
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ

О.А. Слюсарева

Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

В статье описываются современные молекулярные методы диагностики гиперплазии эндометрия.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, PTEN, PAX, COX-2, K-ras, β -катенин, bcl2, bax, Ki-67, PCNA

До настоящего времени не выявлены универсальные молекулярно-генетические предикторы формирования гиперплазии эндометрия (ГЭ), несмотря на большое количество публикаций, посвященных данной проблеме. Биологическое своеобразие эндометрия состоит в том, что эта гормоночувствительная ткань обладает способностью не только к циклическому обновлению почти всего клеточного состава, но и к определенному реагированию на все изменения гормонального статуса на уровне целого организма [12; 14; 16]. Основные патофизиологические механизмы возникновения ГЭ сводятся к следующим: чрезмерное воздействие эстрогенов, при недостатке прогестерона, нарушение экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов, усиление ангиогенеза, дискоординация между пролиферацией и апоптозом и многие другие [4—6; 8; 13].

Мнение различных исследователей о содержании рецепторов в патологически измененном эндометрии неоднозначно, хотя большинство авторов отмечают зависимость их содержания от формы патологии. Многие исследователи указывают на повышенное содержание эстрогеновых рецепторов при железистой ГЭ, постепенное их уменьшение при атипической ГЭ и низкое содержание при раке эндометрия (РЭ) [3]. Изменения рецепторного аппарата клеток эндометрия могут быть обусловлены травматическими повреждениями слизистой оболочки матки при многократных абортах и диагностических выскабливаниях, а также воспалительными процессами, которые определяют у 46—59% больных с ГЭ [3; 11].

Ряд авторов предполагают, что развитию ГЭ способствует чрезмерная пролиферация, что подтверждается увеличением экспрессии PCNA (proliferating cell nuclear antigen) — маркера, отражающего процессы репарации ДНК в пролиферирующих клетках [1; 8].

Результаты целого ряда других исследований опровергают эту точку зрения, указывая на снижение пролиферативной активности при простой ГЭ по экспрессии Ki-67 [1; 8]. Поэтому вопрос о роли пролиферации в генезе ГЭ остается до настоящего времени дискуссионным.

В последнее время все больше внимания уделяется экспрессии проапоптических и антиапоптических белков. Экспрессия проапоптического белка Вах продолжается на протяжении всего менструального цикла, в то время как экспрессия

антиапоптического белка Bcl-2 регулируется эстрогенами и достигает пика в фазу пролиферации, а самого низкого уровня — во время секреторной фазы и менструации [7]. С точки зрения диагностической значимости считается соотношение Bcl2 к Вах, причем ряд авторов отмечает его снижение при разных типах ГЭ и РЭ по сравнению с морфологически неизменным эндометрием [3]. В других исследованиях обнаружена противоположная закономерность, что связано с несовершенством методических подходов [8].

Исследования последних лет показывают, что в основе злокачественного перерождения клеток и развития опухолей лежат мутационные повреждения генов, контролирующих рост, пролиферацию, дифференцировку и апоптоз соматических клеток [9; 10]. Только совокупность таких изменений, приобретаемая, как правило, в результате длительной эволюции неопластических клонов, в ходе которой происходит отбор клеток с необходимыми признаками, может обеспечить развитие злокачественного новообразования [4].

Вероятность возникновения в одной клетке нескольких генетических изменений резко повышается при нарушениях функционирования систем, контролирующих целостность генома, при приобретении клеткой так называемого мутаторного фенотипа. Для характеристики мутаторного фенотипа на молекулярном уровне в клетках рака эндометрия и в ткани гиперплазированного эндометрия исследуется нестабильность микросателлитов (microsatellite instability — MSI) различных локусов. При сравнении длин микросателлитов, амплифицированных с помощью ПЦР, после электрофоретического разделения ее продуктов и выявляется мутаторный фенотип при раке многих локализаций. Однако результаты проводимых исследований пока не позволяют с большой точностью сделать заключение о том, является ли MSI абсолютным критерием злокачественного роста в эндометрии или она может обнаруживаться при ГЭ не только при наличии, но и в отсутствие атипии [2].

Значительный прогресс в понимании механизмов канцерогенеза связан с открытием сначала онкогенов и протоонкогенов, а затем — опухолевых супрессоров и мутаторных генов.

Экспрессия гена-супрессора опухолевого роста PTEN увеличивается в нормальном эндометрии в пролиферативной фазе, когда, по всей видимости, он контролирует выраженность пролиферации, и снижается в секреторной фазе под действием прогестерона [17]. В нескольких исследованиях показано, что частота выявления мутаций в гене PTEN прогрессивно увеличивается в цепочке: ГЭ без атипии — атипичная ГЭ — инвазивный рак. Авторы продемонстрировали, что частота мутаций PTEN в нормальном эндометрии составляет 0%, в очагах эндометриальной интраэпителиальной неоплазии (ЭИН) — 55%, а при эндометриальной аденокарциноме — 83%. В другом исследовании снижение инактивации PTEN при латентном предраке эндометрия встречалось в 40%, а при ЭИН — в 63%. Подавление экспрессии белка PTEN в железах эндометрия при лечении гестагенами позволило использовать его для оценки чувствительности к гормональной терапии [2; 15].

