

І.П. Несіна¹
 Н.П. Юрченко¹
 О.В. Бресєва¹
 С.В. Неспрядько²
 Т.С. Вітрук²
 Л.Г. Бучинська¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Національний інститут раку МОЗ України, Київ, Україна

Ключові слова: рак ендометрія, стероїдні гормони, сироватка та лімфоцити периферичної крові, репарація ДНК, хромосомна нестабільність.

РІВЕНЬ СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА РАК ЕНДОМЕТРІЯ З РІЗНИМ СТАНОМ МЕНСТРУАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ ТА ПОКАЗНИКАМИ НЕСТАБІЛЬНОСТІ ГЕНОМУ

Мета: оцінити клініко-морфологічні та генетичні характеристики хворих на рак ендометрія (РЕ) з урахуванням концентрації стероїдних гормонів у сироватці периферичної крові. **Об'єкт і методи:** сироватка та лімфоцити периферичної крові (СПК та ЛПК) і зразки операційного матеріалу 46 хворих на РЕ віком від 37 до 73 років (середній вік $56,3 \pm 7,3$ року). Як контроль використовували СПК і ЛПК 24 практично здорових жінок віком 37–57 років (середній вік $43,8 \pm 9,9$ року). **Результати:** встановлено, що у хворих на РЕ порушення гормонального балансу асоціюється з підвищенням у СПК коефіцієнта співвідношення естроген/прогестерон порівняно із здоровими жінками, яке у пацієнок зі збереженою менструальною функцією пов'язане з підвищенням рівня естрадіолу і недостатністю прогестерону, а у пацієнок менопаузального періоду — з високою концентрацією естрадіолу при рівні прогестерону у межах норми. Показано, що підвищення концентрації естрадіолу у СПК хворих на РЕ асоціюється з такою ознакою метаболічного синдрому, як підвищений індекс маси тіла. У пацієнтів із РЕ з тривалістю менопаузального періоду > 10 років захворювання виникає на фоні зниженого функціонування систем репарації ДНК і вираженої хромосомної нестабільності у ЛПК. **Висновки:** РЕ є гетерогенним захворюванням за рівнем естроген-прогестеронового балансу у СПК і нестабільності геному у ЛПК, що пов'язане зі станом менструальної функції та тривалістю менопаузального періоду у хворих. Отримані дані можуть бути використані для корекції терапевтичних заходів у пацієнок із РЕ.

ВСТУП

Численними дослідженнями встановлено, що провідну роль у виникненні раку ендометрія (РЕ) відіграє порушення гормонального гомеостазу, зокрема дисбаланс стероїдних гормонів [1]. При цьому суттєве значення в патогенезі цього захворювання належить надлишковій стимуляції естрогенами проліферації епітеліальних клітин, яка поєднується з недостатністю прогестерону (Пр). Згідно із сучасним уявленням, гормональний канцерогенез здійснюється за промоторним або генотоксичним механізмом. У першому випадку естрогени та їх метаболіти виступають кофакторами, що прискорюють поділ епітеліальних клітин ендометрія і водночас сприяють збільшенню кількості неопластичних клітин, які з'явилися в результаті впливу канцерогенного чинника. При генотоксичному варіанті естрогени та їх метаболіти (зокрема 16 α -гідроксіестрон і 4-гідроксіестрадіол) безпосередньо пошкоджують ДНК, тобто виступають у ролі канцерогенів [2, 3].

Відомо, що РЕ найчастіше (у 75–80% випадків) розвивається у жінок у період менопаузи, однак останніми роками відмічають збільшення кількос-

ті хворих і серед жінок репродуктивного віку, у яких виникнення захворювання також пов'язане з гіперестрогенією на фоні низьких значень Пр. Проте, на відміну від жінок молодого віку, у яких основним джерелом естрогенів є яєчник, у пацієнок менопаузального періоду біосинтез естрогенів відбувається позагонадно — у жировій, м'язовій та деяких інших тканинах [4]. Втім, компенсаторна секреція гормонів клітинами і тканинами, для яких не властива ендокринна функція, є неконтрольованою, що і призводить до стану гіперестрогенії та розвитку раку у тканинах-мішенях, у тому числі ендометрії [5, 6].

Крім цього, на думку деяких авторів, розвиток РЕ пов'язаний не тільки з наявністю гіперестрогенії, а також із порушеннями у роботі ферментів, які беруть участь у метаболізмі естрогенів [5]. Зокрема, підвищення вмісту естрадіолу (Е) у пухлинній тканині ендометрія асоційоване зі змінами активності ароматази [7]. Безумовно, ще одним важливим фактором ризику розвитку РЕ є метаболічний синдром, ознаки якого виявляють у хворих із цією патологією [5, 6, 8].

