

ПРИМЕНЕНИЕ ГОРМОНОТЕРАПИИ ПРИ АТИПИЧЕСКОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ У БОЛЬНЫХ, ИМЕЮЩИХ МИКРОСАТЕЛЛИТНУЮ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ И МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНА ESR

Проф. Н. А. ЩЕРБИНА, М. А. КАРТАШОВА

Харьковский национальный медицинский университет

Изучена эффективность применения гормонотерапии в зависимости от возраста, наличия микросателлитной нестабильности (MSI) и метилирования гена ESR у 67 больных с атипической гиперплазией эндометрия. Показано, что независимо от возраста эффективность стандартной гормонотерапии достоверно снижается при диагностировании у больных MSI, метилирования гена ESR или их сочетания, что требует своевременной коррекции терапии или использования более радикальных методов лечения.

Ключевые слова: атипическая гиперплазия эндометрия, микросателлитная нестабильность, ген ESR.

Рак эндометрия (РЭ) является ведущей нозологической формой среди онкогинекологических заболеваний, а две трети больных относятся к I патогенетическому варианту и имеют предшествующие данному процессу предраковые изменения — атипическую гиперплазию эндометрия (АГЭ) [1, 2]. Современные тенденции лечения рака и предрака заключаются в применении органосохраняющих методов, а существующие подходы к лечению больных с АГЭ имеют разную эффективность — от полного излечения до рецидива и дальнейшей прогрессии [3, 4]. Такой разброс в показателях эффективности связан с биологическими особенностями патологических процессов эндометрия и требует поиска новых прогностических маркеров [5]. Биологическим маркером, определяющим агрессивность патологического процесса в эндометрии и эффект лечения, может быть метилирование гена ESR [6]. Кроме того, в 15–40% случаев РЭ в опухоли наблюдается высокая генетическая нестабильность, которая выявляется по результату анализа микросателлитных маркеров — микросателлитная нестабильность (MSI+). Это значит, что мутантными могут быть гены ферментов репарации ДНК [4, 7]. Предполагают, что MSI развивается при доброкачественной патологии эндометрия и способствует прогрессии заболевания, что требует дальнейшего изучения [7, 8].

Таким образом, определение связи между эффективностью лечения АГЭ и лежащими в ее основе молекулярными повреждениями открывает перспективы выявления новых маркеров для улучшения результатов терапии и профилактики карциномы эндометрия.

Цель исследования — изучить клиническую эффективность, частоту рецидивов и прогрессий АГЭ при использовании гормонотерапии у больных в зависимости от возраста, наличия MSI и метилирования гена ESR.

Было обследовано 67 больных с АГЭ в возрасте от 35 до 69 лет, средний возраст которых составил $55,7 \pm 5,3$ года. Больные были разделены на 3 группы: группа 1 — больные с наличием MSI ($n = 15$); группа 2 — больные с метилированием гена ESR ($n = 22$), группа 3 — больные с наличием MSI и метилированием гена ESR ($n = 10$). Контрольную группу составили 20 больных с АГЭ без исследуемых генных нарушений. Диагноз во всех случаях был верифицирован морфологически после диагностического выскабливания и/или гистероскопии с прицельной биопсией. Гистологическое исследование тканей проводилось в соответствии со стандартной методикой.

У всех больных в ткани методом полимеразно-цепной реакции было изучено наличие MSI+ и метилирование гена ESR. После выделения ДНК из ткани (гиперплазированный эндометрий) фенольным методом выявляли 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. Всем больным была проведена гормонотерапия по схеме согласно Протоколу МЗ Украины от 31.12.2004 г. № 676. Эффективность применения гормонотерапии оценивали по частоте жалоб, рецидивов и прогрессий заболевания. Полученные в результате исследования данные обрабатывались по общепринятым методам вариационной статистики с использованием критерия χ^2 .

Полученные данные о клинической эффективности применения гормонотерапии у больных репродуктивного и перименопаузального возраста с АГЭ в зависимости от наличия MSI+ и метилирования гена ESR показали (табл. 1), что частота ациклических кровянистых выделений до начала

лечения в процентном отношении была примерно одинаковой независимо от наличия у пациенток микросателлитной нестабильности, эпигенетического нарушения гена ESR или обоих типов генетических нарушений. После 3 мес лечения частота ациклических кровянистых выделений в контрольной группе больных и при наличии обоих видов нарушений снизилась в 1,5 раза, при наличии у женщин MSI+ — в 1,25 раза и в группе с метилированием гена ESR — в 1,4 раза. После окончания лечения анализируемый симптом выявлялся значительно реже, причем наибольший клинический эффект отмечен в контрольной группе больных (частота жалоб уменьшилась в 6 раз). В остальных группах больных частота ациклических кровянистых выделений сократилась в меньшей степени и зависела от вида генетических изменений. Лучший клинический эффект достигнут при наличии у пациенток эпигенетических нарушений гена ESR (частота жалоб уменьшилась в 3,5 раза), а худший — в группе больных с сочетанием фенотипа MSI+ и нарушением экспрессии гена ESR (частота жалоб уменьшилась в 1,5 раза).