При раке эндометрия с MSI-мутации в протоонкогене K-ras, кодирующем белок, локализующийся на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны, участвующий в передаче сигнала в клетку, встречаются в 42,8% случаев, в то время как без MSI — в 11%, что свидетельствует о характерности мутаций в гене K-ras для рака эндометрия с мутаторным фенотипом. Отмечено также, что мутации в гене PTEN при раке эндометрия никогда не сочетаются с мутациями в гене K-ras [7].

Мембранная экспрессия β -катенина прогрессивно уменьшается в ряду: нормальный эндометрий — атипичная ГЭ — РЭ. Накопление β -катенина при иммуногистохимическом окрашивании более выражено при атипичной ГЭ и РЭ по сравнению с ГЭ без атипичии [7]. Мутации в 3 экзоне гена CTNNB1, проявляющиеся в повышении уровня β -катенина, встречаются при эндометриоидной аденокарциноме в 14—44% случаев и при раке яичников в 10—30% случаев. Мутации в гене CTNNB1 встречаются независимо от MSI, мутаций в генах PTEN и K-Ras [7].

Экспрессия гена PAX2 в эндометрии позволяет предполагать, что этот белок играет важную роль в пролиферации и самообновлении эндометрия [2]. Снижение экспрессии PAX2 коррелирует со злокачественной трансформацией эндометрия и эпителия шейки матки. Количественный анализ РНК PAX2 показал высокий уровень экспрессии этого белка в нормальном пролиферирующем эндометрии, двукратное снижение на фоне лечения тамоксифеном и падение в 5 раз при раке эндометрия. Также продемонстрировано, что частота отсутствия экспрессии PAX2 увеличивается в ряду нормальный эндометрий — ЭИН — РЭ от 36% до 71% и 77% соответственно. В этом исследовании потеря экспрессии PAX2 в сочетании с отсутствием экспрессии PTEN рассматривается как маркер предракового состояния. В другом исследовании частота полной потери PAX2 напрямую зависела от изменений эндометрия, встречаясь в ряду нормальный эндометрий — простая ГЭ — сложная ГЭ — атипичная ГЭ — РЭ в 0%, 17,4%, 59%, 74,1% и 73,3% соответственно. Авторы приходят к выводу, что потеря PAX2 происходит на ранних стадиях канцерогенеза при РЭ [2].

Считается, что экспрессия циклооксигеназы-2 (COX-2) — неблагоприятный прогностический признак при неопластических процессах, так как COX-2 стимулирует образование простагландинов. Повышение экспрессии COX-2 в ряду ГЭ — инвазивный эндометриоидный рак матки позволило даже предположить, что блокада COX-2 способна приостановить прогрессирование процесса [17]. Однако в исследовании показано, что снижение экспрессии COX-2 гиперплазированным эндометрием — независимый фактор риска прогрессии ГЭ в РЭ. В этом исследовании нормальный пролиферирующий эндометрий был позитивен по COX-2 в 90% случаев и только в 10% — негативен, в то время как в гиперплазированном эндометрии COX-2 отсутствовала уже в 28% случаев, а в очагах ЭИН — в 38%. В нормальном эндометрии и на ранних стадиях ГЭ COX-2 обеспечивает децидуализацию и обладает антипролиферативной активностью. В таком случае включение активности COX-2 в присутствии таких индукторов пролиферации, как интерлейкин-1, лептин и др., может способствовать ускорению пролиферации эндометрия и накоплению мутаций [17].

В этом же исследовании продемонстрировано, что увеличение экспрессии P16 также ассоциируется с повышением риска развития РЭ. Хотя P16 обладает антипролиферативной активностью, у 5 из 8 больных с очень высоким его уровнем развился рак эндометрия [18]. В других работах также показано увеличение продукции P16 при ГЭ [7]. Авторы объясняют существенное повышение P16, особенно у больных с пониженной экспрессией COX-2, последней попыткой организма остановить патологическую пролиферацию эндометрия [17].

В исследовании путем многофакторного анализа проанализирована прогностическая значимость морфометрического показателя D-score и 16 молекулярно-генетических маркеров, потенциально значимых для развития рака эндометрия (СК — 5/6, P 53, P 63, P 27, survivin, Bcl 2, P16, P 21, PTEN, β -catenin, cyclin E, COX-2, Akt, mTor, Histone 3, Her-2) у 307 женщин с различными типами гиперплазии эндометрия. Прогностически значимыми показателями для прогрессии ГЭ в рак оказались 3 из них — D-score ≤ 1 , снижение экспрессии COX2 и увеличение экспрессии P16 [17].

Долгое время знания о каждом из описанных онкогенов и опухолевых супрессоров носили отрывочный характер и были в значительной мере не связанными между собой. И лишь в самые последние годы стала вырисовываться общая картина, показывающая, что подавляющее большинство известных протоонкогенов и опухолевых супрессоров являются компонентами нескольких общих сигнальных путей, контролирующих клеточный цикл, апоптоз, целостность генома, морфогенетические реакции и дифференцировку клеток.

