

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
“ТОМСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ОНКОЛОГИИ”

На правах рукописи

ШАНШАШВИЛИ ЕКАТЕРИНА ВАЛЕРЬЕВНА

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ ПРИ РАКЕ ЭНДОМЕТРИЯ: СВЯЗЬ
С ИНВАЗИЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫМИ С КЛЕТОЧНОЙ
ПОДВИЖНОСТЬЮ БЕЛКАМИ И ПРОГНОЗОМ**

14. 01. 12 – онкология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
Чернышова А. Л.

Научный консультант
доктор медицинских наук
Юнусова Н.В.

Томск – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ:

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Факторы риска и прогноза течения рака эндометрия.....	12
1.2. Гиперпластические процессы и рак эндометрия на фоне метаболического синдрома: влияние на риск злокачественной трансформации и анализ выживаемости.....	14
1.3. Инсулинорезистентность как один из важнейших патогенетических моментов метаболического синдрома.....	20
1.4. Рецепторы ростовых факторов и адипокинов при раке эндометрия: связь с системой инсулиноподобных факторов роста.....	22
1.5 Роль рецепторов ростовых факторов и адипокинов в регуляции экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков при раке эндометрия.....	26
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ОБЗОРУ ЛИТЕРАТУРЫ	30
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	32
2.1 Клиническая характеристика исследуемых больных.....	32
2.1.1 Характеристика больных раком эндометрия с метаболическим синдромом и без метаболических нарушений.....	34
2.1.2 Характеристика больных с гиперпластическими процессами эндометрия.....	35
2.2. Методы исследования.....	36
2.2.1. Клиническое обследование больных.....	36
2.2.2. Оценка гормонально-метаболического статуса.....	38
2.2.3. Морфологическое исследование эндометрия.....	39
2.2.4. Оценка уровня растворимого рецептора лептина в выворотке крови.....	40

2.2.5. Определение экспрессии белков системы инсулиноподобных факторов роста, рецепторов ростовых факторов, рецепторов адипокинов и оценка экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков в ткани эндометрия 40

2.2.6 Методы статистической обработки результатов исследования43

ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 45

3.1. Спектр обменно-метаболических нарушений у больных раком эндометрия.....45

3.2. Уровень адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи со стадией, степенью дифференцировки и наличием метаболического синдрома.....47

3.3. Уровень экспрессии компонентов системы инсулиноподобных факторов роста у больных раком эндометрия с метаболическим синдромом и без метаболических нарушений: взаимосвязь с уровнем адипокинов сыворотки крови и рецепторами адипокинов.....50

3.4. Клиническое значение экспрессии рецепторов инсулиноподобного фактора роста I, рецептора трансформирующего фактора роста I типа и ассоциированных с клеточной подвижностью белков при гиперплазии при раке эндометрия.....65

3.5. Взаимосвязи между экспрессией адипокинов сыворотки крови, рецепторами адипокинов и ассоциированными с клеточной подвижностью белками в ткани рака эндометрия.....67

3.6. Прогностическая значимость адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов в ткани рака у больных раком эндометрия.....70

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ 71

ВЫВОДЫ..... 86

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ..... 90

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 91

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности;

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности;

ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности;

МС – метаболический синдром;

ОБ – объем бедер;

ОТ – объем талии;

ХС – общий холестерин;

СД – сахарный диабет;

ТГ – триглицериды;

HbA1 – гликированный гемоглобин;

IDF - International Diabetes Federation;

IGF-RI – рецептор инсулиноподобного фактора роста 1-го типа;

IGFBPs – белки, связывающие инсулиноподобные факторы роста;

IGFs – инсулиноподобные факторы роста;

NF-κарраВ, NIF-1 – ядерные транскрипционные факторы, участвующие в патогенезе рака эндометрия;

Ob-Rb – длинная форма рецептора лептина;

Ob-Ra – короткая форма рецептора лептина;

sOb-R – растворимая форма рецептора лептина;

PI3K/Akt/mTOR, JAK/STAT, Rac1 и Cdc42-опосредованные сигнальные пути, активирующиеся через связывание с IGF-RI и длинную форму рецептора лептина;

PTEN – внутриклеточная фосфатаза; онкосупрессор, регулирует активность PI3K/Akt сигнального пути;

SMAD3, SMAD4, R-SMAD – компоненты TGFbeta-опосредованного сигнального пути;

TGF- β – трансформирующий фактор роста beta

TGF β -RI, TGF β -RII – рецепторы трансформирующего фактора роста beta I и II типа.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно мировой статистике рак эндометрия является одной из наиболее распространенных злокачественных опухолей женской половой системы. В России рак эндометрия занимает третье ранговое место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями у женщин [17, 30].