Безперечно, виникнення РЕ (як і інших онкологічних захворювань) пов'язане з інактивуючими мутаціями (чи епігенетичними змінами) ключових компонен-

тив систем, що відповідають за стабільність життєдіяльності клітин органа, де виникла пухлина. При цьому можуть утворюватися спорадичні пухлини або (за наявності у людини гермінальних мутацій певних генів) спадкові форми онкологічних захворювань.

Виникнення ендометріоїдного РЕ здебільшого пов'язане з мутаційними змінами генів *P TEN*, *PIK3CA*, *KRAS*, *β -catenin*. Спадкові форми РЕ найчастіше розвиваються у рамках синдрому Лінча, при якому, окрім неполіпозного колоректального раку та РЕ, можуть виникати пухлини яєчника, шлунка, підшлункової залози та деякі інші [9–11]. В основі цього синдрому лежить гетерозиготне носійство інактивуючої мутації у genaх репарації неспарених основ ДНК (mismatch repair, MMR: *MSH2*, *MLH1*, *MSH3*, *MSH6*, *PMS1* та *PMS2*), які зумовлюють підвищену чутливість клітин до впливу шкідливих чинників середовища (у тому числі естрогенів та їх метаболітів) і значно збільшують ризик розвитку раку.

Оцінити рівень вразливості геному людини, наявність прихованої нестабільності та визначити ефективність функціонування систем репарації можна за допомогою розроблених тест-систем. Зокрема, використовують лімфоцити периферичної крові (ЛПК) — метод ДНК-комет — та цитогенетичний метод дослідження хромосом [12, 13]. З урахуванням вищезазначеного зіставлення гормонального статусу хворих на РЕ зі збереженою менструальною функцією та у стані менопаузи з рівнем нестабільності геному у їх ЛПК дозволить встановити можливі взаємозв'язки між генетичними та гормональними особливостями таких пацієнток.

Мета дослідження полягала у визначенні асоціативних зв'язків між рівнем стероїдних гормонів у сироватці периферичної крові (СПК), клінікоморфологічними та генетичними характеристиками хворих на РЕ.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Матеріалом дослідження були СПК і ЛПК, які отримували до початку оперативного лікування, та зразки операційного матеріалу 46 хворих на РЕ віком від 37 до 73 років (середній вік $56,3 \pm 7,3$ року). Як контроль використовували СПК і ЛПК 24 практично здорових жінок віком 37–57 років (середній вік $43,8 \pm 9,9$ року). Усі дослідження проводили відповідно до міжнародних етичних засад. Кров (10,0 мл) у здорових донорів і хворих на РЕ отримували з ліктьової вени і переливали у 3 пробірки: з розчином CLOT ACTIVATOR (для виділення сироватки) і у розчин K_2EDTA та гепарину (для отримання лімфоцитів). Для виділення сироватки кров центрифугували протягом 10 хв при 1000 об./хв, сироватку обережно збирали з поверхні, розливали по 500,0 мкл і заморожували при $-20^\circ C$ до використання. ЛПК обробляли безпосередньо після забору крові. Дослідження рівня пошкодження ДНК лімфоцитів здійснювали за допомогою методу гель-електрофорезу ізольованих клітин, а препарати хромосом виготовляли й аналізували за загальноприйнятою методикою, як описано у наших попередніх роботах [12, 13].

При проведенні дослідження концентрацію Е і Пр у СПК визначали за методом імуноферментного аналізу (ІФА). Використовували набори реактивів фірми «DRG» Estradiol та Progesterone Enzyme immunoassay Kit ELISA (Німеччина) з референтними значеннями для жінок репродуктивного та менопаузального періоду [14]. Дані про концентрацію гормонів отримували на автоматичному аналізаторі GBG ChemWell[®] із програмним забезпеченням: Е — у пг/мл, Пр — нг/мл. Потім порівнювали із референтними для жінок відповідного вікового періоду. Так, концентрація Е у фолікулярну фазу здорової жінки із збереженою менструальною функцією може коливатися у межах 12,5–166,0 пг/мл, у лютеїнову фазу — 43,8–211,0 пг/мл, а у менопаузальний період не повинна перевищувати 54,7 пг/мл. Рівень Пр у жінок у фолікулярну фазу менструального циклу становить 0,2–1,5 нг/мл, лютеїнову фазу — 1,7–27,0 нг/мл, а у менопаузі — 0,1–1,0 нг/мл.

Враховуючи широкі межі коливань рівня зазначених гормонів у жінок зі збереженою менструальною функцією в нормі і низькі концентрації цих гормонів у жінок в менопаузі, отримані дані оцінювали таким чином: концентрацію Е та Пр у СПК хворих на РЕ зі збереженою менструальною функцією порівнювали із показниками, отриманими у контролі, і з референтними даними здорових жінок відповідного віку. Високою концентрацією Е та Пр вважали значення, вищі за середні, визначені у групі здорових пацієнток. Для хворих на РЕ і здорових жінок менопаузального віку як високу концентрацію Е і Пр розцінювали значення, вищі за максимальні показники референтної норми для жінок менопаузального періоду (54,7 пг/мл та 1,0 нг/мл відповідно).