До начала лечения частота пред- и постменструальных кровянистых выделений в анализируемых группах исходно отличалась: выделения реже всего встречались в группе больных с обоими типами генетических нарушений (30%) и чаще — у больных с наличием метилирования гена ESR (45% случаев).

Промежуточный анализ эффективности проводимого лечения показал четкую положитель-

ную динамику во всех группах больных. После завершения терапии лучший эффект был получен в контрольной группе и группе 2 — частота жалоб уменьшилась в 8 и 5 раз соответственно. Эффективность лечения пациенток с микросателлитной нестабильностью (группа 1) или обоими видами генетических нарушений (группа 3) была меньшей (частота жалоб снизилась в 3 раза).

Частота меноррагий до начала лечения колебалась от 33,3% у больных с наличием фенотипа MSI+ до 50% у пациенток контрольной группы. Эффект от проводимого лечения через 3 мес выявлен во всех группах больных (от 1,25 раза при наличии фенотипа MSI+ до 2,5 раза в контрольной группе). После завершения лечения частота меноррагий значительно снизилась, однако колебания эффективности также были значительными. Наибольший эффект отмечен в контрольной группе и у пациенток группы 1 (частота меноррагий снизилась в 10 и 5 раз соответственно).

До начала лечения боли внизу живота, связанные с менструацией, наблюдались в 20–31,8% случаев. Промежуточный анализ эффективности проводимого лечения показал положительную динамику во всех группах больных, кроме пациенток с наличием MSI+. В то же время по истечении 6 мес во всех группах была отмечена эффективность лечения: частота жалоб снизилась в контрольной группе в 5 раз; в группе с эпигенетическим нарушением гена ESR — в 3,5 раза; а у больных с MSI+ и с обоими видами генетических нарушений боли внизу живота, связанные с менструацией, исчезли.

Таблица 1

Клиническая эффективность применения гормонотерапии у больных репродуктивного и перименопаузального возраста с АГЭ в зависимости от наличия MSI и метилирования гена ESR

Клинические проявления	Сроки анализа	Частота клинических проявлений, абс. ч. / %			
		Контрольная группа	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Ациклические кровянистые выделения	до лечения	6 / 30,0	5 / 33,3	7 / 31,8	3 / 30,0
	через 3 мес	4 / 20,0	4 / 26,7	5 / 22,7	2 / 20,0
	через 6 мес	1 / 5,0	2 / 13,3	2 / 9,1	2 / 20,0
Пред- и постменструальные кровянистые выделения	до лечения	8 / 40,0	6 / 40,0	10 / 45,5	3 / 30,0
	через 3 мес	4 / 20,0	5 / 33,3	7 / 31,8	2 / 20,0
	через 6 мес	1 / 5,0	2 / 13,3	2 / 9,1	1 / 10,0
Меноррагии	до лечения	10 / 50,0	5 / 33,3	10 / 45,5	4 / 40,0
	через 3 мес	4 / 20,0	4 / 26,7	8 / 36,3	2 / 20,0
	через 6 мес	1 / 5,0	1 / 6,7	2 / 9,1	1 / 10,0
Боли внизу живота, связанные с менструацией	до лечения	5 / 25,0	3 / 20,0	7 / 31,8	2 / 20,0
	через 3 мес	3 / 15,0	3 / 20,0	3 / 13,6	—
	через 6 мес	1 / 5,0	—	2 / 9,1	—
Боли внизу живота, не связанные с менструацией	до лечения	3 / 15,0	2 / 13,3	3 / 13,6	2 / 20,0
	через 3 мес	—	1 / 14,3	2 / 9,1	2 / 20,0
	через 6 мес	—	—	1 / 4,5	—

Боли внизу живота, не связанные с менструацией, встречались реже, чем при менструации, а их частота колебалась от 13,3% (группа 1) до 20,0% (группа 3). Оценка результатов терапии через 3 мес от ее начала выявила положительный результат во всех группах больных, кроме пациенток, имеющих сочетание MSI+ с метилированием гена ESR. После окончания лечения его эффективность была отмечена во всех группах больных и характеризовалась исчезновением болей внизу живота, не связанных с менструацией, за исключением пациенток, имеющих нарушение функции гена ESR, у которых частота данного симптома уменьшилась в 3 раза.

