

Куулар Аида Алексеевна

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА ОЗЛОКАЧЕСТВЛЕНИЯ
ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ В РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ**

14.01.01 — акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель:

профессор кафедры акушерства и гинекологии
с курсом перинатологии МИ РУДН,
доктор медицинских наук, профессор

Ордянец
Ирина Михайловна

Официальные оппоненты:

профессор кафедры акушерства и гинекологии
№1 лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый
МГМУ им. И.М. Сеченова, Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор

Унанян
Ара Леонидович

профессор кафедры акушерства и гинекологии
лечебного факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им.
Н.И. Пирогова, Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор

Венедиктова
Марина Георгиевна

Ведущая организация: государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» (101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а).

Защита диссертации состоится « 29 » апреля 2019 г. в 13:00 ч. по адресу: 117333, г. Москва, ул. Фотиевой, д. 6, на заседании диссертационного совета Д.212.203.01 при Российском университете дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского университета дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6) и на сайте <http://dissovet.rudn.ru/>

Автореферат размещен на сайте <http://dissovet.rudn.ru/> « ___ » _____ 2019 г.

Автореферат разослан « ___ » _____ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д.212.203.01
кандидат медицинских наук, доцент

Лебедева
Марина Георгиевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Гиперплазия эндометрия (ГЭ) у женщин репродуктивного возраста занимает лидирующие позиции в структуре гинекологических заболеваний, составляя 30-50% (Табакман Ю.Ю., Солопова А.Х., 2016; Савельева Г.М. и соавт., 2017; Gallos I. et al., 2016). Проблема возникновения ГЭ актуальна как в разрезе профилактики рецидивирования и озлокачествления, так и с позиции возможности восстановления и сохранения репродуктивной функции. В репродуктивном возрасте железистая гиперплазия (ЖГЭ) встречается у 6,1% женщин, атипичская гиперплазия эндометрия (АГЭ) – у 6,6% (Чернуха М.Р. и соавт., 2013; Simpson A. et al., 2014; Sanderson P. et al., 2017). При этом сочетание с миомой матки наблюдается у 30-35% из них, с аденомиозом – у 15-25%, с доброкачественными дисплазиями молочных желез (ДДМЖ) – более чем у 90% (Осиновская Н.С. и соавт., 2012; Радзинский В.Е. и соавт., 2014; Chandra V. et al., 2016).

Частота и сроки озлокачествления ГЭ достаточно вариабельны. По данным одних авторов, частота онкотрансформации эндометрия колеблется от 25% до 50%, по данным других – достигает 80% (Венедиктова М.Г., Доброхотова Ю. Э., 2015; Вовк И.Б., Горбань Н.Е., Борисюк О.Ю., 2016; Siegel R. et al., 2014). Вероятность озлокачествления определяется такими факторами, как возраст пациентки, морфологические особенности, длительность и рецидивы заболевания. ГЭ с атипией является предиктором рака эндометрия (РЭ), который составляет 80% среди всех злокачественных заболеваний эндометрия и обнаруживается у 10-50% пациенток с предоперационным диагнозом «атипичская гиперплазия эндометрия» (Табакман Ю.Ю. и соавт., 2016; Carlson M. et al., 2014; Chandra V. et al., 2016). По мнению многих исследователей, АГЭ, особенно при рецидивирующем ее течении, у 50% пациенток может прогрессировать в инвазивный рак (Унанян А.Л. и соавт., 2016; Сапрыкина Л.В., Доброхотова Ю.Э., 2018; Litta P. et al., 2013). Такой разброс, безусловно, также связан с различиями в возрасте больных, наличием и локализацией участков атипии, особенностями строения эндометриальных желез и выраженностью патологических изменений в эндометрии (Armstrong A. et al., 2012; Owings R., Quick C., 2014).

Остается открытым вопрос об изменении структуры и свойств эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов, связанных с наличием полиморфизмов генов *ESR1* и *PRG* (Думановская М.Р. и соавт., 2013; Young S., 2013). Опубликованы единичные экспериментальные исследования, подтверждающие взаимосвязь развития гормонозависимых опухолей (эндометрия, молочной железы) с особенностями аллельного полиморфизма генов эстрогеновых рецепторов (*ESR1*), а также с эпигенетическими нарушениями (Чернуха Г.М. и соавт., 2013; Boggess, J et al., 2014; Javed Z. et al., 2016).

Метаболическими особенностями опухолевых клеток является обильное потребление глюкозы и аэробный гликолиз. Опухолевая пируваткиназа M2 (Pfkfb3) играет решающую роль в гликолизе, оказывая влияние на ангиогенез, пролиферацию, метастазирование и апоптоз (Chaneton B., Gottlieb E., 2012; Zhu H., Luo H., 2017). Появились первые публикации, содержащие сведения о взаимосвязи экспрессии пируваткиназы M2 и прогноза развития опухолевого процесса, однако результаты исследований пока противоречивы (Liang J., Cao R., 2016; Hosseini N. et al., 2018). Dayton T. et al. (2017) рассматривают потенциал пируваткиназы M2 в развитии опухолевой пролиферации.

На сегодняшний день отсутствуют маркеры, которые могли бы служить объективными предикторами динамики развития ГЭ в направлении спонтанной регрессии или, наоборот, прогрессирования в рак (Табакман Ю.Ю. и соавт., 2016; Бабурин Д.В., Унанян А.Л., 2016; Yanli Z. et al., 2015). Предметом исследований остаются концепции этиологии и патогенеза ГЭ, подвергающиеся непрерывному обновлению из-за постоянного научного поиска.

Степень разработанности темы. Анализ данных литературы свидетельствует, что на данный момент отсутствует единое мнение об этиологии и патогенезе, вероятности рецидива и малигнизации ГЭ в репродуктивном возрасте. Не систематизированы и разноречивы данные о значимости генетической составляющей патогенеза заболевания. Практически отсутствуют сведения об эпигенетической регуляции развития ГЭ. Мало изучены маркеры прогноза ее развития и течения (Адамян Л.В. и соавт., 2015; Wise M., Jordan V., 2016; Leroi V. et al., 2007). Между тем при выявлении ГЭ у пациенток репродуктивного возраста особенно важна возможность прогнозирования рецидивов заболевания и оценки риска малигнизации для выбора тактики лечения с учетом возможной реализации репродуктивной функции.

Относительно новым и дискуссионным направлением научного поиска является изучение регуляции важных для патогенеза ГЭ эпигенетических механизмов с помощью микроРНК. Известно, что микроРНК участвуют во многих клеточных процессах посредством влияния на специфические гены-мишени (Ramon L., 2012; Jayaraman M. et al., 2017). С одной стороны, они служат онкогенами и способствуют процессу опухолевого генеза (Bae J. et al., 2012; Wilczynski M. et al., 2015), с другой – функционируют в качестве опухолевых супрессоров и ингибируют прогрессирование рака (Banno K. et al., 2013; Yanokura M. et al., 2015).

Распространенность ГЭ, противоречивость результатов исследований, отсутствие маркеров доклинической диагностики и прогноза развития заболевания и риска возможной онкотрансформации определило выбор темы, цели и задачи настоящего исследования.

Цель исследования: улучшить качество прогнозирования риска озлокачествления гиперплазии эндометрия у женщин репродуктивного возраста.