Основными причинами роста заболеваемости раком эндометрия принято считать не только увеличение продолжительности жизни женщин, увеличение длительности репродуктивного периода, но и значительное увеличение частоты нейроэндокринных расстройств и «болезней цивилизации» [3, 4]. В настоящее время симптомокомплекс, включающий висцеральное ожирение, нарушение толерантности к глюкозе или сахарный диабет (СД) 2-го типа, артериальную гипертензию и дислипидемию, объединен понятием метаболический синдром (МС). МС является не только фактором риска развития рака эндометрия, но и вовлечен в патогенез данной опухоли посредством влияния на регуляцию ключевых функций, включая пролиферацию и клеточную подвижность опухолевых клеток, апоптоз, метастазирование и ангиогенез [9, 18, 19].

Молекулярные механизмы вовлеченности МС в процессы опухолевого роста и опухолевой прогрессии изучены недостаточно. Имеющиеся литературные данные позволяют полагать, что влияние МС на опухолевые клетки опосредуется через активацию/инактивацию экспрессии ростовых и транскрипционных факторов, что в комплексе обуславливает активацию или ингибирование множества сигнальных путей, ответственных за процессы пролиферации, апоптоза, неоангиогенеза, клеточную подвижность и адгезию, формирование инвазивного потенциала. Одним из путей влияния МС на опухолевые клетки может являться система инсулиноподобных факторов роста (система IGFs), включающая инсулиноподобные факторы роста (IGF-I, IGF-II), шесть связывающих инсулиноподобные факторы роста белков

(IGFBPs) и тирозинкиназный рецептор инсулиноподобного фактора роста IGF-RI [54, 94]. При наличии МС формируется комплекс гормонально-метаболических нарушений, включающий гипергликемию, гипертриглицеридемию, гиперхолестеринемию, гиперинсулинемию, гиперлептинемию, снижение уровня сывороточного адипонектина и другие нарушения. Причем в отношении экспрессии ростовых факторов, в том числе и системы IGFs, по-видимому, наиболее значимы изменения сывороточного и тканевого уровней лептина и адипонектина и их рецепторов (Ob-Ra, Ob-Rb, AdipoR1, AdipoR2) у больных с МС [70,113].

Среди факторов, которые при раке эндометрия изучаются в качестве этиопатогенетических наиболее часто обсуждаются эстрогены, ростовые и транскрипционные факторы [7, 13, 28]. Однако, молекулярные механизмы прогрессирования данной патологии изучены недостаточно. В этом аспекте особое внимание заслуживают изучение механизмов инвазивного роста и рецидивирования. Известно, что процесс опухолевой инвазии достаточно сложен, включает несколько событий, наиболее значимыми из которых являются разрыв или ослабление межклеточных контактов и увеличение клеточной подвижности. Эти изменения являются неотъемлемым компонентом опухолевой прогрессии [35, 98].

Ремоделирование актинового цитоскелета при участии актинсвязывающих белков (Arp3, фасцина, кофилина, гельзолина, тимозина β -4) с формирование ламелиподий является центральным событием, обеспечивающим клеточную локомоцию. Регуляция экспрессии актинсвязывающих белков осуществляется с вовлечением многих сигнальных молекул: через рецептор адгезии CD44, через IGF-RI, через рецепторы трансформирующего фактора роста (TGFbeta-RI, TGFbeta-RII) [34]. Однако, при раке эндометрия эти процессы практически не изучены.

Учитывая существенную распространенность МС в общей популяции, среди женщин в постменопаузе, а также продолжающийся рост показателей заболеваемости раком эндометрия как в Российской Федерации, так и в мире

в целом, изучение отдельных аспектов патогенеза сочетания рака эндометрия и МС, выявление новых молекулярных факторов прогноза течения рака эндометрия представляются актуальными как с научной, так и с практической точки зрения.

Цель работы - исследование уровня адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия в зависимости от наличия и выраженности МС, а также изучение экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков, вовлеченных в процесс опухолевой инвазии, во взаимосвязи с уровнем адипокинов и их рецепторов с поиском новых молекулярных факторов прогноза у больных раком эндометрия.

Основные задачи исследования:

1. Изучить спектр клинико-морфологических особенностей и обменно-метаболических нарушений у больных раком эндометрия на фоне МС и без МС.
2. Изучить уровень адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи с глубиной инвазии опухоли, степенью дифференцировки и наличием МС.
3. Оценить уровень экспрессии белков системы инсулиноподобных факторов роста у больных раком эндометрия с МС и без метаболических нарушений во взаимосвязи с уровнем адипокинов и их рецепторами.
4. Определить экспрессию ассоциированных с клеточной подвижностью белков при гиперплазии при раке эндометрия и выявить взаимосвязи экспрессии этих белков с опухолевой инвазией.

5. Выявить взаимосвязи уровня адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов с экспрессией ассоциированных с клеточной подвижностью белков при раке эндометрия.
6. Оценить прогностическую значимость адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов в опухолевой ткани у больных раком эндометрия.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное изучение содержания адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи со стадией, степенью дифференцировки и наличием МС. Впервые выявлена связь уровня адипокинов сыворотки крови с глубиной инвазии опухоли в миометрий и наличием цервикальной инвазии.