Не исключено, что изменения именно в этих сигнальных путях вносят основной вклад в развитие злокачественных новообразований эндометрия. Несмотря на достигнутый в последние годы значительный прогресс в понимании базовых механизмов канцерогенеза, многие вопросы остаются неясными. Среди них важное место занимают вопросы о механизмах тканеспецифичного действия онкогенов и опухолевых супрессоров, а также о путях инактивации антионкогенов. До настоящего времени не установлены единые морфологические критерии предрака и начальных форм рака. Дополнительные методы диагностики фоновых процессов в эндометрии, предрака и рака эндометрия нуждаются в углубленном исследовании [2; 8].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- [1] Abike F., Tapisiz O.L., Zegeroglu S., et al. PCNA and KI-67 in endometrial hyperplasias and evaluation of the potential of malignancy. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 2011. Vol. 32. No. 1. P. 77—80.
- [2] Allison K.H., Upson K., Reed S.D. et al. PAX2 loss by immunohistochemistry occurs early and often in endometrial hyperplasia. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2012. Vol. 31. No. 2. P. 151—159.
- [3] Amalinei C., Cianga C., Balan R. et al Immunohistochemical analysis of steroid receptors, proliferation markers, apoptosis related molecules, and gelatinases in non-neoplastic and neoplastic endometrium. *Ann. Anat.* 2011. Vol. 193. No. 1. P. 43—55.
- [4] Antonsen S.L., Ulrich L., Høgdall C. Patients with atypical hyperplasia of the endometrium should be treated in oncological centers. *Gynecol. Oncol.* 2012. Vol. 125. No. 1. P. 124—128.

- [5] Armstrong A.J., Hurd W.W., Elguero S. et al. Diagnosis and management of endometrial hyperplasia. *J. Minim. Invasive. Gynecol.* 2012. Vol. 19. No. 5. P. 562—571.
- [6] Chernuha G.E., Dumanovskaya M.R. Current views on endometrial hyperplasia. *Obstetrics and Gynecology.* 2013. No. 3. P. 26—32.
- [7] Chernuha G.E., Dumanovskaya M.R., Burmenskaya O.V. et al. Expression of genes which regulate apoptosis in different types of endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma. *Obstetrics and Gynecology.* 2013. No. 1. P. 63—69.
- [8] Daud S., Jalil S.S., Griffin M. Endometrial hyperplasia — the dilemma of management remains: a retrospective observational study of 280 women. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2011. Vol. 159. No. 1. P. 172—175.
- [9] Gallos I.D., Ofinran O., Shehmar M. et al. Current management of endometrial hyperplasia—a survey of United Kingdom consultant gynaecologists. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2011. Vol. 118. No. 2. P. 305—307.
- [10] Gunderson C.C., Fader A.N., Carson K. et al. Oncologic and reproductive outcomes with progestin therapy in women with endometrial hyperplasia and grade 1 adenocarcinoma: a systematic review. *Gynecol. Oncol.* 2012. Vol. 125. No. 2. P. 477—482.
- [11] Gynecology. Guidance for practical training: a training manual. Ed. V.E. Radzinsky. 3rd ed. GEOTAR Media, 2013. P. 552.
- [12] Radzinsky V.E., Fuks A.M. Gynecology. GEOTAR-media, 2014. P. 1000.
- [13] Lacey J.V.Jr., Chia V.M., Rush B.B. Incidence rates of endometrial hyperplasia, endometrial cancer and hysterectomy from 1980 to 2003 within a large prepaid health plan. *Int. J. Cancer.* 2012. Vol. 131. No. 8. P. 1921—1929.
- [14] Morotti M., Menada M.V., Muioli M. et al. Frozen section pathology at time of hysterectomy accurately predicts endometrial cancer in patients with preoperative diagnosis of atypical endometrial hyperplasia. *Gynecol. Oncol.* 2012. Vol. 125. No. 3. P. 536—540.
- [15] Pieczyńska B., Wojtylak S., Zawrocki A. et al. Analysis of PTEN, estrogen receptor α and progesterone receptor expression in endometrial hyperplasia using tissue microarray. *Pol. J. Pathol.* 2011. Vol. 62. No. 3. P. 133—138.
- [16] Reproductive health: Manual guide. Ed. V.E. Radzinsky. Peoples' Friendship University, 2011.
- [17] Steinbakk A., Gudlaugsson E., Aasprong O.G. et al. Molecular biomarkers in endometrial hyperplasias predict cancer progression. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2011. Vol. 204. No. 4. P. 357e1—357e12.

MOLECULAR-BASED DIAGNOSIS METHODS OF THE ENDOMETRIUM HYPERPLASIA

O.A. Slyusareva

Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklay str., 6, Moscow, Russia, 117198

Modern endometrium hyperplasia molecular-based diagnosis methods described in the article.

Key words: endometrial hyperplasia, PTEN, PAX, COX-2, K-ras, β -catenin, bcl2, bax, Ki-67, PCNA