Задачи исследования:

- 1) Определить факторы риска развития гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте;
- 2) Определить частоту встречаемости полиморфизма генов *ESR1* и *PRG* при различных вариантах гиперплазии эндометрия у пациенток репродуктивного возраста;
- 3) Определить экспрессию микроРНК (*miR-210*, *miR-18a*, *miR-221*, *miR-222*) при гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте;
- 4) Определить роль опухолевой пируваткиназы M2 как регулятора адаптивных ответов в патогенезе гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте;
- 5) Обосновать патогенетические механизмы развития гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте;
- 6) Разработать патогенетически обоснованный алгоритм расчета персонализированного риска озлокачествления гиперплазии эндометрия у женщин репродуктивного возраста.

Научная новизна исследования. Разработана новая научная идея, существенно обогащающая концепцию прогнозирования риска развития гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте и его онкотрансформации. Доказана перспективность ее использования на практике. Разработан и научно обоснован персонализированный алгоритм расчета риска озлокачествления гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте, на основе математического прогнозирования и стратификации риска. Выявлены независимые предикторы гиперплазии эндометрия: воспалительные заболевания органов малого таза, аденомиоз, гиперэкспрессия *miR-210*, *miR-18a*, *miR-222*, снижение экспрессии *miR-221*, повышение экспрессии пируваткиназы M2.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Расширены и дополнены существующие представления о молекулярно-генетических механизмах патогенеза гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте. Применительно к проблематике диссертации эффективно использованы современные высокоинформативные методы диагностики и статистической обработки полученных данных. Определены независимые предикторы и разработаны две математические модели, которые могут быть использованы для расчета персонализированного риска озлокачествления гиперплазии эндометрия. Произведена модификация рутинного алгоритма ведения женщин с использованием предложенных математических моделей.

Методология и методы исследования. Работа выполнена в период 2013–2017 гг. на кафедре акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего

образования «Российский университет дружбы народов» (зав. кафедрой – член-корр. РАН, проф. В. Е. Радзинский), на клинической базе ГБУЗ «Городская клиническая больница имени В.М. Буянова Департамента здравоохранения Москвы» (гл. врач – к.м.н. А. В. Саликов).

Учитывая цель и задачи работы, в исследование были включены 143 женщины с ГЭ, выявленной в репродуктивном возрасте. Критериями включения послужили: возраст от 18 до 49 лет, гистологическое подтверждение диагноза, информированное согласие на обработку данных. Критериями исключения стали: наличие злокачественных образований в анамнезе, острые воспалительные заболевания органов малого таза, беременность, декомпенсированные тяжелые экстрагенитальные заболевания, гормонально активные опухоли яичников, отказ от участия в исследовании или невыполнение рекомендаций врача.

Критерием стратификации пациенток по группам явилась морфологическая форма гиперплазии (согласно МКБ-Х: ЖГЭ без атипии – N85.0, АГЭ – N85.1). Все пациентки были разделены на три группы: I группу составили 53 пациентки с железистой и железисто-кистозной ГЭ без атипии; II группу – 34 пациентки с АГЭ. В качестве группы контроля в исследование были включены 56 женщин с аномальными маточными кровотечениями (согласно МКБ-Х: N92) в возрасте от 18 до 49 лет, у которых были исключены аденомиоз, миома матки, гиперплазия и рак эндометрия, ятрогенные причины маточного кровотечения.

Положения, выносимые на защиту:

1. Математическое прогнозирование является эффективным инструментом выделения контингента риска озлокачествления гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте. Независимыми предикторами риска ($p < 0,05$) являются: воспалительные заболевания органов малого таза, аденомиоз, *miR-210*, *miR-18a*, *miR-221*, *miR-222*, пируваткиназа M2.

2. В основе патогенеза гиперплазии эндометрия лежит наличие полиморфизма генов рецепторов *ESR1*, *PRG*, повышение экспрессии *miR-210*, *miR-18a*, *miR-222*, снижение экспрессии *miR-221*, а также гиперэкспрессия пируваткиназы M2. Молекулярные механизмы изменения рецепторного статуса и показателей пролиферации клетки при гиперплазии эндометрия универсальны. Преобладание «мутантного» аллеля CC полиморфизма PvuII C/T гена *ESR1* при гиперплазии эндометрия приводит к снижению чувствительности ER α , а преобладание «мутантного» аллеля TT полиморфизма Val660Leu гена *PRG* – к снижению скорости биосинтеза прогестероновых рецепторов и нарушению их чувствительности. При гиперплазии эндометрия существенно увеличена экспрессия онкогенных *miR-210*, *miR-18a*, *miR-222*, которая наиболее выражена при атипической гиперплазии эндометрия. Одним из генов-мишеней *miR-222* и *miR-18a* служит *ESR1*, который также может регулировать экспрессию этих микроРНК через белки p68 и p72 по типу обратной связи.

3. Метаболический маркер – пируваткиназа M2 – является основным регулятором адаптивных ответов на снижение доступности кислорода. Повышение экспрессии пируваткиназы M2 регулируется через PTEN, один из генов-мишеней *miR-222*. Высокая пролиферативная активность эндометриальных клеток в условиях гипоксии проявляется гиперэкспрессией пируваткиназы M2. Ее содержание в ткани эндометрия в 2 раза выше, чем в плазме крови, что может служить скрининговым маркером неблагоприятного исхода пролиферации эндометрия.

4. Разработанный алгоритм расчета персонифицированного риска озлокачествления гиперплазии эндометрия позволяет стратифицировать пациенток на контингенты низкого и высокого риска по рецидивирующему и прогрессивному течению заболевания.

Степень достоверности и апробация результатов работы. Статистический анализ массива полученных данных выполняли в программах SAS JMP 11 и Statistica 10. Оценку групп производили при помощи непараметрического критерия Краскелла-Уоллиса по количественной шкале. Для определения достоверности непараметрических количественных данных использовали критерий Манна-Уитни. Статистическую значимость для бинарных и номинальных показателей оценивали при помощи критерия χ^2 . Для количественных показателей использовали среднее значение и стандартное отклонение в формате «M ± S». Анализ различий в связанных выборках производили на основе непараметрического критерия Вилкоксона. За критерий достоверности принимали величину $p < 0,05$.

Для определения диагностической эффективности выполняли ROC-анализ. Пороговое значение статистической значимости фиксировали на уровне вероятности ошибки 0,05.

Для исследования корреляции нескольких независимых переменных и одной зависимой применяли метод бинарной логистической регрессии. При этом независимые переменные, входящие в формулу, могли иметь любой вид шкалы (количественные, порядковые, дихотомические). Вероятность наступления события (развитие ГЭ) для данного случая (для конкретной пациентки) рассчитывали по формуле:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

где p – вероятность того, что событие произойдет; e – 2,71828182845904 (основание натуральных логарифмов); z – стандартное уравнение регрессии; где « $z = a + b_1 x_1 + b_2 x_2 + \dots + b_n x_n$ »; при этом x_1 представляет значения независимых переменных, b_1 – результаты бинарной логистической регрессии, a – свободный коэффициент.

Бинарная регрессионная модель, с одной стороны, позволяла выделить наиболее значимые факторы, влияющие на течение заболевания, с другой — прогнозировать у конкретной пациентки вероятность развития «худшего» или «лучшего» прогноза путем

распределения по группам относительно факторов риска при использовании 50% перцентиля: низкая степень ($0 < p < 0,50$) и высокая степень ($0,50 < p < 1$).