Впервые выявлены взаимосвязи между экспрессией белков системы IGFs, адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия в подгруппах с МС и без МС.

Впервые проведено комплексное исследование экспрессии рецепторов ростовых факторов и ассоциированных с клеточной подвижностью белков в ткани рака эндометрия во взаимосвязи с опухолевой инвазией.

Впервые показано, что уровень растворимого рецептора лептина sOb-R в сыворотке крови больных раком эндометрия явился прогностически значимым показателем в отношении безрецидивной выживаемости.

Научно-практическая значимость

Научно-практическая значимость работы обусловлена полученными данными о взаимосвязях ассоциированных с МС белков (адипокинов

сыворотки крови, рецепторов адипокинов) с экспрессией белков системы IGFs в ткани рака эндометрия у больных с МС и без МС, данными о тесной взаимосвязи экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков (Arp3, гельзолина и тимозина β -4) с экспрессией AdipoR2 в ткани рака эндометрия, а также уровнем адипонектина в сыворотке крови.

Выявлены новые молекулярные факторы прогноза у больных раком эндометрия. Количественное определение в сыворотке крови уровня растворимого рецептора лептина (sOb-R) позволит улучшить прогнозирование течения рака эндометрия и объективизировать сроки наблюдения для раннего выявления рецидива заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. Уровень адипокинов сыворотки крови и растворимого рецептора лептина коррелировал у больных раком эндометрия с наличием МС. Уровень адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипонектина ассоциировался с инвазией и степенью дифференцировки опухоли.
2. У больных раком эндометрия уровень экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков зависел от экспрессии адипокинов и их рецепторов.

Апробация работы. Основные положения и результаты научных исследований доложены на всероссийской научно-практической конференции «Начальный рак эндометрия» (Москва, 2011); на первой Российской конференции «Рак и репродукция» (Москва, 2011); на научно-практической конференции «Современные технологии в лечении онкогинекологической патологии» в рамках дня специалиста Кемеровской области 21.03.2012г., г. Кемерово; на XVIII Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2013); на XIII научно-практической онкологической конференции «Новые технологии и инновации в онкологии» (Магадан, 2013);

на областной онкологической конференции «Ранняя диагностика, профилактика и лечение злокачественных новообразований женской половой сферы и молочной железы» (Магадан, 2014).

Публикации результатов исследования. Основные результаты диссертации опубликованы в 7 печатных работах, в том числе 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре биохимии и молекулярной биологии для студентов медико-биологического факультета СибГМУ в учебных циклах “Биохимия опухолей” и “Медицинская биотехнология”.

Личный вклад автора. Анализ данных литературы по теме диссертации, планирование исследования, формулировка цели, задач исследования, научной новизны и практической значимости работы, анализ клинических и молекулярных характеристик, создание электронных баз данных, статистическая обработка материала и написание диссертационной работы выполнено лично автором.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 103 страницах и иллюстрирована 8 рисунками и 8 таблицами. Библиографический указатель содержит 113 литературных источников, из которых 32 отечественных и 81 зарубежных авторов.

ГЛАВА 1.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Факторы риска и прогноза течения рака эндометрия

В России рак эндометрия занимает третье ранговое место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями у женщин (7,1%), уступая только раку молочной железы (20,5%) и злокачественным новообразованиям кожи (14,4%). В 2010 году в нашей стране было выявлено 19 784 случаев рака эндометрия, причем заболеваемость за последнее десятилетие увеличилась на 24% и составила в 2010 году 15,61 случаев на 100 000 населения. Хотя в последние десять лет показатели смертности от рака эндометрия несколько снизились, однако в структуре причин смертности данная опухоль продолжает занимать восьмое место [17, 30].

Пик заболеваемости раком эндометрия приходится на возраст 60–64 года. В возрастных группах 40–49 и 50–56 лет отмечаются значительные темпы прироста заболеваемости. Таким образом, рак эндометрия преимущественно наблюдается у женщин старшей возрастной группы. До 68–76% больных раком тела матки находятся в постменопаузе [5].

Большинство исследователей в патогенезе рака эндометрия отводят ведущую роль избыточной эстрогенной стимуляции эндометрия, сочетающейся с недостаточной продукцией прогестерона – известного антагониста эстрогенов (unopposed -не испытывающей противодействия). Подобное мнение уже высказывалось свыше 50–60 лет тому назад и, хотя появился ряд новых факторов, лежащих за пределами такой точки зрения, эстрогенная концепция, тем не менее, сохраняет ведущее значение [59, 60]. С позиций этой концепции можно объяснить, например, связь возникновения болезни с бесплодием (через частые ановуляторные циклы), ожирением (через усиленную экстрагонадную продукцию эстрогенов), поликистозом

яичников (через свойственное ему избыточное образование предшественника эстрогенов андростендиона), хотя в двух последних случаях патогенетическая связь нередко расценивается иначе, через феномен гиперинсулинемии-инсулинорезистентности [7, 9, 10].

