

На правах рукописи

Дмитриева Екатерина Владимировна

**ЭНДОМЕТРИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ТАМОКСИФЕНОМ В ПОСТМЕНОПАУЗЕ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

7 ДЕК 2016



Москва – 2016

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

Научные руководители:

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

Ордянец
Ирина Михайловна

заведующий кафедрой патологической анатомии,
цитологии и молекулярной патологии ИПК ФМБА
России, доктор медицинских наук

Забозлаев
Фёдор Георгиевич

Официальные оппоненты:

профессор кафедры акушерства и гинекологии
№1 лечебного факультета ФГБОУ 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

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 «27» декабря 2016 года в 11.00 часов по адресу г. Москва, ул. Фотиевой, 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/> 26 октября 2016 г.
Автореферат разослан « ____ » _____ 2016 года.

Ученый секретарь диссертационного совета
Д.212.203.01 кандидат медицинских наук

Лебедева
Марина Георгиевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Актуальность проблемы структурных изменений эндометрия на фоне приема тамоксифена при лечении опухоли молочной железы в постменопаузе в настоящее время не вызывает сомнений. Вопросы, касающиеся использования тамоксифена и «гинекологических осложнений», стали волновать врачей и пациенток еще в 1985 году, когда впервые М.А. Killackey с соавторами предположили существование связи между приемом антиэстрогенных препаратов, конкурентно ингибирующих периферические эстрогеновые рецепторы (ER), и возникновением рака эндометрия (РЭ) (Killackey M.A., 1985).

Неоспоримые преимущества длительного (5 и более лет) применения тамоксифена доказаны в широкомасштабных исследованиях у 30 тысяч пациенток в виде уменьшения смертности на 26% и снижения рецидивирования заболевания и частоты возникновения рака в противоположной молочной железе на 47% (Chia S.K., 2011). Ряд исследователей отмечали сокращение рецидивов на 27% и уменьшение риска смертельного исхода у пациенток до 55 лет на 17%, а после 55 лет — на 36% (Jones M.E. et al., 2012). В то же время, ретроспективные и наблюдательные исследования доказали, что у женщин в постменопаузе, принимавших антиэстрогенные препараты, риск развития полипов цервикального канала и эндометрия, гиперплазии и РЭ возрастает в два раза (Мамиконян И.О., 2015; Pérez- Medina T. et al., 2011; Dalbert D.V. et al., 2013).

Необходимость ранней диагностики и динамического наблюдения состояния эндометрия у пациенток, принимающих тамоксифен, на сегодняшний день остается предметом обсуждения. Рассматривая информативность трансвагинального ультразвукового метода исследования (УЗИ), необходимо отметить, что этот метод характеризуется повышенным риском ложноположительных результатов (Bertelli G. et al., 2010; Kazerooni Y., 2010; Gao W.L., 2011). Высокая частота ложноположительных и ложноотрицательных результатов УЗИ связана как с трудностями дифференциальной диагностики болезней эндометрия, в том числе на

фоне подслизистого и стромального отека, стимулированного приемом тамоксифена.

В настоящее время перспективным научным направлением остается поиск причин неэффективности гормонотерапии, среди которых рассматриваются различные варианты формирования резистентности к тамоксифену. Изучается структура рецепторов эстрогенов, а также факторы, сопряженные с их активацией (Богущ Т.А. и др., 2012; Паталяк С.В., 2014; Слонимская Е.М. и др., 2014; Jordan V.C., 2014).

Двойное влияние тамоксифена на гормонально зависимые органы-мишени не позволяет отказаться от его применения, однако требует пристального внимания к индуцированным им изменениям эндометрия.

Степень разработанности темы. Актуальность проблемы гиперпластических процессов и рака эндометрия на фоне длительного приема тамоксифена в настоящее время не вызывает сомнений. Эффективность использования данного антиэстрогена при раке молочной железы (РМЖ) неоспорима. Однако многие вопросы, связанные с лечением больных РМЖ, решаются разными авторами неоднозначно.

Противоречивость исследований по данной проблеме, сложившаяся порочная практика назначения гистероскопии и отдельного диагностического выскабливания (РДВ) слизистой матки с целью диагностики структурных изменений эндометрия у женщин, принимающих тамоксифен при лечении опухоли молочной железы в постменопаузе, обуславливают необходимость дальнейших научных изысканий. Изучение молекулярных детерминант пролиферативных процессов эндометрия требует выработки научно обоснованных критериев, повышающих точность и снижающих частоту неоправданных оперативных вмешательств.

Цель исследования: улучшить диагностику болезней эндометрия при лечении опухоли молочной железы тамоксифеном в постменопаузе.

Задачи исследования:

1. Определить диагностическую значимость ультразвукового метода исследования и гистероскопии в выявлении болезней эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе;

2. Изучить структурные изменения эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе;

3. Определить уровень экспрессии ER и прогестероновых рецепторов (PR), соотношение их изоформ, проонкогенных белков (Ki67 и p53), а также сосудистого эндотелиального фактора (VEGF) в эндометрии женщин с опухолями молочной железы, принимавших и не принимавших тамоксифен;

4. Разработать критерии, способствующие повышению точности диагностики структурных изменений эндометрия и снижающие частоту неоправданных внутриматочных оперативных вмешательств у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе.

Научная новизна исследования. В результате исследования дополнены сведения о патогенезе структурных изменений эндометрия у женщин с опухолью молочной железы, принимавших тамоксифен. На основании выявленных закономерностей экспрессии ER и PR, а также соотношения их изоформ, активности маркера апоптоза (p53) и пролиферативной активности (Ki67), уровня экспрессии VEGF расширены существующие представления о формировании структурных изменений эндометрия у женщин в постменопаузе с опухолью молочной железы, принимавших тамоксифен. Доказана роль VEGF в создании предпосылок для опухолевой трансформации эндометрия.

Патогенетически обоснованы лечебно-диагностические мероприятия у женщин с опухолью молочной железы, принимавших тамоксифен, направленные на повышение эффективности диагностики структурных изменений эндометрия и снижение частоты неоправданных внутриматочных манипуляций и оперативных вмешательств.