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены на: XIII Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2013); на VI Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Москва, 2013); XXVIII Международном Конгрессе с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Москва, 2015); Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2015); II Общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии. Московские чтения» (Москва, 2017).

Участие автора в сборе и обработке материала — более 90%, обобщении и анализе результатов работы — 90%. Выводы и научные положения диссертации получены автором лично. По результатам исследования опубликовано 7 печатных работ, из них 3 — в рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК РФ.

Диссертация изложена на 129 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, трех глав, содержащих результаты собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, включающего выводы и практические рекомендации, указателя литературы. Работа иллюстрирована 51 рисунком, 43 таблицами. Указатель литературы включает 138 источников, из них 34 отечественных и 104 – зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты работы и их обсуждение. Все обследуемые женщины находились в возрасте от 18 до 49 лет (в среднем - $37,9 \pm 6,6$ лет; в контрольной группе - $34,9 \pm 4,6$ лет, $p > 0,05$). Средний возраст пациенток с ЖГЭ составил $36,0 \pm 6,4$ лет ($p > 0,05$), из них 50,9% находились в возрастной группе 40-44 года. Средний возраст пациенток с АГЭ составил $39,9 \pm 5,6$ лет ($p < 0,05$), из них 47% находились в возрасте 35-39 лет (Рисунок 1).

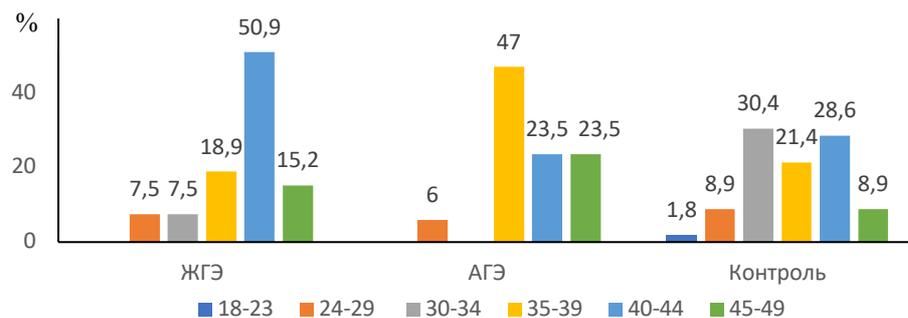


Рисунок 1 – Распределение пациенток сравниваемых групп по возрасту

Распределение женщин по возрастным группам в настоящем исследовании происходило ретроспективно, после гистологического заключения, и морфологические изменения эндометрия закономерно чаще наблюдались у женщин в позднем репродуктивном возрасте. Как видно из данных, представленных на диаграмме (Рисунок 1), 66,1% пациенток с ЖГЭ были в возрасте 40 лет и старше, а 94,0% женщины с АГЭ – в возрасте 35 лет и старше 35-39 лет, что не противоречит литературным данным о частоте встречаемости ГЭ в различные возрастные периоды (Табакман Ю.Ю. и соавт., 2016; Унанян А.Л. и соавт., 2018).

Проведенный анализ показал, что для пациенток изучаемой когорты характерна высокая частота экстрагенитальных заболеваний (Рисунок 2).

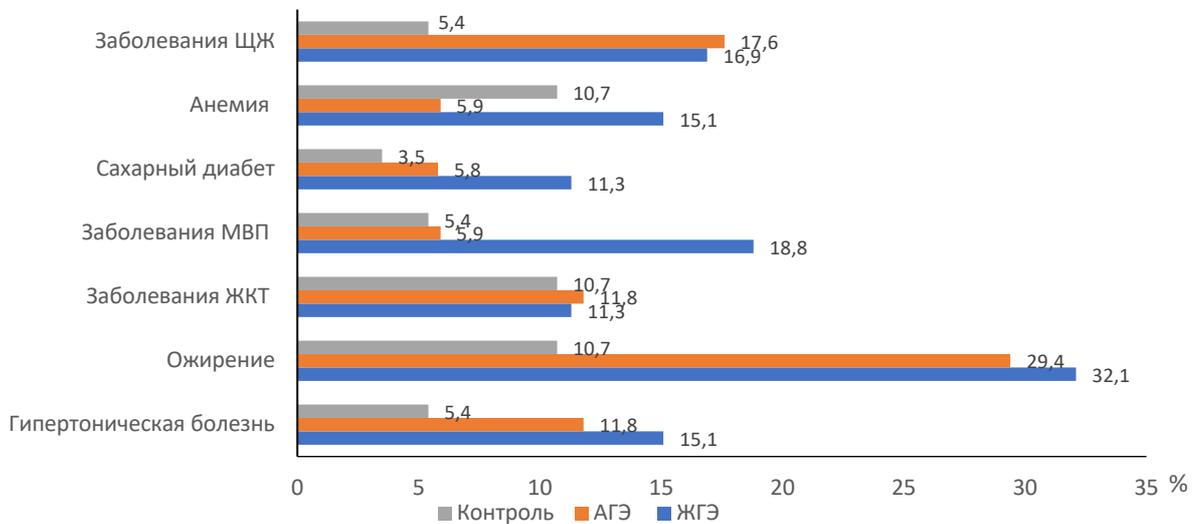


Рисунок 2 – Частота встречаемости экстрагенитальных заболеваний в сравниваемых группах

Согласно полученным данным, пациентки с ГЭ по сравнению с контрольной группой чаще ($p < 0,05$) страдали ожирением, заболеваниями щитовидной железы (ЩЖ) и гипертонической болезнью, что соответствует результатам аналогичных исследований (Адамян Л.В. и соавт., 2015; Шакирова Е.А., Зотова О.А., 2017). Среди женщин с ГЭ более соматически отягощенными оказались пациентки с ЖГЭ.

Как видно на диаграмме, представленной на Рисунке 2, у пациенток с ЖГЭ в сравнении с группой контроля и пациентками с АГЭ заболевания мочевыводящих путей (МВП) наблюдались в 3,5 раза чаще ($p < 0,05$), анемия в сравнении с группой АГЭ – в 2,6 раза чаще ($p < 0,05$), гипертоническая болезнь в сравнении с контрольной группой - в 2,8 раза чаще ($p < 0,05$). Для пациенток с АГЭ характерными оказались ожирение, заболевания ЩЖ, гипертоническая болезнь и заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), что согласуется с данными литературы (Шакирова Е.А., Артымук Н. В., 2016; Litta P. et al., 2013).

Установлено, что пациентки с ЖГЭ и АГЭ имели указание в анамнезе на перенесенные воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ), частота которых составила соответственно 58,5% и 52,9%, аденомиоз (соответственно 35,8% и 58,8%), доброкачественные дисплазии молочных желез (ДДМЖ) - соответственно 49% и 41,1%, миоме матки (соответственно 45,3% и 23,5%), сочетание миомы матки и аденомиоза (соответственно 30,2% и 47%). Полученные результаты созвучны с данным литературы (Осиновская Н.С. и соавт., 2012; Радзинский В.Е. и соавт, 2014).