Однако стимуляция пролиферации, вызванная эстрогенами, является сложным процессом, который не сводится только к взаимодействию между эстрогенами и эстрогенчувствительными элементами генома через рецепторы.

Под воздействием эстрогенов усиливается пролиферация клеток, в процессе интенсивного размножения происходит накопление случайных мутаций, выход клеток из-под нормального контроля и неопластическая трансформация (преимущественно промоторный эффект эстрогенов). В настоящее время также сформулирована новая теория гормонального канцерогенеза, в которой особое внимание уделяется генотоксическому (ДНК-повреждающему) воздействию эстрогенов. В соответствии с этой теорией активные метаболиты эстрогенов приравниваются к истинным канцерогенам, повреждающим ДНК клеток с формированием ее аддуктов и в дальнейшем ее мутаций [31, 41].

Одним из ключевых факторов риска развития рака эндометрия считается образ жизни с отсутствием физической активности и переизбытком и связанный с ними избыток массы тела. Отсутствие физической активности увеличивает вероятность возникновения рака эндометрия на 38% [79]. Бесспорными факторами риска возникновения рака эндометрия некоторые предшествующие или сопутствующие заболевания эндокринной и сердечно-сосудистой системы, в первую очередь сахарный диабет, гипертоническая болезнь, гиперинсулинемию [19]. В настоящее время все эти факторы объединены в МС, который тесно вовлечен в патогенез рака эндометрия.

Основными прогностическими факторами течения рака эндометрия традиционно считают возраст, стадию, глубину миометриальной инвазии, наличие цервикальной и лимфоваскулярной инвазии, гистологический тип и степень дифференцировки опухоли [21, 42]. Пятилетняя выживаемость больных при I стадии рака эндометрия после проведенного лечения колеблется, по данным разных авторов, в зависимости от глубины инвазии в миометрий от 97,5 (при инвазии менее 5мм) до 61,5% (при инвазии более 10мм), в зависимости от степени дифференцировки при T1c от 81% у пациентов с высокодифференцированными опухолями до 42% у пациентов с низкодифференцированными опухолями [17]. Учитывая такую значительную вариабельность в выживаемости больных рака эндометрия даже при I стадии заболевания, существуют различные подходы к лечению данной патологии.

Обсуждаются вопросы объема хирургического вмешательства, тактика проведения адъювантного лечения (лучевая терапия, адъювантная химиотерапия) у больных раком эндометрия, которые в большом проценте случаев имеют выраженную сопутствующую патологию [12, 25, 56].

1.2. Гиперпластические процессы и рак эндометрия на фоне метаболического синдрома: влияние на риск злокачественной трансформации и анализ выживаемости

В настоящее время сформулирована концепция МС, согласно которой ожирение, преимущественно андроидного типа, артериальная гипертензия, дислипидемия, нарушение толерантности к глюкозе являются звеньями единой цепи обменных расстройств, ведущим звеном в которой является инсулинорезистентность и компенсаторная гиперинсулинемия [1, 3, 4, 6, 19].

В 2005 г. International Diabetes Federation (IDF) определила единые критерии постановки диагноза “метаболический синдром” [26, 27]. Согласно

рекомендациям IDF обязательным критерием МС является центральное (абдоминальное) ожирение (окружность талии более 94 см для мужчин и более 80 см для женщин – у европеоидной расы) в сочетании как минимум с двумя из следующих 4 факторов:

- повышением триглицеридов (ТГ) более 1,7 ммоль/л или лечением дислипидемии;
- снижением липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) менее 1,03 ммоль/л у мужчин и менее 1,29 ммоль/л у женщин или специфическим лечением;
- повышением артериального давления (систолического АД более 130 мм рт. ст. или диастолического АД более 85 мм рт. ст. или антигипертензивной терапией;
- повышением глюкозы венозной плазмы натощак более 5,6 ммоль/л или ранее выявленный сахарный диабет второго типа (СД).

Помимо исследования основных диагностических критериев, IDF рекомендует исследование дополнительных метаболических параметров, ассоциированных с МС, в их числе: оценка нарушения распределения жировой ткани (распределение общего жира, распределение центрального жира, биомаркеры жировой ткани: лептин, адипонектин, содержание жира в печени); атерогенная дислипидемия (апопротеин В, не-ЛПВП, мелкие частицы липопротеидов низкой плотности), дисгликемия; инсулинорезистентность (уровень инсулина/проинсулина натощак, НОМА-индекса (НОМА-IR); повышение уровня свободных жирных кислот (натощак); сосудистые нарушения, связанные с повышением артериального давления (исследование эндотелиальной дисфункции, микроальбуминурия); провоспалительный статус (повышенный С-реактивный белок, повышенные воспалительные цитокины – фактор некроза опухолей, интерлейкин-6); протромботический статус (фибринолитические факторы, тканевый активатор плазминогена и т.д.), факторы свертывания (фибриноген и т.д.). Исследование этих факторов позволит со временем модифицировать

диагностические критерии МС, а также предоставит дополнительные клинические данные по различным этническим группам [6, 69].