Теоретическая и практическая значимость. Разработана научная идея, обогащающая концепцию риска структурных изменений эндометрия у женщин с

опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе. Применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс высокоинформативных методов исследования, включая математико-статистический анализ.

Модифицирован существующий алгоритм ведения пациенток с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе. Показано, что внедрение предложенного комплекса мероприятий позволяет повысить точность диагностики структурных изменений эндометрия ($p < 0,05$) и снизить частоту неоправданных оперативных вмешательств в 2 раза ($p < 0,05$).

Методология и методы исследования. Настоящее исследование выполнено в период 2012–2015 гг. на клинической базе кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» (зав. кафедрой – засл. деятель науки РФ, профессор В.Е. Радзинский), в гинекологическом отделении государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница имени В.М. Буянова Департамента здравоохранения Москвы» (гл. врач – к.м.н. А.В. Саликов).

В соответствии с поставленными целью и задачами была разработана программа исследований, предусматривающая: клинико-статистический анализ (140 исследований), сонографическое исследование органов малого таза (140 исследований), гистероскопию с РДВ слизистой матки (140 исследований), морфологическое исследование эндометрия (140 исследований), исследование уровня экспрессии ER и PR, соотношение их изоформ в эндометрии (140 исследований), исследование уровня экспрессии биомолекулярного маркера Ki67 и маркера p53 и VEGF (140 исследований), статистическую обработку полученных результатов (140 исследований).

Показанием для госпитализации в дневной стационар 140 пациенток стали данные УЗИ органов малого таза, свидетельствующие об изменении структуры эндометрия (утолщение эндометрия > 5 мм, нечеткость и неровность контуров,

неоднородность эхо-структуры, наличие гиперэхогенных образований, повышенная эхогенность), в связи, с чем больным была проведена гистероскопия, РДВ слизистой матки с последующим гистологическим исследованием.

Под наблюдением с целью углубленного обследования находились 140 женщин в постменопаузе, из них 70 пациенток, не принимавших тамоксифен, с выявленными структурными изменениями эндометрия (I группа) и 70 пациенток, принимавших тамоксифен, со структурными изменениями эндометрия (II группа). В дальнейшем все пациентки были разделены на группы в зависимости от морфологической характеристики эндометрия.

Критерии включения явились возраст от 50 лет и старше, длительность постменопаузы более 1 года, увеличение М-эхо > 5 мм по данным УЗИ, наличие структурных изменений эндометрия по данным морфологического исследования, наличие в анамнезе гормонозависимого РМЖ у женщин, получавших адьювантную терапию тамоксифеном.

Критерии исключения из исследования стали возраст менее 50 лет, длительность постменопаузы менее 1 года, значения М-эхо < 5 мм по данным УЗИ.

На каждую пациентку была составлена индивидуальная карта, в которую было включено 77 параметров. Изученные параметры включали паспортные данные, социальный статус, жалобы, перенесенные заболевания (инфекционные, экстрагенитальные, гинекологические).

При сборе анамнеза обращали особое внимание на возраст менархе, характер менструальной функции, регулярность и продолжительность менструального цикла. Оценке была подвержена модель сексуального поведения пациенток: возраст начала половой жизни; контрацепция; сведения о браке. Изучена фертильная функция обследованных женщин: проанализированы сведения о каждой беременности; особенностях их течения и исходах; родах; паритете. Оценивали перенесенные и сопутствующие экстрагенитальные и гинекологические заболевания, их течение, длительность, лечение и исход.

Особое внимание уделяли времени наступления менопаузы и течению постменопаузы.

После получения необходимых анамнестических данных приступали к наружному осмотру. При этом учитывали характер телосложения, тип оволосения, состояние молочных желез. Объективное исследование женщин включало: антропометрические показатели с расчетом индекса массы тела (ИМТ), оценку типа оволосения и состояния кожных покровов.

ИМТ вычисляли по формуле: $\text{ИМТ} = \text{масса тела, кг} / (\text{рост тела, м})^2$. В норме ИМТ женщин постменопаузального возраста составляет 18,5-24,9. ИМТ ниже 18,5 соответствует астеническому типу телосложения, 26 и выше - гиперстеническому типу. ИМТ 18,5-24,9 свидетельствует о малой вероятности возникновения метаболических нарушений, от 35 до 39,9 – о средней степени риска развития, более или равное 40 – о высокой степени риска развития метаболических нарушений и соответствует 3-й степени ожирения (превышение массы тела на 100%).

Абдоминальное УЗИ органов малого таза проводили с использованием конвексного датчика с частотой 3,5 МГц при наполненном мочевом пузыре и 7,5 МГц – при трансвагинальном сканировании, при помощи ультразвукового аппарата Aplio 500 (Toshiba, Япония). Эхографически определяли размеры, положение, кровоснабжение и структуру тела матки, наличие включений в области миометрия, оценивали толщину и структуру эндометрия (М-эхо), структуру ткани яичника, наличие и объем жидкости в позадиматочном пространстве.

Гистероскопию с РДВ слизистой матки проводили операционным гистероскопом фирмы «Storz» (Федеративная Республика Германия) с постоянным орошением полости матки стерильным раствором 0,9% р-ра хлорида натрия, поступающего под давлением 40-50 мм рт. ст. Эта методика позволила визуально оценить структуру эндометрия, определить характер и локализацию измененных тканей слизистой матки после чего проведено РДВ слизистой матки с последующей контрольной гистероскопией.

Морфологическому исследованию подвергли операционный материал после РДВ слизистой матки. Проводку материала и приготовление парафиновых блоков осуществляли по стандартной схеме. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином. После предварительного исследования полученных препаратов приступали к морфологическому их изучению с помощью световой микроскопии по общепринятой методике.

Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3 мкм, которые монтировали на высокоадгезивные стекла (Polysine Slides, «Menzel GmbH & Co KG», Федеративная Республика Германия). В качестве первичных антител использовали моноклональные кроличьи антитела против anti-PR (1E2); anti-ER (SP1) (Ventana), моноклональные кроличьи антитела против рецепторов VEGF, Ki-67 и p53 производства Spring Bionce.

Депарафинирование, регидратацию, демаскировку антигена, окраску производили при помощи специализированной автоматизированной системы Ventana BenchMark® ULTRA (Соединенные Штаты Америки). Оценку иммуногистохимической (ИГХ) реакции оценивали полуколичественным методом, используя стандартный подход – подсчет числа клеток, экспрессирующих маркер на 100 клеток в десяти полях зрения. Результаты ИГХ реакции для ER и PR оценивали в баллах по шкале Allred (сумма баллов количества иммуноокрашенных клеток и интенсивности окрашивания). Для этого количество иммуногистохимически-позитивных клеток оценивали в баллах следующим образом: 0=0% клеток, 1=0,1–1% клеток, 2=2–10% клеток, 3=11–33% клеток, 4=34–66% клеток, 5=67–100% клеток, а интенсивность окрашивания оценивали в баллах следующим образом: 0 – полное отсутствие продукта реакции или выявление его в цитоплазме и ядрах менее 5% (экспрессия отсутствует), 1 – выявление продукта реакции в цитоплазме и ядре от 5 до 40%, распределенного фокально или диффузно (экспрессия слабая), 2 – выявление продукта реакции в цитоплазме и ядре от 40 до 70%, распределенного фокально или диффузно (экспрессия умеренная), 3 – выявление продукта реакции в цитоплазме и ядре более 70%, распределенного диффузно (экспрессия выраженная).

Экспрессию ER и PR в ядрах клеток эпителия желез и стромы оценивали по методу гистологического счета H-score по формуле $S = 1a + 2b + 3c$, где a — слабо окрашенные ядра клеток, %; b — умеренно окрашенные ядра клеток, %; c — сильно окрашенные ядра клеток. Оценка ИГХ реакции на рецепторы к эстрогенам и прогестерону производилась по балльной системе H-score (Таблица 1).

Таблица 1 — Критерии оценки уровня стероидной рецепции по балльной системе H-score

Балл по H-score	Отсутствие рецепции	Слабая рецепция	Умеренная рецепция	Выраженная рецепция
		0-10	11-100	101-200

ИГХ исследования проводили на базе патологоанатомического отделения федерального научно-клинического центра специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий федерального медико-биологического агентства (зав. отделением – д.м.н. Забозлаев Ф.Г., зав. кафедрой патологической анатомии, цитологии и молекулярной патологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Институт повышения квалификации федерального медико-биологического агентства» России.

Положения, выносимые на защиту:

1. Ультразвуковая диагностика структурных изменений эндометрия у женщин с опухолью молочной железы в постменопаузе, принимавших тамоксифен, не обладает чувствительностью и специфичностью, достаточной для суждения о структурных изменениях эндометрия и обоснований, необходимых для лечебно-диагностических мероприятий. Доля необоснованных лечебно-диагностических мероприятий у женщин в постменопаузе с опухолью молочной железы, принимавших тамоксифен, составляет 41,4%.

2. Комплексное иммуногистохимическое исследование расширяет представления о патогенезе структурных изменений эндометрия у женщин с

опухолью молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе. В частности, у 58,6% пациенток со структурными изменениями эндометрия установлена высокая экспрессия проонкогенных белков и рецепторов к стероидным гормонам и низкая – антионкогенных белков, в отличие от пациенток (41,4%) с железисто-кистозной атрофией эндометрия — низкая экспрессия рецепторов к стероидным гормонам и протоонкогенным белкам.

3. Разработанные критерии стратегии риска для женщин с опухолью молочной железы, принимающих тамоксифен в постменопаузе, позволяют повысить точность диагностики гиперпластических процессов эндометрия и снизить частоту неоправданных оперативных вмешательств в 2 раза.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Для создания базы данных и математической обработки статистического материала использовали пакет модулей STATISTICA® for Windows, Release 6.0 компании StatSoft®Inc., США (2003), серийный номер AXAR802D898511FA. Все полученные показатели у наблюдаемых пациенток были обработаны методами вариационной математической статистики.

Каждому параметру карты выкопировки, описывающему атрибутивный признак статистической единицы, отводили одну переменную в созданной базе данных, позиции по которым шифровали традиционным способом (0, 1, 2, 3 и т.д.). При нормальном распределении для количественных данных вычисляли среднее арифметическое (M), среднеквадратичное отклонение (O), среднюю ошибку средней арифметической (m); для количественных данных, при распределениях, отличных от нормальных, – медиана (Me), нижний и верхний квартили (LQ , UQ). Для определения достоверности данных использовали критерий Стьюдента – при количественных нормально распределенных данных, метод Mann–Whitney (U -тест) – для непараметрических данных. За критерий достоверности была принята величина $p < 0,05$. При анализе диагностических методов рассчитывали чувствительность, специфичность, прогностическую ценность иммуногистохимических маркеров, выраженные в процентах. Для

определения диагностической эффективности проводили ROC-анализ, который реализован в статистической программе SPSS.

Данная работа выполнена в рамках основного направления кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета Медицинского института РУДН «Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально-экономических условиях» (№ гос. регистрации 01.9.70 007346, шифр темы 317712).

Основные положения диссертации, выводы и практические рекомендации внедрены в практическую работу гинекологического отделения государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница имени В.М. Буянова Департамента здравоохранения города Москвы» (гл. врач – к.м.н. А.В. Саликов). Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета Медицинского института «Российский университет дружбы народов» и кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины факультета повышения квалификации медицинских работников Медицинского института Российского университета дружбы народов.

Клиническое исследование, анализ и интерпретация данных проведены автором самостоятельно. Участие автора в сборе первичного материала и его обработке более 90%, обобщении, анализе и внедрении в практику результатов исследования – 100%. Все научные выводы и положения, представленные в диссертации, автором получены лично. Аprobация диссертации состоялась на заседании кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» 10 июня 2015 года.