Проведенный анализ показал, что выявленные экстрагенитальные (ожирение, заболевания МВП, щитовидной железы, гипертоническая болезнь) и гинекологические (ВЗОМТ, ДДМЖ, аденомиоз, миома матки и сочетание миомы матки с аденомиозом) заболевания являются факторами риска развития ГЭ (Таблица 1).

Таблица 1 – Факторы риска ГЭ у женщин изучаемой когорты

Фактор риска	ОШ	95%ДИ	Значение P
ВЗОМТ	7,73	3,27-18,28	0,0001
Аденомиоз	3,34	1,51-7,27	0,0018
ДДМЖ	3,21	1,45-6,70	0,0025
Миома матки в сочетании с аденомиозом	8,34	2,76-25,16	0,0269
Миома матки	1,87	1,25-6,22	0,0287
Ожирение	3,75	1,43-9,80	0,0020
Заболевания мочевыводящих путей	2,82	0,76-10,50	0,0023
Заболевания щитовидной железы	3,68	1,01-13,36	0,0038
Гипертоническая болезнь	2,82	0,76-10,50	0,0022

С целью выявления эпигенетических маркеров прогнозирования ГЭ и их связи с АГЭ была изучена частота встречаемости полиморфизмов гена *ESR1*, наличие которых может приводить к нарушению чувствительности эстрогеновых рецепторов (ER α) или к ее полной потере (Young S., 2013; Yanli Z. et al., 2015). Полученные данные представлены на Рисунке 3.

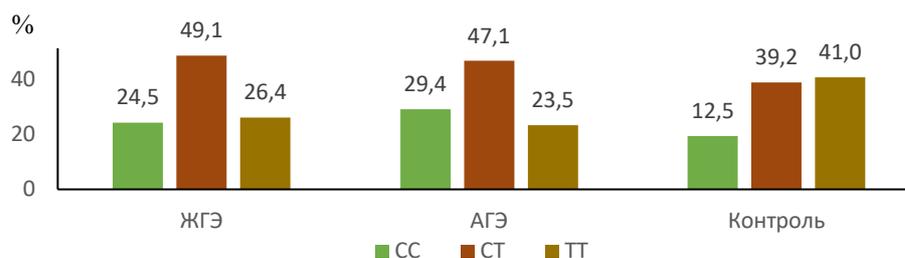


Рисунок 3 – Частота встречаемости полиморфизма RvuII C/T гена *ESR1* в сравниваемых группах

Как видно из диаграммы, представленной на Рисунке 3, частота встречаемости гомозиготного аллеля СС полиморфизма PvuII C/T гена *ESR1* при АГЭ в 2,3 раза выше в сравнении с группой контроля ($p < 0,05$). Полученные результаты согласуются с данными литературы (Ya L. et al., 2012; Zhang H. et al., 2013; Sun L. et al., 2013). Гетерозиготный генотип СТ полиморфизма PvuII C/T довольно распространен в популяции, он выявлен почти у каждой второй женщины с ГЭ, однако значимых различий с группой контроля не выявлено ($p > 0,05$).

При изучении частоты встречаемости полиморфизма XbaI гена *ESR1* (Рисунок 4), представляющего собой однонуклеотидную замену аденина на гуанин (A351G) в интронной области гена *ESR1* (Ya L. et al., 2012), статистически значимых различий по «мутантному» аллелю GG выявлено не было ($p > 0,05$). Наибольшая частота гетерозиготного генотипа AG была выявлена при ЖГЭ, наименьшая – при АГЭ ($p > 0,05$). Различий с группой контроля не получено ($p > 0,05$).



Рисунок 4 – Частота встречаемости полиморфизма XbaI A/G гена *ESR1* в сравниваемых группах

Согласно современным представлениям, полиморфизм Val660Leu гена *PRG* вызывает образование неправильных форм рецепторов с нарушенными лиганд- и гормонсвязывающими областями (Nyante S., 2015; Patel B., 2015). При изучении частоты встречаемости этого полиморфизма (Рисунок 5) установлено, что «мутантный» аллель ТТ значимо чаще определяется при ЖГЭ и АГЭ (в сравнении с группой контроля - $p < 0,05$).

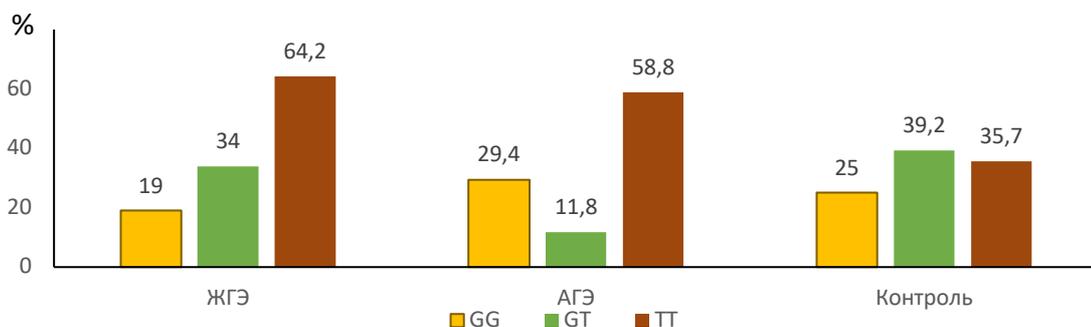


Рисунок 5 – Частота встречаемости полиморфизм Val660Leu гена *PRG* в сравниваемых группах

При этом гетерозиготный вариант GT полиморфизма Val660Leu гена *PRG* был выявлен лишь у каждой десятой пациентки с АГЭ (различия с группой ЖГЭ и группой контроля статистически значимы, $p < 0,05$).

Фактов носительства гомозиготного «мутантного» аллеля AA полиморфизма + 331G/A гена *PRG* у обследованных пациенток выявлено не было, гетерозиготный вариант данного полиморфизма обнаруживался у каждой второй, без межгрупповых различий ($p = 0,126$). Полученные данные совпадают с данными литературы (Xing-Ling Q., 2017).

Принято считать, что влияние микроРНК *miR-210* на гены – мишени регулируется через фактор гипоксии – HIF-1. Большинство генов участвуют в адаптации и выживаемости клетки при гипоксическом стрессе (Lijou K. et al., 2009). В ходе настоящего исследования у пациенток с ГЭ выявлена более высокая, по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), экспрессия *miR-210* в плазме крови (Рисунок 6). Однако в ткани эндометрия обнаружены еще более выраженные изменения, при этом экспрессия *miR-210* при АГЭ вдвое превышала таковую в сравнении с группой ЖГЭ и контрольной группой ($p < 0,05$).



Рисунок 6 – Экспрессия *miR-210* в плазме крови и ткани эндометрия у пациенток сравниваемых групп

Согласно современным представлениям, микроРНК *miR-18a* является проонкогеном, который подавляет рецептор ER α , а также индуцирует апоптоз клеток (Bjork J. et al., 2010; Widodo A., 2016). Данные об уровне экспрессии *miR-18a* представлены на Рисунке 7.