Крім цього, у хворих (за даними про зріст і масу тіла) визначали індекс маси тіла (ІМТ) за формулою Кетле:

$$IMT = \frac{\text{маса тіла (кг)}}{\text{зріст (м) у квадраті}}$$

Морфологічне дослідження пухлин проводили на препаратах, забарвлених гематоксиліном і еозинном.

Отримані результати обробляли методом варіаційної та непараметричної статистики за допомогою пакета програм Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.). Вони не відповідали критеріям нормального розподілу, і тому для їх аналізу та порівняння було застосовано тест Манна — Уїтні. Достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз менструального стану обстежених пацієнток показав, що у 15 (62,5%) здорових жінок була збережена менструальна функція; у 6 (25,0%) з них забір крові проведено у фолікулярну фазу (до 14-ї доби менструального циклу), у 9 (37,5%) — у лютеїнову (після 14-ї доби менструального циклу). 5 (20,8%) жінок перебували у менопаузі (від 2 до 5 років) та 4 (16,7%) — у перименопаузі (вік 45–55, відсутність менструації мен-

ше 1 року). Серед хворих на РЕ збережену менструальну функцію визначено в 11 (23,9%) випадках; у 3 (6,5%) із них забір крові здійснювали у фолікулярну, а у 8 (17,4%) — в лютеїнову фазу менструального циклу. Поряд із цим 5 (10,9%) пацієнок із РЕ були у стані перименопаузи (вік 45–55, порушення менструального циклу з рецидивуючими кровоточками або відсутність менструації менше 1 року) [15], а більшість — 30 (65,2%) хворих — перебували у менопаузальному періоді, у тому числі у 10 (21,7%) з них термін менопаузи становив 2–5 років, ще у 10 (21,7%) — 6–10 років і у решти 10 (21,7%) — 11–23 роки.

При визначенні ІМТ хворих на РЕ встановлено, що нормальна маса тіла (ІМТ 20,0–27,9 кг/м²) була у 19 (41,3%), ожиріння I ступеня (ІМТ 28,0–30,9 кг/м²) — у 6 (13,1%), ожиріння II ступеня (ІМТ 31,0–35,9 кг/м²) — у 14 (30,4%), ожиріння III та IV ступеня (ІМТ понад 35,9 кг/м²) — у 7 (15,2%). Тобто більшість (58,7%) досліджених пацієнок із РЕ мали надмірну масу тіла.

Морфологічне дослідження зразків операційного матеріалу показало, що 6 (13,0%) пухлин мали будову високо- (G1), 21 (45,7%) — помірно- (G2) та 19 (41,3%) низькодиференційованих (G3) ендометриодних карцином ендометрія.

За результатами проведеного ІФА встановлено, що у СПК здорових обстежених і хворих на РЕ спостерігають високу варіабельність індивідуальних показників концентрації стероїдних гормонів (табл. 1).

Таблиця 1

Рівень Е і Пр у СПК хворих на РЕ і здорових жінок залежно від стану менструальної функції

Стан менструальної функції	Концентрація гормону, М ± т (індивідуальні коливання)			
	Е, пг/мл		Пр, нг/мл	
	Контроль	РЕ	Контроль	РЕ
Фолікулярна фаза	63,0 ± 5,4 (26,1–97,9)	94,5 ± 8,3* (61,3–162,0)	6,0 ± 1,8 (0,1–11,3)	3,2 ± 0,4 (2,9–3,5)
Лютеїнова фаза	76,6 ± 4,0 (64,1–112,2)	88,6 ± 9,4 (47,7–108,2)	9,3 ± 2,6 (1,9–29,5)	2,3 ± 0,3* (0,2–9,3)
Перименопауза	39,6 ± 7,7 (23,4–42,7)	50,2 ± 7,1 (37,4–68,7)	5,6 ± 1,4 (0,4–6,0)	0,7 ± 0,4* (0,2–1,6)
Менопауза: 2–5 років	29,3 ± 2,6 (24,1–40,0)	39,3 ± 2,4* (23,0–76,7)	0,9 ± 0,1 (0,1–1,0)	0,9 ± 0,8 (0,2–1,9)

*Різниця достовірна (p < 0,05) порівняно з контролем.

У здорових жінок зі збереженою менструальною функцією індивідуальні коливання Е становили 26,1–112,2 пг/мл, а Пр — 0,1–29,5 нг/мл. Середня концентрація Е у СПК цієї групи обстежених у фолікулярну фазу циклу дорівнювала 63,0 ± 5,4 пг/мл, у лютеїнову — 76,6 ± 4,0 пг/мл, а Пр — 6,0 ± 1,8 та 9,3 ± 2,6 нг/мл відповідно. У здорових жінок менопаузального періоду концентрація Е і Пр у СПК не перевищувала референтні значення норми — 24,1–40,0 пг/мл (у середньому 29,3 ± 2,6 пг/мл) та 0,1–1,0 нг/мл (у середньому 0,9 ± 0,1 нг/мл) відповідно.

