уменьшилась только в 2 раза.

Частота пред- и постменструальных кровянистых выделений в анализируемых группах исходно практически не отличались и составляла 42,9–46,2%. Применение гормонотерапии в течение 3 мес позволило уменьшить частоту данной жалобы в контрольной группе в 2,3 раза, при метилировании гена ESR – в 2 раза и у пациенток с микросателлитной нестабильностью – в 1,5 раза. После завершения гормонотерапии частота пред- и постменструальных кровянистых выделений четко зависела от группы больных, т.е. от анализируемой генетической патологии. Лучший эффект был получен в контрольной группе (частота жалоб уменьшилась в 6 раз), а наличие генетических нарушений у больных снизило эффективность гормонотерапии: частота пред- и постменструальных кровянистых выделений уменьшилась в 3 раза.

Клиническая эффективность применения гормонотерапии у больных репродуктивного и перименопаузального возраста с гиперплазией эндометрия без атипии в зависимости от наличия MSI и метилирования гена ESR

Клинические проявления	Сроки (время) анализа	Частота клинических проявлений, абс. число (%)		
		Контрольная группа больных, n=42	Больные с наличием MSI, n=7	Больные с метилированием гена ESR, n=13
Ациклические кровянистые выделения	До лечения	12 (28,5)	2 (28,6)	4 (30,8)
	Через 3 мес	8 (19)	2 (28,6)	3 (23,1)
	Через 6 мес	2 (4,7)	1 (14,3)	2 (15,4)
Пред- и постменструальные кровянистые выделения	До лечения	18 (42,9)	3 (42,9)	6 (46,2)
	Через 3 мес	8 (19)	2 (28,6)	3 (23,1)
	Через 6 мес	3 (7,1)	1 (14,3)	2 (15,4)
Меноррагия	До лечения	25 (59,5)	4 (57,1)	8 (61,5)
	Через 3 мес	16 (38,1)	3 (42,9)	6 (46,2)
	Через 6 мес	5 (11,9)	1 (14,3)	2 (15,4)
Боль внизу живота, связанная с менструацией	До лечения	12 (28,5)	2 (28,6)	4 (30,8)
	Через 3 мес	6 (14,3)	3 (42,9)	6 (46,2)
	Через 6 мес	4 (10,5)	–	2 (15,4)
Боль внизу живота, несвязанная с менструацией	До лечения	6 (14,3)	1 (14,3)	3 (23,1)
	Через 3 мес	3 (7,1)	1 (14,3)	2 (15,4)
	Через 6 мес	2 (4,7)	1 (14,3)	1 (7,7)

На меноррагию исходно жаловалось около 60% больных, а частота их была одинаковой во всех группах. После 3 мес терапии частота меноррагий уменьшилась во всех группах пропорционально. После завершения гормонотерапии частота меноррагий снизилась в контрольной группе в 5 раз и в 4 раза – в исследуемых группах, т.е. принципиальных различий в клинической эффективности мы не выявили.

Боль внизу живота, связанная с менструацией, до начала лечения во всех группах больных отмечалась в 28–30% случаев. Гормонотерапия в течение 3 мес привела к снижению частоты проявлений данного симптома в контрольной группе в 2 раза. В то же время в исследуемых группах пациенток получены парадоксальные результаты: в 1,5 раза увеличилось количество пациенток, предъявляющих жалобы боль внизу живота, связанную с менструацией. Однако через 6 мес во всех группах была отмечена клиническая эффективность: частота жалоб снизилась в контрольной группе в 3 раза; в группе с эпигенетическим нарушением гена ESR – в 2 раза; а у больных с MSI+ боль внизу живота, связанная с менструацией, исчезла.

Боль внизу живота, не связанная с менструацией, встречалась реже, чем при менструации, а ее частота колебалась. Проведенная в течение 3 мес гормонотерапия снизила частоту данного симптома в контрольной группе и у пациенток с эпигенетическим нарушением гена ESR. Полный курс стандартной гормонотерапии снизил частоту боли, как и после 3 мес в контрольной группе (в 3 раза), и у пациенток с эпигенетическим нарушением гена ESR (в 3 раза), но не повлиял на показатель в группе женщин с микросателлитной нестабильностью.