Известно, что риск опухолевой трансформации гиперпластических процессов эндометрия возрастает в 7–9 раз при различных метаболических нарушениях гормонального обмена в организме [19, 25]. Вместе с тем нет единой точки зрения на вопрос, каким образом рассматривать в данном контексте МС – как один из многих известных модифицирующих факторов риска или как фундамент (основа), на котором формируются гиперпластические процессы эндометрия, которые при определенных условиях переходят в рак [13].

Проведенный ранее в работе Чернышовой А.Л. (2009) анализ факторов риска развития рака эндометрия у больных с гиперпластическими процессами эндометрия на фоне МС с построением формулы для оценки индивидуального риска выявил ряд информативных факторов [32]. При анализе наиболее информативных показателей, вошедших в дискриминантную модель, оказалось, что наряду с антропометрическими параметрами (обхват талии и бедер, саггитальный диаметр) для этой группы больных значимыми оказались некоторые клиничко-анамнестические параметры: возраст, возраст появления вторичных половых признаков, масса пациентки при рождении, вид вскармливания [32].

Известно, что риск развития рака эндометрия повышается с возрастом [12, 13], однако у больных гиперпластическими процессами с МС этот параметр должен интерпретироваться, по-видимому, только во взаимосвязи с другими важными известными факторами риска, так как значительная часть больных с атипичной гиперплазией эндометрия и МС в репродуктивном возрасте имеет значительный риск развития рака эндометрия, особенно при наличии бесплодия [24]. При оценке факторов, формирующихся внутриутробно и создающих предрасположенность к возникновению рака эндометрия, необходимо отметить, что больные раком эндометрия с МС

имели большую массу тела ($4326 \pm 125,71$ г.) при рождении, находились преимущественно на искусственном вскармливании (в 75%) и имели несколько больший возраст появления вторичных половых признаков ($14,21 \pm 2,87$ лет) по сравнению с больными с гиперпластическими процессами эндометрия с МС, у которых средняя масса тела при рождении составила $3876 \pm 121,85$ г., искусственное вскармливание имелось только в 35% случаев, а возраст появления вторичных половых признаков составил $13,36 \pm 2,89$ лет [32].

Можно предположить, что избыточные метаболические сигналы (гипергликемия, гиперинсулинемия) во время беременности являются одним из стимулов к прибавке массы на ранних этапах жизни. Принято считать, что гипергликемия у матери во время беременности приводит к гиперинсулинемии у плода. Большая, чем в норме, масса плода сочетается, как правило, с усилением эстрогенообразования и более высокой гиперэстрогемией во время беременности, а у женщин, родившихся с массой свыше 4000 г., в возрасте 15-30 лет имеется тенденция к более высокой инсулинемии в глюкозотолерантном тесте, а в случае раннего менархе – к более высокой концентрации в крови свободного эстрадиола [4, 9].

В свою очередь известно, что гиперэстрогемия является значимым фактором риска развития рака эндометрия [12]. Кроме того, одним из важных моментов в развитии метаболических нарушений является характер вскармливания. Искусственное вскармливание, как известно, в большинстве случаев вызывает нарушения углеводного и липидного обменов в условиях сниженного иммунитета [9].

При оценке риска развития рака эндометрия у больных с гиперпластическими процессами эндометрия с МС синдромом вошедшие в уравнение дискриминантной функции гормонально-метаболические показатели (ХС-ЛПНП, уровень сывороточного лептина, тестостерона,

прогестерона, уровень гликемии натощак) демонстрируют широкий спектр соответствующих нарушений, выраженных в наибольшей степени у больных раком эндометрия с МС. Наряду с другими показателями, уровень экспрессии фосфотазы PTEN явился значимым признаком при построении дискриминантной модели, что согласуется с данными ряда авторов о наличии данного белка в большинстве случаев в гиперплазированной эндометрии и о постепенной утрате экспрессии этого онкосупрессора, в значительной степени блокирующего проведение сигнала с активированного рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 типа (IGF-RI), преимущественно в эндометриоидных карциномах [40, 71].

Вопрос о частоте МС у больных раком эндометрия смыкается с рядом практических проблем: особенностями клинического течения рака эндометрия (рецидивирование, метастазирование, выживаемость), влиянием на выбор тактики лечения. Наличие МС у онкологических больных ассоциировано с угнетением иммунологической реактивности организма, более выраженным повреждением ДНК, влиянием на процессы ангиогенеза и метастазирования, а также индукцией дополнительной коморбидности, включая сердечно-сосудистую и почечную патологии [19].

Необходимо отметить определенные особенности МС у больных раком эндометрия. Больные раком эндометрия - достаточно соматически отягощенный контингент больных с длительным анамнезом по гипертонической болезни и СД 2 типа. Причем более 40% больных раком эндометрия получали до установки основного диагноза систематическую антигипертензивную терапию, а 14% - антидиабетическое лечение [72]. Частота встречаемости СД 2 типа у всех больных раком эндометрия по данным литературы составила от 1,3 до 22%. Причем отмечается, что при проведении теста на толерантность глюкозе у 72% больных раком эндометрия выявляется нарушения толерантности к глюкозе [15].