По результатам исследования опубликовано 7 печатных работ, из них 3 – в рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК РФ.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, трех глав, включающих полученные результаты и их обсуждение, заключения, содержащего выводы и практические рекомендации, указателя литературы, приложения. Работа изложена на 90 страницах машинописного текста, иллюстрирована 23 таблицами и 23 рисунками. Указатель литературы содержит 129 источников, из них 47 на русском и 82 — на иностранном языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследования и их обсуждение. Клинико-статистический анализ продемонстрировал сопоставимость обеих групп по возрасту, антропометрическим показателям, социальному положению, соматическим и гинекологическим заболеваниям ($p>0,05$).

Средняя длительность приема препарата составила $3,65 \pm 0,4$ года, причем у пациенток, принимавших тамоксифен, с выявленной железисто-кистозной атрофией эндометрия — $2,8 \pm 0,32$ года, а с гиперпластическими процессами эндометрия (ГПЭ) — $1,7 \pm 0,17$ года. То есть пациентки с железисто-кистозной атрофией эндометрия в 2 раза дольше принимали тамоксифен, чем пациентки с выявленными ГПЭ ($p=0,0285$). Эти данные не подтверждают результаты ряда исследователей (Negoiță M., 2010; Pérez-Medina M. et al., 2011), согласно которым пациентки, длительно принимающие тамоксифен, имеют повышенный риск развития ГПЭ и РЭ.

При изучении антропометрических данных обследованных пациенток не было найдено статистически значимых отличий по весу, росту и ИМТ, все женщины были гиперстенического типа телосложения ($p>0,05$). Эти данные подтверждают результаты ряда исследований (Честнова Ч.П., 2013; Демакова Н.А. и др., 2014; Dallal С.М. et al., 2013; Acmaz G. et al., 2014; Ozdemir S., 2015), согласно которым женщины с избыточной массой тела имеют повышенный риск развития ГПЭ.

Среди обследованных пациенток 78,6% женщин, принимавших тамоксифен, относились к числу работающих пенсионеров, из них каждая вторая ($p=0,157$) была занята тяжелым физическим трудом. При изучении анамнеза выявлено, что каждая

пятая пациентка, принимавшая тамоксифен, начинала половую жизнь до 18 лет, а каждая третья имела 3 и более аборт в анамнезе. Эти данные подтверждают мнение об увеличении риска гиперпластических заболеваний органов репродуктивной системы у женщин, перенесших искусственное прерывание беременности, за счет последующего нарушения менструальной функции и провоцирования развития других гинекологических заболеваний, а также риска развития РМЖ (Радзинский В.Е., 2010).

Нельзя не согласиться с большинством авторов о том, что преморбидный фон характеризовался высокой частотой разносистемных экстрагенитальных заболеваний и их однонаправленностью у всех обследованных нами женщин (Ткаченко Л.В., 2013; Недогода С.В. и др., 2014). Наиболее частыми экстрагенитальными заболеваниями были болезни сердечно-сосудистой системы, органов пищеварения и эндокринной системы. Однако статистически значимых различий по представленным экстрагенитальным заболеваниям среди пациенток, принимавших и не принимавших тамоксифен, выявлено не было ($p > 0,05$). Болезни сердечно-сосудистой системы выявлены у 92,8% пациенток, не принимавших тамоксифен и у 87,1% – принимавших тамоксифен; болезни органов пищеварения – 74,3% и 68,6% соответственно; эндокринной системы – 87,1% и 84,3% соответственно. Достоверные различия получены в сравниваемых группах по заболеваниям нервной системы, которыми в 7 раз чаще страдали пациентки, не принимавшие тамоксифен и варикозной болезни, которой страдали в 3 раза чаще пациентки, принимавшие тамоксифен. Эти данные подтверждаются рядом исследований, в которых прием тамоксифена ассоциировался со статистически значимым повышением риска легочной эмболии и тромбоза глубоких вен (Onitilo A.A. et al.; 2012; Kovac M. et al., 2015).

Что касается гинекологических заболеваний, то пациентки не принимавшие тамоксифен чаще страдали воспалительными заболеваниями гениталий, чем в группе сравнения ($p < 0,01$). Так, у 94,2% пациенток, не принимавших тамоксифен, в анамнезе были воспалительные заболевания гениталий, против 7,1% - принимавших тамоксифен. Дисфункциональные маточные кровотечения в анамнезе встречались у

каждой третьей пациентки, не принимавшей тамоксифен, в отличие от пациенток, принимавших тамоксифен ($p=0,0025$). В 2 раза чаще эндометриоз и в 2,5 раза чаще доброкачественные заболевания шейки матки отмечены у пациенток, не принимавших тамоксифен, в отличие от пациенток, принимавших тамоксифен ($p<0,05$ и $p<0,01$ соответственно).

При анализе структуры перенесенных гинекологических операций обращает на себя внимание частота первичных и повторных РДВ слизистой матки. Пациентки, принимавшие тамоксифен в 1,5 раза чаще производили РДВ слизистой матки с гистероскопией первично и в 4 раза чаще — повторно. Статистически достоверные различия в сравниваемых группах получены и по частоте оперативных вмешательств на шейке матки, которые в 4,5 раза чаще производили у пациенток, принимавших тамоксифен, что согласуется с данными других исследований (Kazerooni, Y., 2010; Gao W.L., 2011; Kalampokas T. et al., 2013), в которых число оперативных вмешательств (РДВ) у женщин, принимавших тамоксифен, в несколько раз выше, что скорее всего связано с высоким числом ложноположительных результатов ультразвукового исследования.

С целью определения значимости ультразвуковых показателей, ниже/выше которых возможно развитие структурных изменений эндометрия у женщин, принимающих тамоксифен нами был использован ROC-анализ.

Исходя из полученной ROC-кривой (Рисунок 1), качество прогностической значимости УЗИ - неудовлетворительное, что говорит о низкой клинической информативности данного метода диагностики (чувствительность метода составила 24,14%, специфичность – 92,68%).