Таким образом, проведенный анализ клинической эффективности применения гормонотерапии у больных репродуктивного и перименопаузального возраста с ГЭ в зависимости от наличия MSI и метилирования гена ESR позволил установить ряд тенденций. Во-первых, пациентки всех групп до начала лечения имели сопоставимую частоту жалоб, что

позволяло говорить об отсутствии связи между клиническими проявлениями гиперпластических процессов эндометрия и наличием анализируемых генетических или эпигенетических нарушений. Во-вторых, промежуточный анализ эффективности применения гормонотерапии, проводимый через 3 мес, показал, что на данном этапе имеется четкая тенденция к снижению частоты типичных симптомов, которые еще больше снижаются при завершении полного курса гормонотерапии. В-третьих, клинические проявления не являются ведущими при определении истинного эффекта от гормонотерапии. В-четвертых, у больных репродуктивного и перименопаузального возраста с ГЭ без атипии клиническая эффективность применения гормонотерапии была различной в анализируемых группах. Наибольшее снижение частоты симптомов заболевания было получено в контрольной группе больных. В исследуемых группах клиническая эффективность была ниже в 2–3 раза, а между собой показатели в группах с эпигенетическим нарушением гена ESR и с MSI+ практически не отличались.

Эффективность проводимого лечения у больных с ГЭ нами была оценена также по частоте рецидивов и прогрессированию заболевания (табл. 2). Как видно из данных табл. 2, результаты лечения зависели как от наличия генетических нарушений, так и от возраста пациенток. В частности, во всех группах частота рецидивов ГЭ чаще встречалась в менопаузе. Лучшие результаты, за исключением группы больных с метилированием гена ESR, отмечены у женщин репродуктивного возраста. Частота рецидивов и прогрессирование заболевания у больных с ГЭ, находящихся в перименопаузе, занимала промежуточное положение, за исключением пациенток с нарушенной функцией гена ESR. Следовательно, результаты лечения данной категории больных имели четкую связь с возрастом. Поэтому с целью уточнения влияния анализируемых генетических нарушений на эффективность лечения дальнейшая оценка результатов проводилась с учетом возраста больных.

Частота рецидивов и прогрессирования заболевания у больных с гиперплазией эндометрия без атипии в зависимости от возраста и наличия MSI и метилирования гена ESR

Возрастной период	Частота рецидивов и прогрессирования, абс. число (%)		
	Контрольная группа больных	Больные с наличием MSI	Больные с метилированием гена ESR
Репродуктивный	$\bar{n}=26$	$\bar{n}=2$	2 33,3±19,2 n=6
Перименопауза	1 6,3±5,9 n=16	2 40,0±21,9** n=5	2 28,6±17,2* n=7
Менопауза	2 18,2±11,6 n=11	3 60,0±21,9** n=5	2 40,0±21,9 n=5
Всего	3 5,7±3,2 n=53	5 41,7±14,2** n=12	6 33,3±11,1** n=18

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

Анализ результатов лечения больных репродуктивного возраста показывает, что пациентки контрольной группы, т.е. не имеющие анализируемой генетической патологии, имели 100% эффективность гормонотерапии. Не выявлено рецидивов заболевания и у женщин с фенотипом MSI+, однако в данной группе давать полноценную оценку эффективности лечения сложно из-за малого количества пациентов. Больные с нарушенной экспрессией гена ESR в нашем исследовании были единственной группой, где были выявлены рецидивы заболевания. Следует обратить внимание не только на наличие рецидивов, но и на их высокий процент – каждая третья женщина с ГЭ без атипии при наличии метилирования гена ESR не откликается на стандартную терапию, что приводит к возобновлению гиперпролиферативного процесса в эндометрии.

У больных в перименопаузе во всех группах имеются случаи отсутствия эффекта на проводимую терапию. Лучшие результаты лечения получены у пациенток контрольной группы, однако 18,2% случаев рецидива указывают на особенность данного возрастного периода и, вероятно, требуют индивидуализации терапии, обусловленной именно аспектом возраста и сопутствующей ему гормональной перестройке в организме. Гормональные изменения, происходящие у женщин в перименопаузе, сопровождаются развитием эпигенетических изменений, часть из которых в последующем дополняются генетическими нарушениями [6]. Анализ результатов лечения пациенток исследуемых групп показал, что у значительной части женщин обеих групп с ГЭ без атипии после стандартной гормонотерапии отмечается рецидивирование или прогрессирование в гиперплазию с атипией. Причем частота рецидивов была большей в группе пациенток с наличием микросателлитной нестабильности генома ($p < 0,01$) и несколько меньше – у женщин с эпигенетическим нарушением гена ESR ($p < 0,01$, по сравнению с контрольной группой).