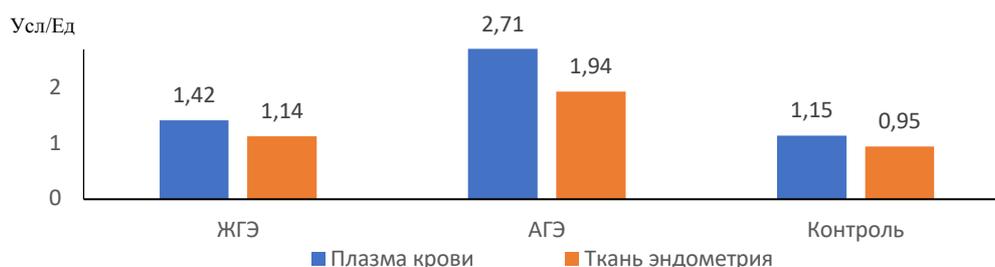


Рисунок 7 – Экспрессия *miR-18a* в плазме крови и ткани эндометрия у пациенток сравниваемых групп

В результате проведенного исследования установлено, что экспрессия *miR-18a* выше в плазме крови, чем в ткани эндометрия. При этом у пациенток с АГЭ в плазме крови экспрессия *miR-18a* в 2,5 раза выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Аналогичные изменения выявлены в эндометрии: отмечена тенденция к повышению *miR-18a* при АГЭ по сравнению с ЖГЭ, и получены статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$).

По данным литературы, *miR-221* представляет собой высоко гомологичные микроРНК, которые могут предотвращать пролиферацию эндотелиальных клеток и индуцировать ангиогенез. Однако они, могут действовать двояко - как онкогены, или как супрессоры, в зависимости от опухолевой системы. Есть данные, что *miR-221* ингибирует онкогенез, инвазию и метастазы при развитии опухоли (Tong S., 2009; Abak A. et al., 2018). Результаты оценки экспрессии *miR-221* в плазме крови и ткани эндометрия представлены на Рисунке 8.



Рисунок 8 – Экспрессия *miR-221* в плазме крови и ткани эндометрия у пациенток сравниваемых групп

Как видно из диаграммы, представленной на Рисунке 8, при АГЭ имеет место статистически значимое снижение экспрессии *miR-221*, по сравнению с контрольной группой, как в плазме крови, так и в ткани эндометрия ($p < 0,05$).

Согласно литературным данным, *miR-222* может взаимодействовать с ER, нарушая их чувствительность, выступая как онкоген, индуцирующий ангиогенез и пролиферацию раковых клеток (Garofalo M., 2012; Liu B. et al., 2014). Данные экспрессии *miR-222* в плазме крови и ткани эндометрия представлены на Рисунке 9. Как видно из диаграммы, представленной на Рисунке 9, в плазме крови экспрессия *miR-222* при АГЭ в 2,5 раза выше по сравнению с контрольной группой, равно как и в ткани эндометрия при ГЭ ($p < 0,05$). При АГЭ этот показатель в 1,6 раз превышает данные контрольной группы ($p < 0,05$).

Таким образом, эпигенетические изменения на уровне микроРНК при ГЭ свидетельствуют о нарушении равновесия апоптоз – пролиферация, особенно в ткани эндометрия. Высокая экспрессия *miR-210*, *miR-18a*, *miR-222* и низкая *miR-221* свидетельствуют о снижении адаптивных свойств клеток, увеличении их пролиферативной активности, индукции ангиогенеза.

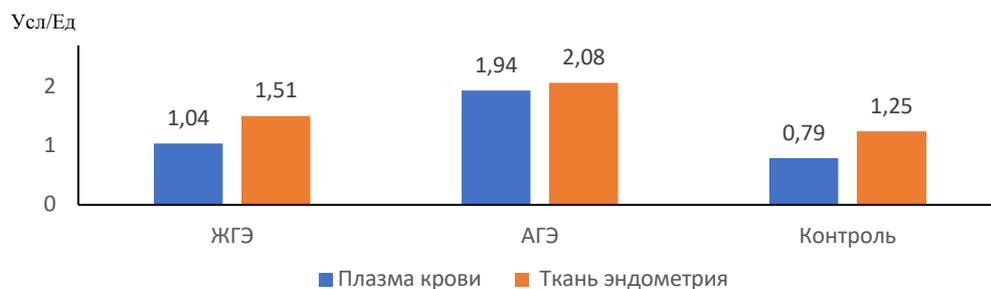


Рисунок 9 – Экспрессия *miR-222* в плазме крови и ткани эндометрия у пациенток сравниваемых групп

Подтверждением этих изменений является изменение экспрессии пируваткиназы М2. Пируваткиназа М2 оказывает влияние как на пропролиферативные, так и на проапоптотические процессы, а также на метаболические изменения в клетке, что позволяет рассматривать ее как возможный маркер рака эндометрия (Leroi V. et al., 2007; Dayton T. et al., 2016). В результате проведенного исследования выявлены статистически значимые различия уровня экспрессии пируваткиназы М2 в ткани эндометрия. Полученные данные представлены на Рисунке 10, откуда видно, что у пациенток с АГЭ экспрессия пируваткиназы М2 в ткани эндометрия превышает таковую у женщин группы контроля в 1,7 раза ($p < 0,05$).

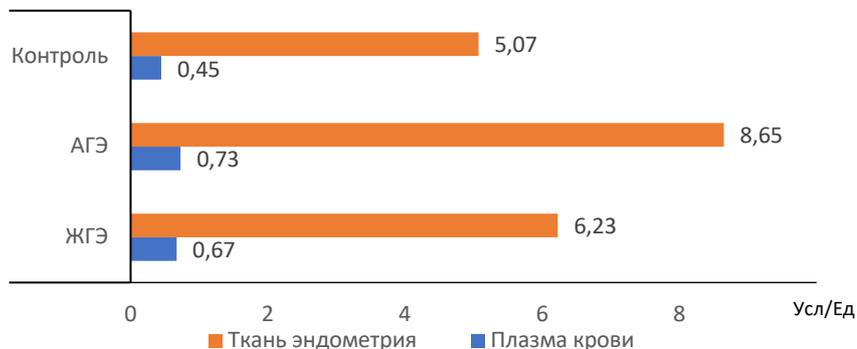


Рисунок 10 – Экспрессия пируваткиназы М2 в ткани эндометрия и плазме крови у пациенток сравниваемых групп

Компилируя данные, полученные в нашем исследовании, с данными литературы, можно следующим образом представить схему патогенеза развития ГЭ (Рисунок 11). Подтвержденная в ходе исследования высокая частота встречаемости «мутантного» аллеля СС полиморфизма RvuII C/T гена *ESR1* (26,4%) имеет свое отражение в нарушении чувствительности ERα. В свою очередь, ERα отрицательно модулирует *miR-221/222* путем рекрутирования корешков на сайт транскрипции *miR-221/222*, представляя замкнутый круг в патогенезе ГЭ. Ген *ESR1* действует на регуляцию *miR-222* через белки p68 и p72, геном-мишенью *miR-222* является *PTEN*, действие которого направлено на инициацию HIF-1.