На клиническом материале в исследованиях Берштейн Л.М. с соавт. (2004) показано, что больные раком эндометрия с высоко- и умереннодифференцированными опухолями имели статистически более высокий уровень инсулина и С-пептида в сыворотке крови по сравнению больными с низкодифференцированными и неэндометриоидными опухолями. Кроме того, уровень инсулинемии позитивно коррелировал со стадией заболевания только в группе высоко- и умереннодифференцированных опухолей.

У части больных раком эндометрия гиперинсулинемия и инсулинорезистентность ассоциировалась с агрессивным течением заболевания, но это не являлось результатом повреждения ДНК, что, по-видимому, позволяет предположить эффективность антидиабетических препаратов, глитазонов и статинов в лечении этой категории больных [8, 10, 18, 68].

Сведения о влиянии МС на прогноз у больных раком эндометрия противоречивы. Наряду с данными о повышении частоты рецидивирования и(или) снижении общей выживаемости [106], есть данные, что ожирение (даже значительно выраженное, так называемое смертельное ожирение) у больных раком эндометрия ассоциировано с I стадией процесса, высокой степенью дифференцировки и не влияет на прогноз отрицательным образом [12, 39, 103].

По данным американской группы исследователей (V. Von Gruenigen et al., 2006) у больных раком эндометрия с выраженным ожирением (индекс массы тела более 40) частота рецидивов статистически значимо не отличалась от таковой у больных без ожирения и с незначительно выраженным ожирением, однако общая пятилетняя выживаемость у больных со значительным ожирением была статистически значимо ниже, чем у больных без ожирения. При более детальном рассмотрении причин смерти у больных раком эндометрия с ожирением выяснилось, что в 66% больные

погибли от заболеваний, несвязанных с основным онкологическим заболеванием и его лечением. Причинами смерти у этих больных явились осложнениями сердечно-сосудистых заболеваний и СД второго типа [106].

У больных раком эндометрия (особенно с ожирением) высока вероятность развития первично множественных злокачественных новообразований и, соответственно, повышен риск смерти от этих новообразований. Дискутируется вопрос о так называемом синдроме гормонозависимых полинеоплазий. При первично множественном раке эндометрия второй синхронной или метакронной опухолью чаще всего оказывалась карцинома молочной железы, рак яичников или рак толстой кишки, по-видимому, вследствие некоторой общности патогенеза и гормонально-метаболических нарушений [23].

Кроме того факта, что сам МС является, по-видимому, фактором, ассоциированным с общей (скорректированной) и безрецидивной выживаемостью, можно предположить, что больные раком эндометрия с МС имеют свои специфические факторы риска и прогноза.

1.3. Инсулинорезистентность как один из важнейших патогенетических моментов метаболического синдрома

Известно, что инсулинорезистентность представляет собой состояние, когда нарушен биологический ответ на экзогенный или эндогенный инсулин. Нарушения, приводящие к инсулинорезистентности, могут происходить на следующих уровнях: пререцепторном (аномальный инсулин), рецепторном (снижение количества или аффинности рецепторов), транспорта глюкозы (снижение количества молекул GLUT4) и пострецепторном (расстройство передачи сигнала и фосфорилирования). В настоящее время считается, что

основной причиной инсулинорезистентности являются пострецепторные нарушения передачи сигнала инсулина [3, 5, 6].

На начальных этапах инсулинорезистентность в течение длительного периода времени сопровождается компенсаторной гиперинсулинемией, которая возникает в ответ на повышение уровня глюкозы в крови. Длительно существующая гиперинсулинемия приводит к дисфункции β -клеток, что обуславливает развитие нарушений углеводного обмена: от умеренного повышения концентрации глюкозы в плазме после пищевой нагрузки, позднее – натошак, а затем и до СД 2-го типа [3]. Абдоминальное ожирение, как правило, является первым проявлением метаболического синдрома, одним из ключевых моментов развития и прогрессирования инсулинорезистентности и связанных с ней метаболических нарушений (атерогенного липидного профиля, гиперурикемии и дисфункции свертывающей системы крови).

Повышенный уровень свободных жирных кислот, выделенных из висцеральной жировой ткани и печени в порталный кровоток, создает субстрат для усиленного синтеза ТГ. Гиперинсулинемия снижает активность липопротеинлипазы, важного фермента для метаболизма липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), что, как правило, сопровождается уменьшением уровня ЛПВП и повышением ЛПНП и ЛПОНП [3].

Жировая ткань уже достаточно давно перестала рассматриваться лишь как депо жира и энергетических ресурсов. Адипоциты также функционируют как эндокринные клетки. Основными гормонами жировой ткани (адипокинами) являются лептин, адипонектин, ангиотензиноген, фактор некроза опухоли- α , резистин.

Гормоны жировой ткани, за исключением адипонектина, снижают чувствительность периферических тканей к инсулину, что сопровождается повышением степени инсулинорезистентности.