Анализ результатов гормонотерапии у больных в менопаузе показал тенденцию, аналогичную пациентам, находящимся в перименопаузе. Так, лучшие результаты лечения получены в контрольной группе больных. Развитие одной из анализируемых нами генетической патологии сопровождается ухудшением эффективности лечения. Причем количество женщин, у которых эндометрий оказался мало- или нечувствительный к стандартным дозам гормонотерапии, значительный, а худшие результаты получены при наличии у

пациенток с фенотипом MSI+ ($p < 0,01$, по сравнению с контрольной группой).

Проводя анализ в общей группе больных, можно говорить о достоверной связи между эффективностью проводимой гормонотерапии и наличием у пациенток метилирования гена ESR или микросателлитной нестабильности генома.

Таким образом, суммируя полученные данные, можно говорить о двух аспектах в частоте развития рецидивов и прогрессировании заболевания у больных с ГЭ без атипии. Эти аспекты – возраст и наличие у пациентки одного из анализируемых нами генетических факторов: MSI или метилирования гена ESR. Так, результаты лечения данной категории больных имеют четкую связь с возрастом. Лучшие результаты отмечены у женщин более молодого – репродуктивного возраста. С увеличением возраста частота рецидивов и прогрессирования заболевания у больных с ГЭ возрастала. Однако еще в большей степени эффективность гормонотерапии зависела от наличия у пациенток фенотипа MSI+ или нарушения экспрессии гена ESR. Кроме того, существует корреляция между исследуемыми показателями. В частности, в репродуктивном возрасте часто встречается гиперплазия эндометрия без атипии, но реже встречаются генетические нарушения. Именно поэтому, вероятно, все пациентки контрольной группы хорошо отреагировали на стандартную гормонотерапию, а за истекший период наблюдения случаев рецидива и прогрессирования заболевания диагностировано не было. С возрастом, при развитии предраковой патологии и рака, первыми появляются эпигенетические нарушения [2, 6]. В нашем исследовании их также было больше, чем генетических – микросателлитной нестабильности генома. Развитие данной патологии снижает эффективность лечения, что четко прослежено с учетом возрастного периода женщин – частота рецидивов и прогрессирования заболевания у больных с ГЭ контрольной группы была достоверно ниже. Худшие результаты терапии отмечены при наличии у пациенток фенотипа MSI+. Развитие у пациенток метилирования гена ESR важно не только тем, что сопровождается достоверным снижением результатов лечения, но и тем, что количество данного вида генетических нарушений больше и, следовательно, их вклад в частоту развития рецидивов и прогрессирования заболевания у больных с ГЭ без атипии даже весомее, чем вклад более серьезного генетического нарушения – нарушения функции генов, репарирующих поврежденную в процессе деления клетки ДНК.

ВЫВОДЫ

1. Диагностирование у больных с ГЭ микросателлитной нестабильности генома или метилирования гена ESR не влияет на клиническую картину заболевания, но коррелирует с эффективностью лечения.
2. Наличие MSI или метилирования гена ESR достоверно снижает эффективность стандартной гормонотерапии больных с ГЭ без атипии.
3. Эффективность гормонотерапии ГЭ снижается с увеличением возраста пациенток, что может быть связано с большим количеством генетических нарушений у больных старшего возраста.

Вплив мікросателітної нестабільності геному та метилування гена ESR на ефективність використання гормонотерапії у хворих з гіперплазією ендометрія
М.О. Щербина, М.О. Карташова

У 83 хворих з гіперплазією ендометрія (ГЕ) без атипії вивчена ефективність використання гормонотерапії залежно від віку, наявності микросателітної нестабільності (MSI) та метилування гена ESR. Показано, що ефективність стандартної гормонотерапії знижується зі збільшенням віку пацієнток, а наявність MSI або метилування гена ESR достовірно збільшують частоту рецидивів ГЕ.
Ключові слова: гіперплазія ендометрія, микросателітна нестабільність (MSI), ген ESR, клінічні прояви, гормонотерапія.