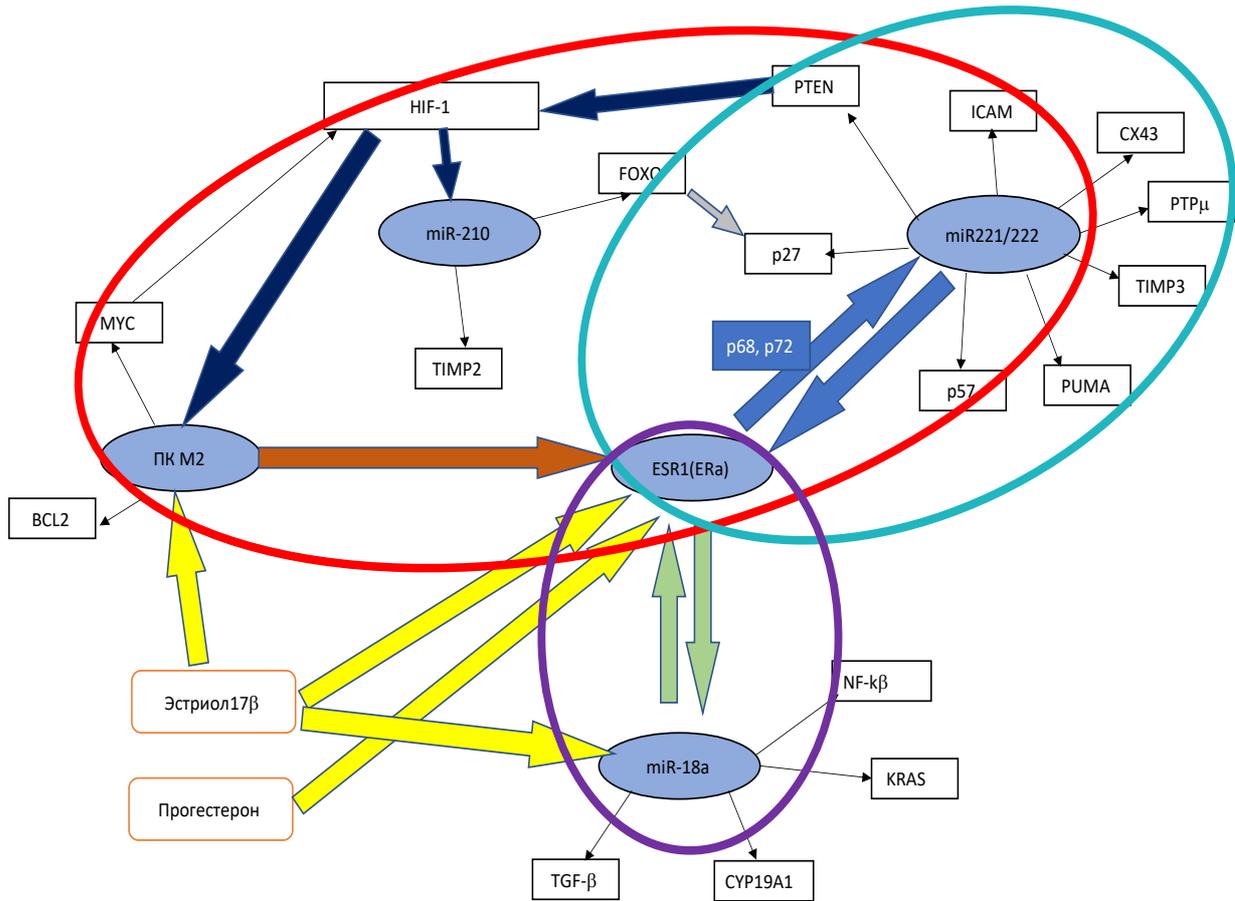


Рисунок 11 – Патогенез развития гиперплазии эндометрия (Схема)

Белок HIF-1 регулирует уровень пируваткиназы M2, которая, в свою очередь, влияет на экспрессию гена *ESR1* (PvuII), опосредованно регулирующего экспрессию гена *PRG* (Val660Leu), отвечающего за чувствительность PR. Таким образом, ген *ESR1* оказывает влияние на регуляцию *miR-221*, *222*, которые также участвуют в регуляции гена *ESR1* по типу обратной связи. Аналогичная обратная регуляция имеется между геном *ESR1* и *miR-18a*.

Таким образом, важную роль в патогенетических механизмах озлокачествления ГЭ в репродуктивном возрасте играют эпигенетические нарушения равновесия между апоптозом и пролиферацией. Значимыми факторами риска, создающими фон для запуска этого механизма, являются экстрагенитальные (ожирение, заболевания ЩЖ, заболевания МВП, гипертоническая болезнь) и гинекологические заболевания (ВЗОМТ, аденомиоз, ДДМЖ, миома матки). Происходящие изменения, оказывающие влияние на эстрогеновые рецепторы, приводят к изменениям мессенджеров II порядка (микроРНК), которые, в свою очередь, влияют на гены-мишени и вызывают изменения адаптивных способностей клетки. Экспрессия пируваткиназы M2 в этой цепи является подтверждением проапоптотических изменений в клетке и риска ее атипии.

Результаты проведенного исследования позволили углубить существующие представления о патогенезе ГЭ и разработать алгоритм расчета персонифицированного риска озлокачествления ГЭ у женщин репродуктивного возраста. Выявленные эпигенетические и метаболические детерминанты явились основой для создания математической модели прогнозирования риска озлокачествления ГЭ в репродуктивном возрасте как для плазмы крови, так и для ткани эндометрия. В модель были включены следующие показатели: *miR-210*, *miR-18a*, *miR-221*, *miR-222*, пируваткиназа М2, а также ВЗОМТ и аденомиоз в анамнезе. Клинические факторы риска ВЗОМТ и аденомиоз были отобраны по наибольшему уровню достоверности, однако, с учетом персонификации модели, в каждом конкретном случае могут быть использованы другие выявленные факторы риска, представленные в Таблице 1.

По данным ROC-анализа определена высокая чувствительность и специфичность показателей экспрессии микроРНК, которые могут быть стандартизированы для использования в модели бинарной логистической регрессии для плазмы крови и для ткани эндометрия (Таблица 2).

Таблица 2 – Средние значения показателей микроРНК для модели бинарной логистической регрессии для плазмы крови и ткани эндометрия

Показатель	Средние значения	Чувствительность, %	Специфичность, %
<i>miR-210</i> плазма крови	0,99	97,2	83,9
<i>miR-18a</i> плазма крови	1,86	75	100
<i>miR-221</i> плазма крови	2,36	98,1	94,6
<i>miR-222</i> плазма крови	0,78	100	90
<i>miR-210</i> ткань эндометрия	3,37	88,9	95
<i>miR-18a</i> ткань эндометрия	1,16	94,1	100
<i>miR-221</i> ткань эндометрия	2,11	100	95
<i>miR-222</i> ткань эндометрия	1,33	90	100

На Рисунке 12 представлен интерфейс разработанной модели расчета персонифицированного риска озлокачествления ГЭ в репродуктивном возрасте (плазма крови).

В	С	Д	Е	Ф	Г	Н	И	Ж
-1,774	-0,327	6,249	-0,926	-7,462	-1,974	1,071		
Плазма	Плазма	Плазма	Плазма	Плазма				
miR-210	miR-18	miR-221	miR-222	ПК М2	ВЗОМТ	Аденомиоз	Риск ГЭ Плазма крови	Группа риска
0,988	1,260	1,961	1,103	0,437	0	1	0,8562	Высокий
0,576	0,710	1,878	0,621	0,260	1	0	0,9349	Высокий
1,035	1,940	2,250	1,439	0,541	1	0	0,9880	Высокий

Рисунок 12 – Интерфейс модели для показателей плазмы крови

Аналогичная математическая модель представлена для показателей ткани эндометрия (Рисунок 13).