Полученные результаты объясняются тем, что ни увеличение М-эха, ни признаки неоднородности его структуры не позволяют достоверно определить характер изменений эндометрия.

Наряду с УЗИ для визуальной оценки состояния слизистой матки использовали гистероскопию, при котором структурные изменения эндометрия характеризовались множеством признаков: неравномерной регенерацией; кровоточащими, некротическими участками; избыточной васкуляризацией; неравномерным

утолщением слизистой; полиповидными структурами, но эти же признаки характеризуют и высокий риск РЭ.

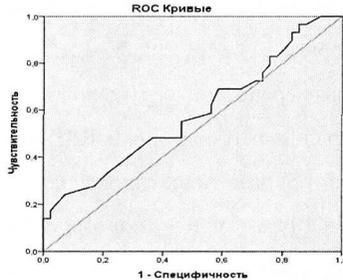


Рисунок 1 — ROC-анализ УЗИ в прогнозировании гиперплазии эндометрия, у женщин в постменопаузе, принимавших тамоксифен

При сопоставлении результатов гистероскопии и гистологического исследования полное совпадение эндоскопической картины и гистологического исследования получено у 62 (88,6%) женщин, принимавших тамоксифен.

У 29 (41,4%) пациенток, принимавших тамоксифен, при морфологическом исследовании эндометрия выявлены признаки атрофии эндометрия преимущественно кистозного типа с наличием атрофичных кистозно трансформированных эндометриальных желез с уплощенным эпителием, с наличием фиброзированной эндометриальной стромы и гиперплазией базального слоя эндометрия, а у 41 (58,6%) - были выявлены ГПЭ. Наши результаты совпадают с исследованиями Чекаловой М.А. и др., 2010; Kalampokas T. et al., 2013, подтверждающими, что тамоксифен вызывает пролиферацию стромального компонента и гиперплазию базального слоя эндометрия.

Таким образом, чрезвычайно высокая разнонаправленность характера гинекологических и экстрагенитальных заболеваний, на фоне которых возникают структурные изменения эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, по всей вероятности, являются одной из причин отсутствия систематизированных представлений о его патогенезе.

Несомненный интерес в связи с этим представляют исследования рецепторного статуса эндометрия, а также факторов пролиферации и апоптоза (Таганович А.Д. и др., 2011; Гуляева Л.Ф., 2012; Negoită M., 2011; Koukourakis M.I. et al. 2011; Thanapparasr D., 2013; Apostolou G. et al., 2014).

При железисто-кистозной атрофии эндометрия у женщин с опухолью молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, выявлен слабый равномерный уровень экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону в эпителии желез. Число ядер, экспрессирующих ER в железистом эпителии составило 88,6% ($44,9 \pm 5,3$), в клетках стромы – 29,3% ($57,2 \pm 7,1$), а число ядер, экспрессирующих PR в железистом эпителии, составило 81,2% ($18,5 \pm 4,6$), в клетках стромы – 17,4% ($14,2 \pm 3,8$). В то время как при ГПЭ число ядер экспрессирующих ER в железистом эпителии составило 83,8% ($281 \pm 9,7$), в клетках стромы – 59,3 ($262,3 \pm 8,8$), а число ядер экспрессирующих PR в эпителии желез составило – 66,9% ($289,4 \pm 10,2$), а в клетках стромы – 52,7% ($259,6 \pm 7,9$) (Leño R.B. et al., 2013).

На основании вышесказанного нами был проведен ROC-анализ, выявивший пороговые значения уровня экспрессии ER в эпителии и строме — 167,6 и 123,3, соответственно; PR в эпителии и строме — 199 и 70, соответственно (Рисунок 2, 3)

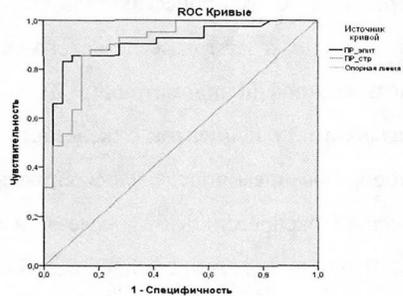
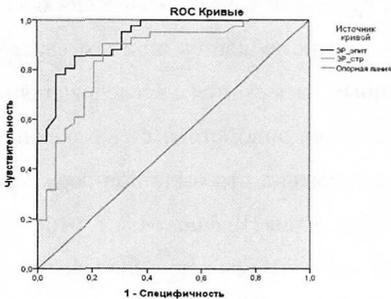


Рисунок 2 — ROC-кривые показателей уровня экспрессии рецепторов к эстрогену в эндометриальной строме и железистом эпителии

Рисунок 3 — ROC-кривые показателей уровня экспрессии рецепторов к прогестерону в эндометриальной строме и железистом эпителии

Полученные нами результаты иммуногистохимии согласуются, с исследованиями авторов (Слонимская Е.М. и др., 2014; Шашова Е.Е. и др., 2010), согласно которым действие тамоксифена развивается в двух направлениях.

В качестве первого рассматривали классический геномный путь активации, который осуществляется посредством взаимодействия эстрадиола с активационным центром AF-2 (activating functions – AF-2) рецептора. На эту же мишень воздействует и тамоксифен, являясь конкурентным антагонистом эстрадиола. На основании полученных результатов можно предположить, что железисто-кистозная атрофия эндометрия (41,4%) обусловлена данным путем активации.

Реализация неклассического геномного пути активации рецепторов эстрогенов альфа (ER α) происходит под воздействием ряда ростовых факторов (IGF-1, EGFR, Her-2/neu, TGF- β), способных активировать домен AF-1 ER α , который не блокируется тамоксифеном, что может быть связано с развитием гиперпластических процессов эндометрия (58,6%).