Таким образом, проведенный анализ клинической эффективности применения гормонотерапии у больных репродуктивного и перименопаузального возраста с АГЭ в зависимости от наличия MSI+ и нарушения функции гена ESR позволил установить ряд тенденций. Во-первых, большинство пациенток всех групп до начала лечения имели сходную частоту жалоб. Отличия состояли в показателях частоты меноррагий и в меньшей степени болей внизу живота. Однако указанные симптомы не зависели от анализируемых генетических нарушений. Во-вторых, анализ эффективности лечения, проводимый через 3 мес, показал, что на данном этапе есть четкая тенденция к снижению частоты типичных симптомов. Данная тенденция сохраняется и на протяжении последующих месяцев лечения. Следовательно, промежуточный анализ эффективности лечения является важным этапом терапии, который необходимо проводить для определения и коррекции дальнейшей тактики. В-третьих, у больных репродуктивного и перименопаузального возраста с АГЭ эффективность лечения была различной в анализируемых группах. Наибольшее снижение частоты симптомов заболевания наблюдалось в контрольной группе больных, а в остальных группах эффективность была ниже в 1,5–3 раза и также зависела от вида генетического нарушения. Так, наименьшее снижение

частоты симптомов наблюдалось в группе больных, имеющих сочетание микросателлитной нестабильности генома с нарушением экспрессии гена ESR.

Данные об эффективности лечения больных с АГЭ, получавших гормонотерапию, в зависимости от возраста, наличия MSI+ и метилирования гена ESR представлены в табл. 2, из которой видно, что частота рецидивов и прогрессий АГЭ во всех обследуемых группах зависела от возрастного периода женщин и была большей в менопаузе. Больные репродуктивного возраста независимо от наличия MSI+ и метилирования гена ESR имели лучшие результаты лечения.

Анализ эффективности лечения больных репродуктивного возраста показывает, что в контрольной группе рецидивы отсутствовали. Наличие у больных эпигенетического нарушения гена ESR ухудшило результаты лечения, и в 28,6% случаев был отмечен рецидив АГЭ. Худшие результаты зафиксированы в группе пациенток с фенотипом MSI+, а в случае сочетания у больных микросателлитной нестабильности генома с нарушенной функцией гена ESR достигнуты несколько лучшие показатели. О достоверности полученных результатов говорить некорректно из-за небольшого количества пациенток, имеющих микросателлитную нестабильность генома или сочетание MSI+ с метилированием гена ESR. Однако в целом для женщин данного возрастного периода при развитии у них генетических нарушений характерно значительное снижение эффективности гормонотерапии.

Пациентки в перименопаузе хуже реагировали на проводимые методы лечения. Так, частота рецидивов АГЭ в контрольной группе составила 22,2%. Развитие у женщин генетических нарушений сопровождалось значительным снижением эффективности лечения. Достоверно худшие результаты по сравнению с контролем получены в группах пациенток с микросателлитной нестабильностью генома (60,0% случаев рецидивов, $p < 0,05$) и при сочетании MSI+ с метилированием

Таблица 2

Частота рецидивов и прогрессий заболевания у больных с АГЭ, получавших гормонотерапию, в зависимости от возраста, наличия MSI+ и метилирования гена ESR

Возрастной период	Частота рецидивов и прогрессий, абс. ч. / %			
	Контрольная группа	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Репродуктивный, $n = 20$	— / — $n = 8$	2 / 66,6±27,1 $n = 3$	2 / 28,6±17,2 $n = 7$	1 / 50,0 $n = 2$
Перименопауза, $n = 37$	2 / 22,2±13,8 $n = 9$	6 / 60,0±15,5* $n = 10$	6 / 50,0±14,4 $n = 12$	4 / 66,7±19,2** $n = 6$
Менопауза, $n = 10$	1 / 33,3 $n = 3$	2 / 100,0±70,7 $n = 2$	2 / 66,7±27,1 $n = 3$	2 / 100,0±70,7 $n = 2$
Всего, $n = 67$	3 / 15,0±8,0 $n = 20$	10 / 66,6±12,7** $n = 15$	10 / 45,5±10,6** $n = 22$	7 / 70,0±14,5** $n = 10$

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ — различия статистически достоверны по сравнению с контролем.

ем гена ESR (66,7% случаев рецидивов, $p < 0,01$). У пациенток с нарушением экспрессии гена ESR результаты лечения были в 2,3 раза хуже показателей в группе контроля ($p > 0,05$). К особенностям женщин данной возрастной категории следует отнести не только значительное различие в частоте рецидивов АГЭ в зависимости от генетических факторов, но и их значительный процент — более чем в половине случаев наблюдений были отмечены рецидивы и прогрессии атипической гиперплазии в карциному эндометрия.