Індивідуальні коливання концентрації стероїдних гормонів у хворих зі збереженою менструальною функцією також були у межах норми (коливання Е становили 47,7–162,0 пг/мл, а Пр — 0,2–9,3 нг/мл). Проте концентрація Е мала тенденцію до підвищення,

досягши у фолікулярну фазу циклу 94,5 ± 8,3 пг/мл, а у лютеїнову — 88,6 ± 9,4 пг/мл. Водночас концентрація Пр у СПК хворих на РЕ із збереженою менструальною функцією була нижчою, ніж у контролі (p < 0,003), як у фолікулярну фазу циклу — 3,2 ± 0,4 нг/мл, так і у лютеїнову — 2,3 ± 0,3 нг/мл. У хворих менопаузального періоду індивідуальні коливання Е були у межах 23,0–76,7 пг/мл, а Пр — 0,2–1,9 нг/мл. При цьому у частини менопаузальних хворих значення Е перевищували показники референтної норми (54,7 пг/мл), становивши у середньому при тривалості менопаузи 2–5 років — 39,3 ± 2,4, 6–10 років — 48,7 ± 3,6 і > 10 років — 54,2 ± 3,2 пг/мл. Концентрація Пр у СПК пацієнок менопаузального періоду в середньому становила 0,9 ± 0,8 нг/мл при тривалості менопаузи 2–5 років, 1,1 ± 0,56 нг/мл — 6–10 років, 0,7 ± 0,3 нг/мл — > 10 років.

На особливу увагу заслуговують результати ІФА у хворих на РЕ перименопаузального періоду, в яких рівень Е наближався до максимальних значень референтної норми (50,2 ± 7,1 пг/мл), а вміст Пр був низьким (0,7 ± 0,4 нг/мл), що значно відрізнялося від цих показників у здорових жінок (39,6 ± 7,7 пг/мл та 5,6 ± 1,4 нг/мл відповідно).

Слід зазначити, що високу концентрацію Е у здорових жінок зі збереженою менструальною функцією виявляли тільки у половині (50,0%) випадків, а у менопаузальний період взагалі не спостерігали. На відміну від цього, 66,7% хворих на РЕ зі збереженою менструальною функцією і 40,0% у період менопаузи мали високу концентрацію Е у СПК (рисунк). Проте якщо, як зазначено вище, концентрація Е у СПК пацієнок зі збереженою менструальною функцією чи у перименопаузі була, як і у контрольній групі, у межах референтної норми, то майже у половині хворих на РЕ менопаузального періоду рівні Е перевищували їх референтні значення.

Враховуючи відомості, що розвиток злякисних новоутворень ендометрія частіше відбувається на фоні зміненого балансу Е/Пр, доцільним було провести порівняльне визначення коефіцієнта такого співвідношення у СПК хворих зі збереженою менструальною функцією та у пери- і менопаузі (табл. 2).

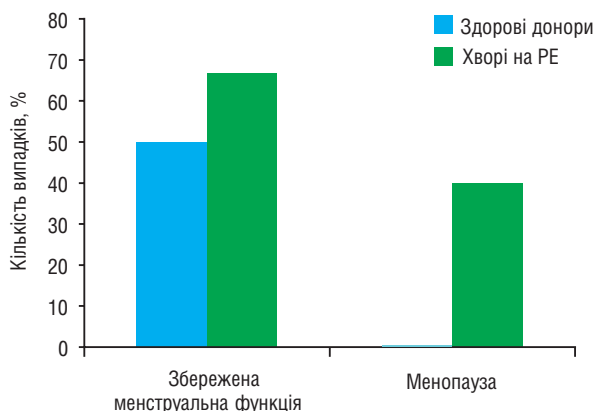


Рисунок. Частота випадків з високою концентрацією Е у СПК здорових жінок і хворих на РЕ

Таблиця 2

Коефіцієнти співвідношення Е/Пр у СПК хворих на РЕ і здорових жінок залежно від стану менструальної функції

Стан менструальної функції	Коефіцієнт Е/Пр	
	Здорові жінки	Хворі на РЕ
Збережена функція:		
фолікулярна фаза	$10,5 \cdot 10^{-3}$	$29,5 \cdot 10^{-3}$
лютеїнова фаза	$8,2 \cdot 10^{-3}$	$38,5 \cdot 10^{-3}$
Перименопауза	$6,6 \cdot 10^{-3}$	$71,7 \cdot 10^{-3}$
Менопауза:		
2–5 років	$32,6 \cdot 10^{-3}$	$43,7 \cdot 10^{-3}$

З'ясувалося, що у хворих на РЕ зі збереженою менструальною функцією коефіцієнт Е/Пр у фолікулярну фазу циклу становив $29,5 \cdot 10^{-3}$, а у лютеїнову $38,5 \cdot 10^{-3}$, що було у 2,8 та у 4,7 рази вище цих значень у здорових жінок (відповідно $10,5 \cdot 10^{-3}$ та $8,2 \cdot 10^{-3}$). Підвищення коефіцієнта Е/Пр у хворих на РЕ зі збереженою менструальною функцією зумовлено недостатністю Пр, що, на думку інших дослідників, свідчить про існування у таких хворих відносної гіперестрогенії [15].