/5								
fx = ЕСЛИ(V5<0,5;"Низкий";ЕСЛИ(V5 >0,5;"Высокий"))								
O	P	Q	R	S	T	U	V	W
-3,733	-7,371	11,897	-7,262	-0,331	-2,464	-0,310		
Ткань	Ткань	Ткань	Ткань	Ткань				
Mir-210	Mir-18	Mir-221	Mir-222	ПК M2	ВЗОМТ	Аденомиоз	Риск ГЭ Ткань эндометрия	Группа риска
0,638	1,128	1,956	1,481	3,630	0	1	0,5825	Высокий
0,140	0,864	1,100	1,050	4,733	1	0	0,9977	Высокий
1,255	1,144	1,790	1,354	4,440	1	0	0,9980	Высокий

Рисунок 13 – Интерфейс модели для показателей ткани эндометрия

Для данных математических моделей был проведен сравнительный анализ ROC кривых, который представлен на Рисунке 14.

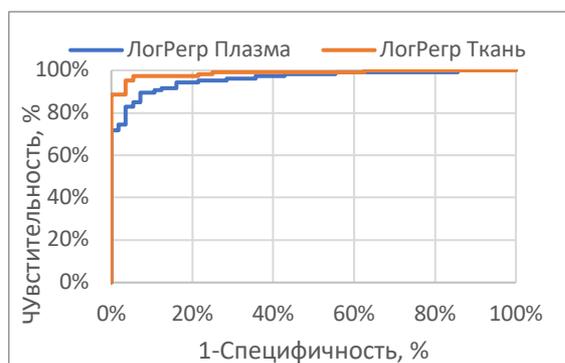


Рисунок 14 – ROC кривые разработанных моделей для плазмы крови и ткани эндометрия

Установлено, что для плазмы крови: AuROC – 0,95, специфичность – 92,9%, чувствительность – 89,6%. Для ткани эндометрия: AuROC – 0,98, специфичность – 94,6%, чувствительность – 97,2. Согласно полученным данным, специфичность и чувствительность модели для ткани эндометрия выше, чем для плазмы крови, что может служить приоритетом при выборе тактики ведения пациентки.

Разработанный на основе модели бинарной логистической регрессии алгоритм расчета персонифицированного риска озлокачествления ГЭ в репродуктивном возрасте представлен на Рисунке 15. Предложенный алгоритм может служить для стратификации риска озлокачествления ГЭ у женщин репродуктивного возраста:

- низкая вероятность озлокачествления ГЭ - при ($0 < p < 0,50$);
- высокая вероятность озлокачествления ГЭ - при ($0,50 < p < 1$).



Рисунок 15 – Алгоритм расчета персонафицированного риска озлокачествления гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте

Разработанный алгоритм расчета персонафицированного риска озлокачествления ГЭ в репродуктивном возрасте позволяет определить индивидуальную тактику ведения пациенток, с учетом их репродуктивных планов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог настоящего исследования, можно констатировать, что практически каждая третья пациентка имеет риск озлокачествления ГЭ. Выявленные клиничко-анамнестические факторы, ассоциированные с этим риском (ожирение, заболевания щитовидной железы, заболевания мочевыделительных путей, гипертоническая болезнь, ВЗОМТ, аденомиоз, ДДМЖ, миома матки), широко распространены в популяции и представляют собой фон для реализации эффектов возможных триггеров возникновения и прогрессивного течения ГЭ. Установлено, что предикторами риска озлокачествления являются генетические (*ERS1*, *PRG*), эпигенетические (*miR-210*, *miR-18a*, *miR-221*, *miR-222*,) и метаболические (пируваткиназа M2) детерминанты. Предложен алгоритм расчета персонафицированного риска и доказана возможность математического прогнозирования озлокачествления ГЭ у женщин репродуктивного возраста.

Полученные результаты исследования позволяют сделать следующие **выводы**:

1. Факторами риска возникновения гиперпластических процессов эндометрия у женщин репродуктивного возраста являются: воспалительные заболевания (ОШ=7,7, 95% ДИ 3,27-

18,28); доброкачественные дисплазии молочных желез (ОШ=3,12, 95% ДИ 1,45-6,70), аденомиоз (ОШ=3,32, 95% ДИ 1,51- 7,27), миома матки в сочетании с аденомиозом (ОШ= 8,34, 95% ДИ 2,76-25,16), миома матки (ОШ= 1,87, 95% ДИ 1,25-6,22), ожирение (ОШ= 3,75, 95% ДИ 1,43-9,80), заболевания щитовидной железы (ОШ= 3,68, 95% ДИ 1,04-13,36), заболевания мочевыделительных путей (ОШ= 2,82, 95% ДИ 0,76- 10,50) и гипертоническая болезнь (ОШ= 2,82, 95% ДИ 0,76- 10,50).

2. Полиморфизм PvuII (CC) гена *ESR1* выявляется у 26,4% женщин с гиперплазией эндометрия в целом, и у 29,4% пациенток с атипической гиперплазией эндометрия (в группе контроля – 12,5%, $p < 0,05$). Частота встречаемости полиморфизма Val660Leu гена *PRG* при железистой гиперплазии эндометрия составляет 64,2%, что в 1,8 раз превышает аналогичный показатель в группе контроля (35,7%, $p < 0,05$). Частота встречаемости полиморфизма XbaI (GG) гена *ESR1* не имеет статистически значимых различий с группой контроля (14,9% против 14,2%, $p > 0,05$). Гомозиготный генотип полиморфизма 331G/A гена *PRG* у женщин с гиперплазией эндометрия не выявлен, частота встречаемости гетерозиготного генотипа составляет 40,2% (в группе контроля – 50%, $p > 0,05$).

3. Для атипической гиперплазии эндометрия характерна более высокая экспрессия *miR-210* в ткани эндометрия ($2,6 \pm 0,93$) и плазме крови ($1,57 \pm 0,48$) в сравнении с группой контроля, (соответственно $1,24 \pm 0,37$ и $0,77 \pm 0,49$, $p < 0,05$), а также высокая экспрессия *miR-18a* (ткань эндометрия – $1,94 \pm 0,72$, плазма крови – $2,71 \pm 1,11$, группа контроля – соответственно $0,95 \pm 0,26$ и $1,15 \pm 0,54$, $p < 0,05$) и *miR-222* (ткань эндометрия – $2,08 \pm 0,42$, плазма крови – $1,94 \pm 0,68$, группа контроля – соответственно $1,25 \pm 0,46$ и $0,79 \pm 0,54$, $p < 0,05$). Экспрессия *miR-221* при атипической гиперплазии эндометрия, напротив, ниже в ткани эндометрия ($1,41 \pm 0,46$) и в плазме крови ($1,62 \pm 0,57$), в сравнении с группой контроля (соответственно $2,36 \pm 0,51$ и $2,68 \pm 0,53$, $p < 0,05$).

4. При атипической гиперплазии эндометрия имеет место гиперэкспрессия пируваткиназы M2 в ткани эндометрия ($8,65 \pm 2,87$) и плазме крови ($0,73 \pm 0,38$), в сравнении с группой контроля (соответственно $5,07 \pm 2,91$ и $0,45 \pm 0,31$, $p < 0,05$). Это свидетельствует о высокой пролиферативной активности эндометриальных клеток в условиях гипоксии и может служить неблагоприятным прогностическим признаком.