Количество пациенток с АГЭ в менопаузе в анализируемых группах было небольшим, что не позволяет говорить о достоверности результатов. Однако выявленные в данной возрастной категории тенденции совпадают с полученными результатами у пациенток других возрастных групп. В этой связи мы с большим основанием можем говорить о наличии корреляции между частотой рецидивов и генетическими нарушениями. В частности, в контрольной группе частота рецидивов АГЭ была наименьшей. Худшие результаты получены в группах пациенток с фенотипом MSI+ и в случае сочетания микросателлитной нестабильности с эпигенетическим нарушением гена ESR. Результаты лечения пациенток с метилированием гена ESR были в 2 раза хуже показателей у больных группы контроля.

Таким образом, проведенный анализ указывает на значительные колебания показателей частоты развития рецидивов и прогрессий заболевания у больных с АГЭ, при этом результаты лечения зависят от возраста и наличия у пациентки MSI+ и/или метилирования гена ESR. У женщин репродуктивного возраста получены лучшие результаты лечения. С возрастом частота рецидивов и прогрессий заболевания у больных увеличивалась. Однако наличие у пациенток микросателлитной нестабильности генома, эпигенетического нарушения гена ESR или их сочетания снижает эффективность проводимого лечения. Такая зависимость прослеживается у женщин всех возрастных групп и имеет четкую связь с видом нарушения. В частности, нарушение экспрессии гена ESR приводит к достоверному увеличению частоты

рецидивов АГЭ (в 3 раза по сравнению с контрольной группой, $p < 0,01$). Диагностирование у пациенток микросателлитной нестабильности генома сопровождается еще большим (в 1,4 раза по сравнению с больными, имеющими метилирование гена ESR) увеличением количества рецидивов и прогрессий заболевания. Сочетание у пациенток MSI+ и метилирования гена ESR незначительно снизило эффективность лечения по сравнению с группой больных, имеющих только микросателлитную нестабильность генома (70,0 и 66,6% случаев рецидивов соответственно). Полученные данные указывают, что наличие у больных с АГЭ генетического нарушения в виде MSI+, метилирования гена ESR или их сочетания многократно снижает эффективность стандартной гормонотерапии. Такое снижение эффективности лечения может быть обусловлено, с нашей точки зрения, следующим аспектом. Указанные генетические нарушения влияют не только на развитие и эффективность лечения атипической гиперплазии, но и являются факторами прогрессии гиперплазии эндометрия без атипии в атипическую и в дальнейшем — в карциному.

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы.

Наличие у больных с АГЭ микросателлитной нестабильности генома, метилирования гена ESR или их сочетания не имеет характерных клинических проявлений.

Уменьшение частоты и выраженности клинических проявлений АГЭ в процессе гормонотерапии может быть использовано в качестве вспомогательного критерия при оценке ее эффективности.

Независимо от возраста больных эффективность стандартной гормонотерапии АГЭ достоверно снижается при диагностировании у больных MSI+, метилирования гена ESR или их сочетания.

Большая частота рецидивов и прогрессий АГЭ при использовании гормонотерапии у больных, имеющих MSI+ или сочетание MSI+ с метилированием гена ESR, требует своевременной коррекции терапии или использования более радикальных методов лечения.

Литература

1. Бохман Я. В. Руководство по онкогинекологии.— СПб.: Спец. лит., 2002.— 542 с.
2. Седаков И. Є. Щодо проблем онкологічної служби України // Новоутворення.— 2011.— Т. 8, № 2.— С. 3,—9.
3. Татарчук Т. Ф., Бурлака Е. В. Современные принципы диагностики и лечения гиперпластических процессов эндометрия // Здоровье женщины.— 2003.— Т. 16, № 4.— С. 107—114.
4. Secondary cancer prevention during follow-up for endometrial cancer / J. S. Kwon, L. Elit, R. Saskin et al. // *Obstet Gynecol.*— 2009.— Vol. 113.— P. 790—795.
5. Клініко-морфологічне значення визначення імуністохімічних маркерів при передпухлинних процесах та раку ендометрію / М. М. Мельник, Л. І. Воробйова, С. В. Неспрядько, С. Ю. Пустоваров // *Здоровье женщины.*— 2011.— Т. 59, № 3.— С. 213—218.
6. Бочкарева Н. В. Особенности метаболизма и рецепции эстрогенов при гиперпластических процессах и раке эндометрия: дис. ... д-ра мед. наук.— Томск, 2007.— 40 с.
7. Казубская Т. П. Генетические основы этиологической гетерогенности злокачественных новообразований: дис. ... д-ра мед. наук.— М., 2010.— 36 с.
8. Treatment of endometrial hyperplasia without atypia in