Водночас гіперестрогенія у хворих жінок у перименопаузі була абсолютною на фоні максимально допустимого рівня Е ($50,2 \pm 7,1$ пг/мл) і рівня Пр, який не перевищував максимальні значення норми ($0,7 \pm 1,2$ нг/мл), що зумовило значне підвищення коефіцієнта Е/Пр ($71,7 \cdot 10^{-3}$). Для порівняння, у СПК здорових жінок перименопаузального періоду середній рівень Е був низьким ($39,6$ пг/мл), а Пр високим ($5,6$ нг/мл) зі значенням коефіцієнта Е/Пр — $6,6 \cdot 10^{-3}$.

У хворих на РЕ у період менопаузи коефіцієнт співвідношення Е/Пр підвищувався: при тривалості менопаузи 2–5 років до $43,7 \cdot 10^{-3}$, 6–10 років — до $44,3 \cdot 10^{-3}$, досягаючи максимальних значень у СПК хворих у менопаузальний період > 10 років — $66,8 \cdot 10^{-3}$.

Для визначення можливих зв'язків між високими концентраціями Е, коефіцієнтом Е/Пр і таким показником прогресії пухлини, як ступінь диференціювання, проведено порівняння груп хворих менопаузального періоду з високим і низьким рівнем Е в СПК (табл. 3). Як видно з наведених даних, у групі хворих з рівнем Е, що відповідав референтним показникам норми, відзначено вищий рівень Пр і нижчий коефіцієнт співвідношення Е/Пр ($23,9 \cdot 10^{-3}$) порівняно з хворими з високою концентрацією Е у СПК, де концентрація Пр була нижчою, а коефіцієнт співвідношення Е/Пр вищим і становив $70,5 \cdot 10^{-3}$. Разом із цим низькодиференційовані пухлини ендометрія виявляли у 66,7% хворих із високою концентрацією Е у СПК і тільки у 38,8% пацієток із низькою концентрацією цього гормону.

Таблиця 3

Вміст Е в СПК хворих менопаузального періоду з низькодиференційованою карциномою ендометрія

Градація концентрації Е в СПК, пг/мл	Концентрація Е, $M \pm m$, пг/мл	Концентрація Пр, $M \pm m$, нг/мл	Е/Пр	Частота випадків РЕ з G3, %
$< 54,7$ n = 18	$33,4 \pm 3,4$	$1,4 \pm 0,8$	$23,9 \cdot 10^{-3}$	38,8
$> 54,7$ n = 12	$63,5 \pm 5,4$	$0,9 \pm 0,6$	$70,5 \cdot 10^{-3}$	66,7

Враховуючи дані літератури, згідно з якими розвиток РЕ пов'язують з наявністю у пацієток метаболічного синдрому [2, 8], і факт, що 58,9% досліджених хворих мали надмірну масу тіла, ми провели зіставлення концентрації Е у СПК хворих на РЕ із рівнем ІМТ (табл. 4).

Таблиця 4

Зіставлення показників концентрації Е у СПК та ІМТ хворих на РЕ

Групи обстежених	ІМТ	Концентрація Е, пг/мл	p
Хворі на РЕ зі збереженою менструальною функцією	20,0–27,9	$79,6 \pm 6,4$	p = 0,090
	$> 35,9$	$97,1 \pm 2,2$	
Хворі на РЕ менопаузального періоду	20,0–27,9	$32,0 \pm 6,1$	p = 0,047
	$> 35,9$	$56,7 \pm 6,4$	

Як свідчать отримані дані, у хворих на РЕ (як зі збереженою менструальною функцією, так і менопаузального періоду) з ожирінням ІІІ–ІV ступеня відзначено підвищення рівня Е порівняно з пацієтками, які мали нормальну масу тіла. Тобто не виключено, що однією з причин високого рівня Е у периферичній крові хворих із надлишковою масою тіла є його позагонадний синтез у пухлині й навколишній тканині, у тому числі й жировій [5].