5. Ведущим звеном патогенеза развития гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте является увеличение экспрессии мутантного варианта CC полиморфизма PvuII гена *ESR1*, оказывающего влияние на *miR-222*. Одним из генов-мишеней *miR-222* служит PTEN, действие которого направлено на инициацию белка HIF-1. Этот белок, регулирует уровень пируваткиназы M2, которая в свою очередь влияет на экспрессию гена *ESR1* (PvuII), опосредованно регулирующего экспрессию гена *PRG* (Val660Leu), отвечающего за чувствительность прогестероновых рецепторов. Триггерами риска озлокачествления могут

служить: наличие полиморфизмов генов рецепторов *ERS1*, *PRG*, повышение экспрессии *miR-210*, *miR-18a*, *miR-222*, снижение *miR-221*, а также гиперэкспрессия пируваткиназы M2.

6. Предложенный алгоритм позволяет стратифицировать пациенток с гиперплазией эндометрия на категории низкого и высокого риска его озлокачествления, с учетом анамнестических данных, генетических (*ERS1*, *PRG*), эпигенетических (*miR-210*, *miR-18a*, *miR-221*, *miR-222*), метаболических (пируваткиназа M2) маркеров (модель для плазмы крови: чувствительность – 89,6%, специфичность – 92,9%; для ткани эндометрия - соответственно 97,2% и 94,6%). Он может быть использован для обоснования выбора тактики ведения женщин репродуктивного возраста с гиперплазией эндометрия.

Полученные результаты исследования позволяют сформулировать следующие **практические рекомендации:**

1. Всех пациенток при подозрении на гиперплазию эндометрия необходимо стратифицировать по степени риска с помощью разработанной математической модели.

2. В комплекс обследования при гиперплазии эндометрия для оценки возможности рецидива заболевания и вероятности озлокачествления необходимо включать определение экспрессии генов рецепторов *ERS1*, *PRG* и метаболического маркера пируваткиназы M2.

3. Учитывая высокую чувствительность и специфичность показателей микроРНК (соответственно *miR-210* – 88,9% и 95%; *miR-18a* – 94,1 % и 100%; *miR-221* – 100% и 95%; *miR-222* – 100% и 90%), они могут быть стандартизованы для модели бинарной логистической регрессии и использоваться в клинической практике.

4. При высоком расчетном риске озлокачествления и при верификации атипичской гиперплазии эндометрия с гиперэкспрессией пируваткиназы M2, особенно в ткани эндометрия, необходимо персонально решать вопрос об тактике ведения, в том числе о целесообразности использования более радикальных методов лечения, с учетом репродуктивных планов.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Перспективны дальнейшие исследования по вопросам патогенеза возможного рецидивирования ГЭ и развития рака эндометрия, возможности проведения органосохраняющих методов лечения, возможности использования выявленных предикторов как маркеров других пролиферативных заболеваний органов репродуктивной системы.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Генетический риск развития гиперпластического процесса в эндометрии и в молочных железах, ассоциированный полиморфизмом генов-кандидатов / И.М. Ордянец, А.А.

Куулар, Е.В. Дмитриева, С.Э. Аракелов // **Мать и дитя в Кузбассе**. – 2014. – №4(59). – С.62-65.

2. WNT-сигнальный путь при миоме матки / А. А. Куулар, Ф. М. Есенева, В.Е. Радзинский [и соавт.] // **Мать и дитя в Кузбассе**. — 2017. — №2. — С. 33-38.

3. Уровень экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии женщин, принимающих тамоксифен в постменопаузе / А.А. Куулар, И.М. Ордиянц, Е.В. Дмитриева [и соавт.] // **Ульяновский медико-биологический журнал**. – 2018. – №2. – С. 47-53.

4. Алгоритм диагностики болезней эндометрия при лечении опухоли молочной железы Тамоксифеном в постменопаузе / А.А. Куулар, Е.В. Дмитриева, Д.С. Новгинов, Н.В. Васильченко // Клинические и теоретические аспекты современной медицины: Матер. VII Международной научной конференция – М. :РУДН. – 2016. – С. 48-49.

5. Уровень экспрессии эстрогеновых, прогестероновых и андрогеновых рецепторов при гиперпластическом процессе эндометрия и доброкачественных заболеваний молочных желез / А.А. Куулар, Е.В. Дмитриева, Д.С. Новгинов [и соавт.] // Клинические и теоретические аспекты современной медицины: Матер. VII Международной научной конференции – М.: РУДН. – 2016. – С. 121-224.

6. Роль генетических факторов, лизосомальной активности ферментов ACE и GLU и иммунореактивности организма женщины в прогнозировании исходов гиперпластических процессов эндометрия в возрастном аспекте / А.А. Куулар, И.М. Ордиянц, Е.В. Дмитриева [и соавт.] // Исследования и практика в медицине: Матер. I Национального Конгресса «Онкология репродуктивных органов: от профилактики и раннего выявления к эффективному лечению». – М.: КВАЗАР. – 2016. – №1.– С.127-129.

7. Ценность иммуногистохимического исследования рецепторного статуса эндометрия в идентификации ГЭ в различные возрастные периоды жизни женщины / А.А. Куулар, И.М. Ордиянц, Е.В. Дмитриева [и соавт.] // Исследования и практика в медицине: Матер. I Национального Конгресса «Онкология репродуктивных органов: от профилактики и раннего выявления к эффективному лечению». – М.: КВАЗАР. – 2016. – №1.– С.129-131.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА ОЗЛОКАЧЕСТВЛЕНИЯ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ В РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ

Куулар Аида Алексеевна (Россия)

Диссертационное исследование посвящено проблеме улучшения качества прогнозирования риска озлокачествления гиперплазии эндометрия у женщин в

репродуктивном возрасте. Выявлены независимые предикторы риска, которые вошли в математическую модель расчета персонализированного риска озлокачествления ГЭ: экстрагенитальные и гинекологические заболевания, гиперэкспрессия *miR-210*, *miR-18a*, *miR-222*, снижение экспрессии *miR-221* повышение экспрессии пируваткиназы M2. Разработан и научно обоснован персонализированный алгоритм расчета риска озлокачествления гиперплазии эндометрия в репродуктивном возрасте, позволяющий стратифицировать пациенток на контингенты низкого и высокого риска. Данный алгоритм может быть использован для обоснования тактики ведения женщин репродуктивного возраста с гиперплазией эндометрия.

**PREDICTING THE RISK OF MALIGNANCY OF ENDOMETRIAL
HYPERPLASIA IN WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE**

Kuular Aida Alekseevna (Russia)

The dissertation research is devoted to the problem of improving the quality of prediction of the risk of malignancy of endometrial hyperplasia in women of reproductive age. Independent risk predictors that are included in the mathematical model for calculating personalized risk of malignancy of HE: extragenital and gynecological diseases, overexpression of *miR-210*, *miR-18a*, *miR-222*, reduced expression of *miR-221*, increased expression of pyruvate kinase M2 were identified. A personalized algorithm for calculating the risk of endometrial hyperplasia malignancy in the reproductive age has been developed and scientifically grounded, allowing to stratify patients into contingents of low and high risk. This algorithm can be used to justify the management of women of reproductive age with endometrial hyperplasia.