К важнейшим гормонам жировой ткани относится лептин. Основным органом-мишенью лептина является гипоталамус, через воздействие на который лептин снижает аппетит, стимулирует использование липидов в энергетическом обмене и вызывает снижение массы тела за счет уменьшения запасов в жировых депо. Содержание лептина в циркулирующей крови людей четко коррелирует с массой тела, поэтому чем больше масса жира, тем больше гормона она секретирует в кровь. Было показано, что лептин может рассматриваться и как ростовой фактор, и как стимулятор активности ароматазы, секреции инсулина и чувствительности к последнему [57, 61, 82].

Таким образом, инсулинорезистентность и гиперинсулинемия являются краеугольными камнями МС, а также факторами риска развития злокачественных новообразований.

1.4. Рецепторы ростовых факторов и адипокинов при раке эндометрия: связь с системой инсулиноподобных факторов роста

Имеющиеся литературные данные позволяют полагать, что влияние МС на опухолевые клетки опосредуется через стимуляцию экспрессии ростовых и транскрипционных факторов, что в комплексе обуславливает активацию множества сигнальных путей, ответственных за процессы пролиферации, апоптоза, неоангиогенеза, клеточную подвижность и адгезию, формирование инвазивного потенциала и химиорезистентности [14].

Одним из путей влияния МС на опухолевые клетки может являться система инсулиноподобных факторов роста (ИФР-система), включающая инсулиноподобные факторы роста (IGF-I, IGF-II), шесть связывающих инсулиноподобные факторы роста белков (IGFBPs), тирозинкиназный рецептор IGF-RI, а также ряд протеаз, расщепляющих IGFBPs [54, 94].

Одним из механизмов влияния МС на развитие опухолей является снижение уровня белков, связывающих IGFs – IGFБPs и увеличение IGFs в сыворотке крови в условиях имеющейся при МС гиперинсулинемии [7, 86]. Однако на тканевом уровне, особенно в ткани злокачественных опухолей, эти параллели становятся не столь однозначными. В отношении IGFБP-3 при проведении комплекса исследований на клеточных опухолевых линиях показано, что данный белок действует как опухолевый супрессор, обладая антипролиферативной, проапоптотической активностью, кроме того, ингибирует клеточную инвазию [66]. В настоящее время большое внимание также уделяется IGFБP-6, который в отличие от других IGFБPs предпочтительно связывает IGF-II, кроме того, у этого белка выявлены IGFs-независимые эффекты, такие как ингибирование неоангиогенеза, но с другой стороны, активация клеточной миграции. На модели клеточной линии рака эндометрия выявлена даун-регуляция экспрессии IGFБP-6 прогестероном [14].

Для прогрессии рака эндометрия важен также уровень экспрессии рецепторов трансформирующего фактора роста бета – TGF β -RI, TGF β -RII. Данные рецепторы активируются соответствующими лигандами - TGF- β трех типов. Тем или иным образом активированные TGF- β димеризуются и в такой форме связываются с рецептором второго типа, который присоединяет и фосфорилирует рецептор первого типа. Рецептор первого типа впоследствии присоединяет и фосфорилирует R-SMAD рецептор. Один из R-SMAD, SMAD3, вовлекается в индуцирование апоптоза. R-SMAD далее связывается с SMAD4 и формирует гетеродимерный комплекс.

Этот комплекс входит в клеточные ядра, где действует как транскрипционный фактор для разных генов, включая те гены, которые активируют митоген-активируемый протеинкиназный путь, который является пусковым механизмом апоптоза. В нормальных клетках TGF- β , действуя через свой рецептор, блокирует клеточный цикл на G1 стадии, останавливая пролиферацию, индуцирует апоптоз или дифференцировку.

Однако в злокачественных клетках TGF- β -опосредованный сигнальный путь существенно изменен [20].

В опухолях эпителиального происхождения, как сами опухолевые клетки, так и опухолевое микроокружение секретируют значительные количества TGF- β , которые через свои рецепторы ингибируют апоптоз, индуцируют ангиогенез, существенно модифицируют местный иммунный ответ на растущую опухоль, обуславливают химиорезистентность. Для ряда опухолей показано, что TGF- β индуцируют эпителиально-мезенхимальный переход с формированием химио-радиорезистентных клеточных клонов мезенхимальноподобного и похожего на стволовые клетки фенотипа [100]. Таким образом, в опухолях TGF- β действует преимущественно как опухолевый промотор.

При наличии МС формируется комплекс гормонально-метаболических нарушений, включающий гипергликемию, гипертриглицеридемию, гиперхолестеринемию, гиперинсулинемию, гиперлептинемия, снижение уровня сывороточного адипонектина и другие нарушения. Причем в отношении влияния на экспрессию ростовых факторов, по-видимому, наиболее значимы изменения сывороточного и тканевого уровней важнейших адипокинов - лептина и адипонектина и их рецепторов у больных с МС.