Враховуючи виявлені відмінності вмісту Е у СПК хворих на РЕ із різним станом менструальної функції і відомості про можливість генотоксичного впливу естрогенів та їх метаболітів на клітини, що значно підвищує ризик розвитку раку, ми вивчили можливі зв'язки між рівнем Е у периферичній крові і чутливістю пацієток до дії мутагенів. З цією метою було проведено порівняльний аналіз спонтанного та індукованого блеоміцином рівня пошкодження і репарації ДНК та аберацій хромосом (АХ) у ЛПК хворих на РЕ зі збереженою менструальною функцією та у менопаузальний період, що перевищував 10 років. Механізм дії блеоміцину імітує вплив багатьох мутагенів фізичної та хімічної природи, що описано раніше [16]. При оцінці рівня пошкодження ДНК у ЛПК хворих на РЕ встановлено, що спонтанний рівень пошкодженої ДНК у ЛПК пацієток зі збереженою менструальною функцією становив $6,3 \pm 1,5\%$, що було майже у 2 рази вище аналогічного показника у контролі — $3,4 \pm 0,3\%$. У хворих із терміном менопаузи > 10 років вміст пошкодженої ДНК був ще вищим — $9,6 \pm 1,3\%$. Після дії блеоміцину рівень пошкодженої ДНК у ЛПК підвищувався до практично однакових значень у здорових жінок зі збереженою менструальною функцією ($90,7 \pm 1,0\%$) та у хворих на РЕ, як зі збереженою менструальною функцією ($92,4 \pm 4,7\%$), так і у менопаузальний період > 10 років ($94,7 \pm 3,9\%$).

При припиненні дії блеоміцину і подальшій інкубації ЛПК без мутагену значна частина ДНК відновлювалася. Кількість відновленої ДНК у ЛПК здорових жінок зі збереженою менструальною функцією була найвищою ($80,2 \pm 1,0\%$), у ЛПК хворих на РЕ вона достовірно ($p < 0,05$) зменшувалася таким чином: у пацієток зі збереженою мен-

струальною функцією — до $56,1 \pm 6,1\%$, у хворих із терміном менопаузи > 10 років — до $46,8 \pm 5,8\%$ (табл. 5).

Таблиця 5

Рівень пошкодження ДНК у ЛПК здорових жінок і хворих на РЕ з різним станом менструальної функції

Параметри рівня пошкодження ДНК	Вміст ДНК у хвості комети, $M \pm m, \%$		
	Збережена менструальна функція		Менопауза > 10 років
	Контроль (n = 15)	РЕ (n = 12)	РЕ (n = 11)
Спонтанний рівень	$3,4 \pm 0,3$	$6,3 \pm 1,5^*$	$9,6 \pm 1,3^*$
Індукований рівень	$90,7 \pm 1,0$	$92,4 \pm 4,7$	$94,7 \pm 3,9$
Кількість репарованої ДНК	$80,2 \pm 1,0$	$56,1 \pm 6,1^*$	$46,8 \pm 5,8^{**}$

* $p < 0,05$ порівняно з показником у здорових жінок зі збереженою менструальною функцією і в період менопаузи.

** $p < 0,05$ порівняно з показником у здорових жінок і хворих на РЕ зі збереженою менструальною функцією.

Тобто у хворих на РЕ не тільки менопаузального періоду, а й зі збереженою менструальною функцією відзначають порушення у роботі систем репарації ДНК. Хоча, згідно з даними літератури, в нормі у жінок зі збереженою менструальною функцією під впливом високих концентрацій Е (через ER-шлях) повинна відбуватися активація системи репарації ДНК, саме молекул MLH1 і MSH2, які, у свою чергу, є потужними активаторами ER. Можна припустити, що в нормі Е активує роботу системи репарації MMR, яка здатна виправляти помилки реплікації ДНК під час фази проліферації ендометрія [9], а у хворих на РЕ такий зв'язок відсутній. На думку низки дослідників, виникнення РЕ у жінок зі збереженою менструальною функцією відбувається внаслідок порушення гормонального балансу в системі яєчник-гіпофіз, що характеризується гіперестрогенією на фоні прогестинової недостатності (відносна гіперестрогенія) [1, 3, 15]. У нашому дослідженні підвищення рівня Е у хворих із збереженою менструальною функцією мало таку саму спрямованість, причому найбільше виражений гормональний дисбаланс відмічено у хворих в лютеїнову фазу циклу, коли рівень Пр повинен підвищуватися, але у досліджених нами пацієнток концентрація цього гормону у СПК була низькою.

На відміну від цього, у хворих на РЕ пері- та менопаузального періоду концентрація Пр у більшості випадків відповідала референтним значенням норми, а рівень Е досягав максимальних значень норми або перевищував їх, що створювало умови так званої абсолютної гіперестрогенії [15].