Равновесие между пролиферацией и апоптозом клеток осуществляют сложные взаимодействия между продуктами гена-онкогена Ki67 и антионкогеном p53. Из проведенного нами исследования следует, что умеренно выраженная экспрессия белка Ki67 в ядрах железистого эпителия и стромы определялась при гиперпластических процессах эндометрия, в то время как слабая экспрессия белка Ki67 - в ядрах клеток железистого эпителия и строме клеток при железисто-кистозной атрофии эндометрия ($p < 0,05$). Эти данные согласуются с исследованиями выявлявшими у пациенток с железистой гиперплазией эндометрия с выраженным кистообразованием определялось снижение пролиферации, что было подтверждено снижением экспрессии Ki67 в железах и строме эндометрия (Клещев М.А., 2010).

Что касается экспрессии белка p53 в ядрах клеток стромы и эпителия желез, то достоверно слабая экспрессия была выявлена при железисто-кистозной атрофии эндометрия по сравнению с пациентами с гиперпластическими процессами эндометрия. Эти данные подтверждаются в исследованиях (Метельская М. А., 2012; Miranda S.P. et al., 2010), в которых уровень экспрессии белка p53 было нулевым или низким в преобладающем количестве случаев при неопухолевых нозологиях.

Таким образом подтверждается достоверно повышение показателей Ki-67 у пациенток с ГПЭ и снижением Ki-67 при атрофии эндометрия. Фактор апоптоза p53 имеет низкие значения как у пациенток ГПЭ, так и без таковых, несколько ниже по доле маркированных ядер числовые значения у пациенток с железисто-кистозной атрофией эндометрия были значительно ниже.

При иммуногистохимическом исследовании рецепторов VEGF при железисто-кистозной атрофии была определена более низкая реакция клеточных структур стенок эндотелия сосудов ($157,3 \pm 10,8$), по сравнению с ГПЭ ($209,7 \pm 11,2$). При изучении VEGF выявлено увеличение данного показателя у всех женщин с ГПЭ независимо от приема и снижение его у пациенток с железисто-кистозной атрофией эндометрия, что совпадает с результатами других исследований (Лысенко О.В., 2014; Goldberg K. et al., 2014), в которых уровень VEGF значительно повышался при ГПЭ.

Нами был проведен ROC-анализ вышеуказанных белков, по результатам которого получены их пороговые значения в качестве маркеров выявления структурных изменений эндометрия: пролиферативная активность Ki-67 в эпителии — 7,05, в строме — 2,75; активность маркера апоптоза (p53) в эпителии — 3,6, в строме — 2,55; уровень экспрессии сосудистого эндотелиального фактора (VEGF) — 160,9 (Рисунок 4,5,6).

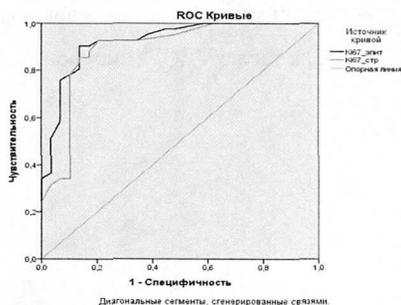


Рисунок 4 — ROC-кривая показателей уровня экспрессии Ki-67

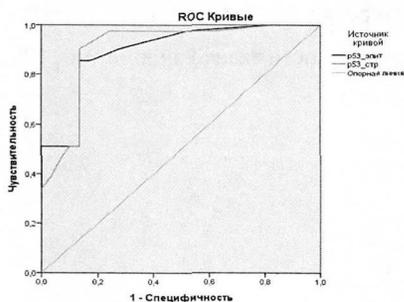


Рисунок 5 — ROC-кривая показателей уровня экспрессии p53

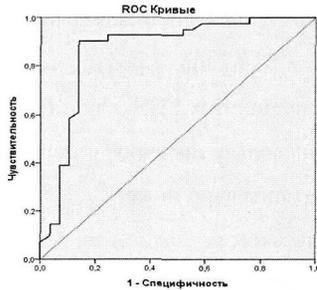


Рисунок 6 — ROC-кривая показателей уровня экспрессии рецепторов к VEGF

Полученные результаты исследования позволили сделать главный вывод: в основе патогенеза развития структурных изменений эндометрия у женщин, принимавших тамоксифен при лечении опухоли молочной железы в постменопаузе, лежит увеличение экспрессии ER и PR, Ki67 и VEGF и снижение p53 при ГПЭ, в то время как при железисто-кистозной атрофии эндометрия – снижение данных маркеров.

На основании полученных результатов был разработан алгоритм ведения пациенток с опухолями молочной железы в постменопаузе, принимающих тамоксифен. Предложенный алгоритм мероприятий включает на первом этапе обследования УЗИ, аспирационную биопсию эндометрия и офисную гистероскопию; на втором этапе — морфогистохимическое исследование рецептивности тканей эндометрия: ER и PR, Ki67 и p53, а также VEGF (Рисунок 7).