Influence of microsatellite instability and methylation of gene ESR on efficiency of application hormone therapy at patients with endometrial hyperplasia
N.A. Shcherbina, M.A. Kartashova

At 83 patients with endometrial hyperplasia (EH) without atypia efficiency of application hormone therapy depending on age, pres-

ence of microsatellite instability (MSI) and methylation of gene ESR is studied. It is shown that efficiency standard hormone therapy decreases with increase in age of patients, and presence MSI or methylation of gene ESR authentically increase frequency of relapses EH.

Key words: endometrial hyperplasia, microsatellite instability (MSI), gene ESR, clinical presentations, hormone therapy

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочкарева Н.В. Особенности метаболизма и рецепции эстрогенов при гиперпластических процессах и раке эндометрия: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Томск, 2007. – 40 с.
2. Жук С.И. Использование неконтрацептивных эффектов левоноргестрелвыделяющей внутриматочной системы // Здоровье женщины – 2010. – Т. 56, № 10. – С. 57–58.
3. Мельник М.М., Воробйова Л.И., Неспрядько С.В., Пустоваров С.Ю. Клініко-морфологічне значення визначення імуногістохімічних маркерів при передпухлинних процесах та раку ендометрія // Здоровье женщины. – 2011. – Т. 59, № 3. – С. 213–218.
4. Татарчук Т.Ф., Бурлака Е.В. Современные принципы диагностики и лечения гиперпластических процессов эндометрия // Здоровье женщины. – 2003. – Т. 16, № 4. – С. 107–114.
5. Coupier I, Pujol P. Hereditary predispositions to gynaecological cancers // Gynecol. Obstet. Fertil. – 2005. – V. 33, № 11. – P. 851–856.
6. 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.
7. Sorosky J.I. Endometrial Cancer // Obstet. Gynecol. – 2008. – № 111. – P. 439–447.
8. Kwon J.S., Elit L., Saskin R. et al. Secondary cancer prevention during followup for endometrial cancer // Obstet Gynecol. – 2009. – № 113. – P. 790–795.
9. Llobet D., Pallares J., Yeramian A., Santacana M. Molecular pathology of endometrial carcinoma: practical aspects from the diagnostic and therapeutic viewpoints // J.Clin. Pathol. – 2009. – V. 62. – P. 777–785.
10. Hu K, Zhong G, He F. Expression of estrogen receptors ER α and ER β in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma // Int. J. Gynecol. Cancer. – 2005. – V. 15. – P. 537–541.

НОВОСТИ МЕДИЦИНЫ

ГРУДНОЕ МОЛОКО ПОЛЕЗНО ДЛЯ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

Статистика свидетельствует, что на территории Великобритании ежегодно раньше срока рождается более 60 000 детей. Такие дети больше подвержены возникновению проблем со здоровьем.

Особенно это актуально для кишечных заболеваний и расстройств, в частности, некротизирующего энтероколита.

Ученые из британского Оксфордского университета провели исследование в 54 британских больницах одновременно. Суть эксперимента состояла в том, что поло-

вина младенцев, родившихся раньше срока, впервые получала молоко на 2-й день жизни, а вторая половина - на 6-й день. При этом 75% детей получало материнское грудное молоко, а 25% - грудное молоко кормилицы и молочные смеси.

Полностью на молочное питание дети переходили так:

I группа - на 18-й день жизни;

II группа - на 21-й день жизни.

Детям из первой группы специальное медицинское наблюдение было необходи-

мо в среднем в течение 11 дней, а детям из второй группы - 15 дней.

В первой группе проблемы с кишечником наблюдались у 15% детей, а во второй - у 18%. По остальным аналогичным расстройствам уровень риска в первой группе детей снизился от 3 до 7%.

Исследователи утверждают, что особенная система кормления ребенка в первые дни и месяцы жизни в значительной степени снижает риск возникновения расстройств со здоровьем.

Источник: <http://dr20.ru>