Поряд із цим у досліджених нами хворих менопаузального періоду порушення процесів репарації ДНК певним чином реалізувалося у збільшену кількість АХ у ЛПК. Так, при цитогенетичному дослідженні визначено, що спонтанний рівень АХ у ЛПК хворих на РЕ зі збереженою менструальною функцією був достовірно ($p < 0,05$) нижчим ($6,0 \pm 0,9$ АХ на 100 метафаз — АХ/100), ніж у хворих з терміном менопаузи > 10 років ($8,4 \pm 1,1$ АХ/100), і ви-

щим порівняно із показниками здорових жінок ($2,7 \pm 0,7$ АХ/100). Після інкубації ЛПК із блеоміцином кількість АХ у ЛПК здорових жінок зі збереженою менструальною функцією зростала до $9,7 \pm 0,7$ АХ/100, у хворих на РЕ — до $10,0 \pm 1,8$ АХ/100. У ЛПК хворих на РЕ з терміном менопаузи > 10 років після дії блеоміцину кількість хромосом з аберациями збільшувалася до $34,7 \pm 2,1$ АХ/100 (табл. 6).

Таблиця 6

Спонтанний та індукований рівень АХ у ЛПК здорових жінок і хворих на РЕ з різним станом менструальної функції

Умови культивування ЛПК	Кількість АХ, $M \pm m, \text{АХ/100}$		
	Збережена менструальна функція		Менопауза > 10 років
	Контроль (n = 15)	РЕ (n = 12)	РЕ (n = 11)
Без додавання індуктора	$2,7 \pm 0,7$	$6,0 \pm 0,9^*$	$8,4 \pm 1,1^*$
З додаванням блеоміцину	$9,7 \pm 0,7$	$10,0 \pm 1,8$	$34,7 \pm 2,1^{**}$

* $p < 0,05$ порівняно з показником у здорових жінок.

** $p < 0,05$ порівняно з показником у здорових жінок і у хворих на РЕ зі збереженою менструальною функцією.

Отримані дані свідчать, що у хворих із тривалістю менопаузи > 10 років спостерігається прихована хромосомна нестабільність, яка зумовлює підвищену чутливість до дії шкідливих чинників різної природи, у тому числі, напевно, і до естрогенів та їх метаболітів. Саме тому, на думку деяких авторів, розвиток ендометриодних карцином частіше виявляють у жінок менопаузального періоду [2, 4, 9]. Оскільки у таких пацієнток може відбуватися неконтрольований позагонадний синтез естрогенів та їх метаболітів, зокрема таких потужних мутагенів, як 1 β -гідроксіестрон і 4-гідроксіестрадіол, це у сукупності з вираженою генетичною нестабільністю і призводить до розвитку РЕ.

Крім генетичних змін, гіперестрогенії та ожиріння, автори звертають увагу на наявність у хворих на РЕ гіперінсулінемії, яка поряд з перерахованими ознаками у вигляді синергічного ефекту сприяє підвищенню проліферації клітин гормонозалежних тканин [5, 17]. Визначення інсулінорезистентності у досліджених нами хворих не входило у завдання нашого дослідження, проте варто відмітити, що у частини хворих (26,0%) діагностовано діабет II типу, при якому відзначають недостатність клітинної відповіді на дію інсуліну [18].

Таким чином, проведене дослідження показало, що РЕ є гетерогенним захворюванням за рівнем естроген-прогестеронового балансу у сироватці та нестабільності геному у ЛПК, яке пов'язане зі станом менструальної функції та тривалістю менопаузального періоду у хворій.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що у хворих на РЕ порушення гормонального балансу асоціюється з підвищенням коефіцієнта Е/Пр, що у пацієнток зі збереженою менструальною функцією пов'язане з підвищеним (порівняно зі здоровими жінками) рівнем Е і недостатністю Пр, а у пацієнток менопаузального пе-

ріоду — з високою концентрацією Е при рівні Пр у межах норми.

2. Показано, що підвищення концентрації Е у СПК хворих на РЕ асоціюється з такою ознакою метаболічного синдрому, як підвищений ІМТ.

3. Визначено, що у хворих на РЕ з тривалістю менопаузального періоду > 10 років захворювання виникає на фоні зниженого функціонування систем репарації ДНК і вираженої хромосомної нестабільності у ЛПК.