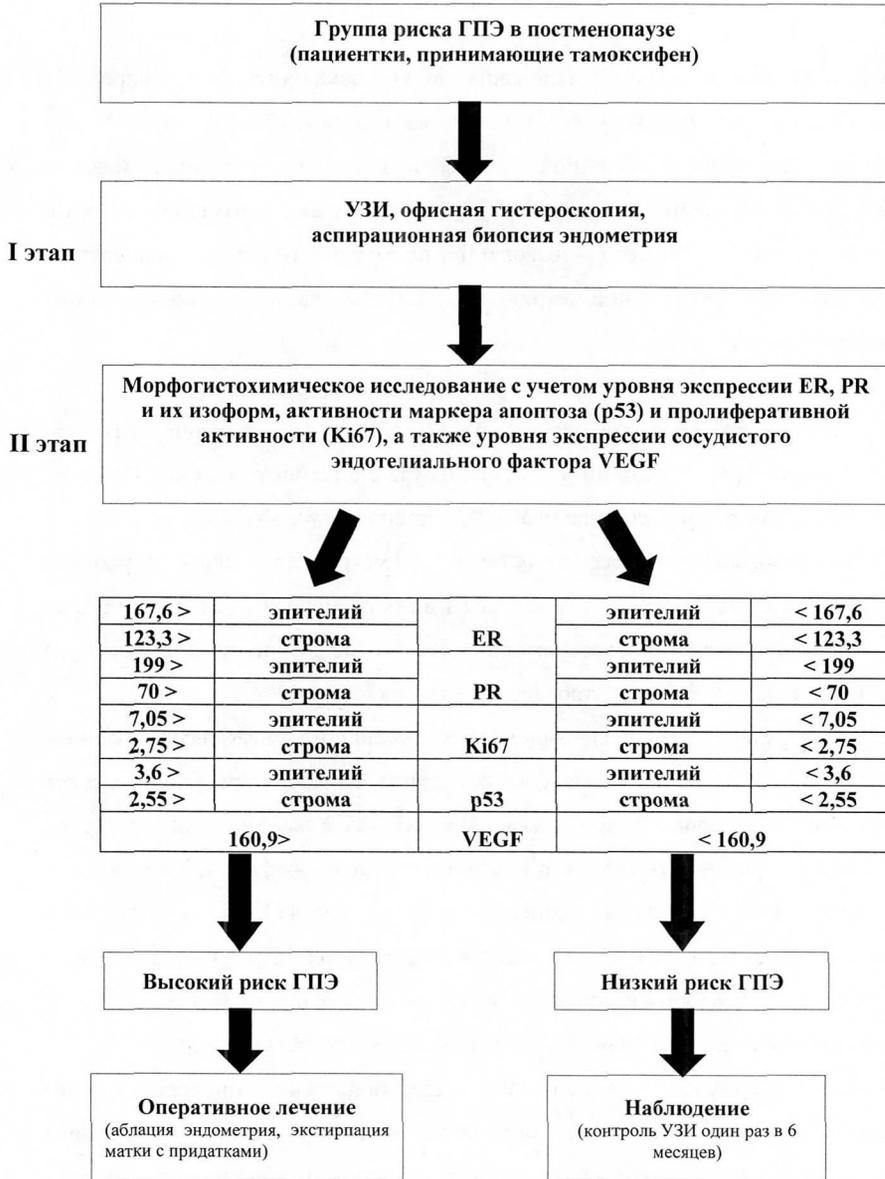


Рисунок 7 — Алгоритм ведения пациенток с опухолями молочной железы
в постменопаузе, принимающих тамоксифен

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог данного исследования, можно заключить, что внедрение в практику полученных результатов позволяет модифицировать алгоритм ведения пациенток с опухолями молочной железы в постменопаузе, принимающих тамоксифен. Предложенные критерии отбора в группу высокого риска развития гиперпластических процессов позволяют повысить точность диагностики структурных изменений эндометрия и снизить частоту неоправданных оперативных вмешательств.

Проведенное исследование позволяет сделать следующие **выводы**:

1. Эффективность ультразвуковой диагностики гиперпластических процессов эндометрия у женщин в постменопаузе с опухолью молочной железы, принимавших тамоксифен, составила 58,6%, гистероскопии — 88,6%.

2. Морфологическими особенностями эндометрия женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, являются простая железистая гиперплазия эндометрия без атипии (20%), полипоз эндометрия (38,6%) и железисто-кистозная атрофия эндометрия (41,4%).

3. Железистая гиперплазия эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, характеризуется высокой экспрессией рецепторов к стероидным гормонам как в железах, так и в строме эндометрия (эстрогеновых рецепторов в эпителии желез — $281 \pm 9,7$; в строме — $262,3 \pm 8,8$; прогестероновых рецепторов — $289,4 \pm 10,2$ и $259,6 \pm 7,9$ соответственно), в отличие от железисто-кистозной атрофии эндометрия (эстрогеновых рецепторов в эпителии желез — $44,9 \pm 5,3$; в строме — $57,2 \pm 7,1$; прогестероновых рецепторов — $18,5 \pm 4,6$ и $14,2 \pm 3,8$, соответственно).

4. Молекулярными и клеточными детерминантами гиперпластических процессов эндометрия у женщин, с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, являются умеренная экспрессия маркера пролиферации (Ki67) и низкая — маркера апоптоза (p53), что подтверждается достоверным повышением маркера пролиферации Ki67 – с $22,3/11,3\%$ (клетки

эпителия/стромы) до 5,3/2,5% при железисто-кистозной атрофии эндометрия, а также снижением маркера апоптоза p53 с 4,2/5,8% до 3,1/2,3%, соответственно. Железистая гиперплазия эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, характеризуется высокой экспрессией рецепторов к сосудистому эндотелиальному фактору ($209,7 \pm 11,2$), в отличие от железисто-кистозной атрофии эндометрия ($157,3 \pm 10,8$).

5. ROC-анализ позволяет определить уровень экспрессии эстрогеновых рецепторов в эпителии — 167,6 (h-score, баллы) и строме — 123,3 (h-score, баллы); прогестероновых рецепторов в эпителии — 199 (h-score, баллы) и строме — 70 (h-score, баллы), соответственно. Пролиферативная активность маркера пролиферации Ki-67 в эпителии — 7,05 (h-score, баллы) и 2,75 в строме (h-score, баллы), активность маркера апоптоза (p53) в эпителии — 3,6 (h-score, баллы) и в строме — 2,55 (h-score, баллы). Уровень экспрессии сосудистого эндотелиального фактора (VEGF) — 160,9 (h-score, баллы). Данные значения приняты за пороговые в качестве маркеров выявления структурных изменений эндометрия.

6. Разработанный комплекс диагностических мероприятий, включающий на первом этапе обследования ультразвуковое исследование органов малого таза, аспирационную биопсию эндометрия под контролем офисной гистероскопии; на втором — морфогистохимическое исследование рецептивности тканей эндометрия, эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, маркера пролиферации (Ki67) и апоптоза (p53), а также сосудистого эндотелиального фактора (VEGF), позволяет выделить группы риска по развитию гиперпластических процессов эндометрия у женщин, принимавших тамоксифен, и снизить риск неоправданных оперативных вмешательств в 2 раза.