4. Отримані дані про зв'язок гормонально-метаболічного статусу, стану менструальної функції та ефективності репарації ДНК в ЛПК хворих на РЕ можуть бути використані для корекції терапевтичних заходів при лікуванні цієї категорії пацієнтів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бохман ЯВ. Руководство по гинекологической онкологии. Л.: Медицина, 1989. 463 с.
2. Ашрафян ЛА, Киселев ВИ. Опухоли репродуктивных органов (этиология и патогенез). М.: Изд-во Димитрейд График Групп, 2007. 214 с.
3. Bender D, Buekers T, Leslie KK. Hormones and receptors in endometrial cancer. Proceedings Obstetr Gynecol 2011; 2 (1): 1–25.
4. Yang TY, Cairns BJ, Allen N, et al. Postmenopausal endometrial cancer risk and body size in early life and middle age: prospective cohort study. Br J Cancer 2012; 107: 169–75.
5. Берштейн ЛМ. Рак эндометрия и метаболіческий синдром: сценарий усложняется. Вopr онкол 2014; 60 (3): 254–62.
6. Печерский АВ, Лоран ПБ, Печерский ВИ и др. Роль тестостерона в регуляции экспрессии генов некоторых факторов пролиферации. Цитология 2006; 48 (10): 856–61.
7. Артымук НВ, Харенкова ЕА, Иленко ЕВ, Гуляева ЛФ. Полиморфизм ферментов метаболизма эстрогенов у женщин с гиперпластическими процессами в эндометрии в период менопаузы. Рос вест акуш-гинек 2009; (2): 17–20.
8. Чернышова АЛ, Коломиец ЛА, Юнусова НВ, Шаншавили ЕВ. Особенности гормонально-энергетического обмена у больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия на фоне метаболіческого синдрома. Сибир онкол журн 2015; (1): 5–12.
9. Tashiro H, Katabuchi H. The relationship between estrogen and genesis in the molecular pathogenesis of endometrial carcinoma. Curr Obstet Gynecol Rep 2014; 3: 9–17.
10. Lynch PM. Cancer risks after endometrial cancer in mismatch repair mutation carriers. J Natl Cancer Inst 2013; 105 (4): 251–2.
11. Tafe LJ, Riggs ER, Tsongalis GJ. Lynch syndrome presenting as endometrial cancer. Clin Chem 2014; 60 (1): 111–21.
12. Buchynska L, Brieieva O, Glushchenko N, et al. DNA repair deficiency in peripheral blood lymphocytes of endometrial cancer patients with a family history of cancer. BMC Cancer 2014; 14: 765.
13. Nesina IP, Iurchenko NP, Nespryad'ko SV, Buchynska LG. The study of chromosomal instability in patients with endometrial cancer. Exp Oncol 2014; 36 (3): 202–6.
14. Hormonal Levels During the Early Follicular Phase of the Menstrual Cycle Siemens. Healthcare Diagnostics Inc (www.siemens.com/diagnostics).
15. Франциянц ЕМ, Бандовкина ВА, Моисеенко ТИ и др. Уровень периферических стероидных гормонов и их метаболитов у больных раком тела матки различных возрастных групп. Журн фундаментальной мед биол 2012; (4): 9–12.

16. Rajaei-Behbahani N, Schmezer P, Risch A, et al. Altered DNA repair capacity and bleomycin sensitivity as risk markers for non-small cell lung cancer. Int J Cancer 2001; 95 (2): 86–91.

17. Hernandez AV, Pasupuleti V, Benites-Zapata VA, et al. Insulin resistance and endometrial cancer risk a systematic review and meta-analysis. Eur J Cancer 2015; 51 (18): 2747–53.

18. Білецький СВ. Інсулінорезистентність як складова патогенезу артеріальної гіпертензії (огляд літератури). Бук мед вісник 2015; 19 (2): 216–9.

SERUM STEROID HORMONE LEVELS IN ENDOMETRIAL CANCER PATIENTS WITH DIFFERENT MENSTRUAL FUNCTION AND INDICATORS OF GENOMIC INSTABILITY

I.P. Nesina, N.P. Iurchenko, O.V. Brieieva, S.V. Nespryad'ko, T.C. Vitruk, L.H. Buchynska

Summary. *Aim:* to evaluate the clinical, morphological, and genetic characteristics of endometrial cancer (EC) patients in the light of steroid hormones concentrations in the serum of peripheral blood. **Object and methods:** peripheral blood serum and peripheral blood lymphocytes (PBS and PBL) and samples of surgical specimens of 46 patients with EC aged 37 to 73 years (average age 56.3 ± 7.3 years). As a control group were used PBS and PBL of 24 healthy women aged 37 to 57 years (average age 43.8 ± 9.9 years). **Results:** it was found that hormonal imbalance in EC patients is associated with increased estrogen/progesterone ratio in PBS compared to healthy women. In patients with preserved menstrual function it is associated with higher level of estradiol and deficiency of progesterone, and in patients in the menopausal period — with a high concentration of estradiol with progesterone levels in the normal range. It was shown that increasing of concentration of estradiol in PBS in EC patients is associated with metabolic syndrome as a sign of increased body mass index. In EC patients with a duration of menopause more than 10 years the disease occurs on the background of decreased functioning of DNA repair and chromosome instability in PBL. **Conclusions:** EC is a heterogeneous disease in terms of estrogen/progesterone balance in the PBS and genomic instability in PBL, which is associated with the state of menstrual function and duration of menopause in patients. The data can be used to correct therapeutic interventions in the treatment of EC patients.

Key Words: endometrial cancer, steroid hormones, peripheral blood serum and lymphocytes, DNA repair, chromosomal instability.

Адреса для листування:

Несіна І.П.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: laboncogen@yandex.ua

Одержано: 25.05.2016