На основании полученных результатов сформулированы **практические рекомендации**:

1. Всем женщинам в постменопаузе с опухолью молочной железы, принимавшим тамоксифен, каждые 6 месяцев необходима ультразвуковая диагностика с измерением толщины эндометрия. При увеличении толщины

эндометрия более 5 мм — аспирационная биопсия эндометрия под контролем офисной гистероскопии.

2. Выбор лечебной тактики при гиперпластических процессах эндометрия следует осуществлять с учетом иммуногистохимической характеристики рецепторного статуса эндометрия (эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эпителии и строме), маркера пролиферации (Ki-67) и апоптоза (p53), уровня экспрессии сосудистого эндотелиального фактора (VEGF).

3. Для повышения точности диагностики гиперпластических процессов эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, морфологическое исследование необходимо дополнять иммуногистохимическим методом определения эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, биомолекулярных маркеров (Ki67, p53) и сосудистого эндотелиального фактора. За пороговые следует принимать следующие значения: эстрогеновых рецепторов в эпителии - 167,6 (h-score, баллы) и в строме - 123,3 (h-score, баллы), прогестероновых рецепторов – 199 и 70, соответственно; Ki-67 - 7,05 и 2,7, соответственно; p53 - 3,6 и 2,55, соответственно; сосудистого эндотелиального фактора (VEGF) - 160,9 (h-score, баллы). Это позволит улучшить дифференциальную диагностику заболеваний эндометрия и снизить неоправданные оперативные вмешательства.

На наш взгляд перспективными для дальнейшего научного поиска направлениями являются разработка других критериев риска и прогноз развития структурных изменений эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимающих антиэстрогенные препараты.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Дмитриева, Е.В. Состояние эндометрия у женщин, получающих адъювантную терапию, тамоксифеном после хирургического лечения рака молочной железы / Е.В. Дмитриева, О.А. Пустотина, И.Н. Костин // **Вестник РУДН. Серия: Медицина.** – 2013. – № 5. – С.219–223.
2. Генетический риск развития гиперпластического процесса в эндометрии и в молочных железах, ассоциированный полиморфизмом генов-кандидатов / И.М. Ордянц, С.Э. Аракелов Е.А. Павлова, Е.В. Дмитриева, А.А. Куулар // **Мать и Дитя в Кузбассе.** – 2014. – № 4. – С.62–65.
3. Прогностическая значимость генетических факторов в развитии миомы матки и ее сочетании с аденомиозом / И.М. Ордянц, С.Э. Аракелов, В.В. Карданова, Е.В. Дмитриева, Е.Г. Ордянц // **Мать и Дитя в Кузбассе.** – 2014. – № 3. – С.32–35.
4. Аракелов, С.Э. Особенности состояния здоровья и качества жизни женщин, получающих заместительную гормональную терапию в постменопаузе / С.Э. Аракелов, Е.В. Дмитриева, И.М. Ордянц // **Эффективная фармакотерапия.** – 2014. – № 11-1. – С.16–20.
5. Уровень экспрессии эстрогеновых, прогестероновых и андрогеновых рецепторов и соотношение их изоформ при гиперпластическом процессе в эндометрии и молочных железах / М.И. Ордянц, Ф.Г. Забозлаев, С.Э. Аракелов, Е.А. Павлова, Е.В. Дмитриева // **Естественные и медицинские науки: актуальные проблемы и перспективы развития: Матер. II Международ. научно-практич. конференции** – 2013. – № 2. – С.121. – 125.
6. Прогностическая значимость генетических факторов в развитии миомы матки и ее сочетании с аденомиозом / И.М. Ордянц, М.И. Чурносоев, В.В. Карданова, Е.В. Дмитриева // **Естественные и медицинские науки: актуальные проблемы и перспективы развития: Матер. II Международ. научно-практич. конференции.** – 2013. – № 2. – С.109–114.
7. Ордянц, И.М. Прогностическая значимость генетических факторов при миоме матки и ее сочетании с аденомиозом / И.М. Ордянц, В.В. Карданова, Е.В. Дмитриева // **Матер. I Национального Конгресса по регенеративной медицине: Тезисы Общеросс.конфер.** –М. 2013. – С.189.

ЭНДОМЕТРИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ТАМОКСИФЕНОМ В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

Дмитриева Екатерина Владимировна

(Россия)

Диссертационное исследование посвящено проблеме улучшения диагностики болезней эндометрия при лечении опухоли молочной железы тамоксифеном в постменопаузе. В результате исследования расширены представления о патогенезе структурных изменений эндометрия на фоне приема тамоксифена. Разработана научная идея, обогащающая концепцию риска структурных изменений эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе. Модифицирован существующий алгоритм ведения этих пациенток. Показано, что внедрение предложенного комплекса мероприятий позволяет повысить точность диагностики структурных изменений эндометрия ($p < 0,05$) и снизить частоту неоправданных оперативных вмешательств (в 2 раза ($p < 0,05$)).

ENDOMETRIAL IN THE TREATMENT OF BREAST CANCER TAMOXIFEN HOSTMENOPAUSAL

Dmitrieva Ekaterina Vladimirovna

(Russia)

The thesis is devoted to the problem of improving the diagnosis of diseases of the endometrium in the treatment of breast cancer with tamoxifen in postmenopausal women. The study broadens understanding of the pathogenesis of structural changes in the endometrium of took tamoxifen. A scientific idea, enriching the concept of the risk of structural changes in the endometrium of women with breast tumors who took tamoxifen. Modify existing algorithm of patients with breast tumors treated with tamoxifen in postmenopausal women. It is shown that the proposed introduction of a package of measures to improve the accuracy of diagnosis of structural changes of the endometrium ($p < 0.05$), and reduce the frequency of unnecessary surgical interventions (in the 2-fold ($p < 0.05$)).

Заказ № 66-а/11/2016 Подписано в печать 26.10.2016 Тираж 100 экз. Усл. п.л. 1,2



ООО «Цифровичок», тел. (495) 649-83-30
www.cfr.ru ; e-mail: zak@cfr.ru