Рецептор лептина (Ob-R) относится к первому классу цитокиновых рецепторов. В результате альтернативного сплайсинга гена экспрессируются 6 изоформ рецептора. Длинная, полностью активная изоформа рецептора (Ob-Rb) экспрессируется, главным образом, в гипоталамусе, и, как предполагают, регулирует энергетический гомеостаз, аппетит и т.д. Короткая форма рецептора (Ob-Ra) экспрессируется в различных тканях [75, 76]. Как полагают, протеолиз преимущественно Ob-Rb приводит к появлению растворимой формы рецептора лептина (sOb-R), не содержащей трансмембранной части и состоящей исключительно из внеклеточного

лиганд-связывающего домена рецептора. Данный вид рецептора выявлен в ряде биологических жидкостей, в том числе и в сыворотке крови, его уровень обратно пропорционален степени ожирения и уровню лептина в сыворотке крови [89].

Только длинная изоформа рецептора лептина способна полностью трансдуцировать сигнал от лиганда (лептина) к клетке и включает активацию, главным образом, JAK/STAT сигнального пути. Показано, что эффекты лептина опосредовались через активацию двух видов рецепторов с вовлечением множества сигнальных путей, ответственных, в том числе за повышение экспрессии ряда ростовых факторов, а именно IGFs [33, 73, 74].

Данные литературы также свидетельствуют об активации по крайней мере трех общих сигнальных путей (PI3K/Akt/mTOR путь, а также пути в вовлечением малых ГТФ-аз, ассоциированных с клеточной подвижностью - Rac1- и Cdc42-опосредованный) как через рецепторы лептина, так и через IGF-IR во многих опухолевых клеточных линиях. Принимая во внимание, что экспрессия IGFs может быть как NF- κ B, так и HIF-1-зависимой, связь между MC и системой IGFs может быть опосредована через активацию лептином транскрипционных факторов, в частности, HIF-1 альфа [28, 53, 63]. PI3K/Akt/mTOR сигнальный путь, а также сигнальный путь в вовлечением митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK/ERK) также классически активируются через IGF-RI [14, 90]. А IGF-RI-опосредованный сигнальный путь, показано, активирован в атипичной гиперплазии и эндометриоидных карциномах эндометрия [90].

Показано, что в опухолевых клетках TGF β -RI сигнальный путь значительно изменен, и, например, в клетках гепатоцеллюлярной карциномы гиперэкспрессия компонентов MAPK/ERK сигнального пути приводит к резистентности данного типа клеток к TGF- β -индуцированному апоптозу [92].

Функциональным антагонистом лептина является адипонектин, эффекты которого опосредуются через активацию 2 видов соответствующих

рецепторов AdipoR1 и AdipoR2. Содержание этих рецепторов в опухолях достаточно вариабельно. В гормонозависимых опухолях, патогенез которых ассоциирован с МС, рецепторы лептина и адипонектина рассматриваются как мишени для таргетной терапии и в качестве особых прогностических факторов у больных с метаболическими нарушениями [45, 50, 51, 76].

1.5 Роль рецепторов ростовых факторов и адипокинов в регуляции экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков при раке эндометрия

Среди множества факторов, которые при раке эндометрия изучаются в качестве этиопатогенетических наиболее часто обсуждаются эстрогены, ростовые и транскрипционные факторы [7, 28, 31]. Однако, молекулярные механизмы прогрессирования рака эндометрия изучены недостаточно. В этом аспекте особое внимание при раке эндометрия заслуживают изучение механизмов инвазивного роста и рецидивирования. Глубина инвазии опухоли в миометрий и наличие цервикальной инвазии являются важнейшими прогностическими факторами для больных раком эндометрия I-II стадии, особенно в отношении безрецидивной выживаемости [48, 98].

Известно, что процесс опухолевой инвазии достаточно сложен, включает несколько событий, наиболее значимыми из которых являются разрыв или ослабление межклеточных контактов и увеличение клеточной подвижности. Эти функциональные изменения присущи раковым клетками и являются неотъемлемым компонентом опухолевой прогрессии [35, 98].

Ремоделирование актинового цитоскелета при участии актинсвязывающих белков с формирование ламелиподий является центральным событием, обеспечивающим клеточную локомоцию. Среди актинсвязывающих белков выделяют мономер-связывающие белки, которые секвестрируют G-актин и предотвращают его полимеризацию (тимозин β -4), филамент-деполимеризующие белки, индуцирующие конверсию F-актина до

G-актина (кофилин), кэппирующие белки, связывающиеся с заостренным (тромбомодулин) или зазубренным (CapZ) концом актиновых филаментов и предупреждающие обмен мономеров, белки, разрывающие актиновые филаменты, таким образом, укорачивающие их длину (гельзолин), поперечносвязывающие белки, облегчающие формирование пучков филаментов, их ветвление и формирование трехмерных структур (Arp2/3 комплекс, фасцин) [34].

Регуляция экспрессии актинсвязывающих белков осуществляется с вовлечением многих сигнальных молекул: через рецептор адгезии CD44, через IGF-RI, через рецептор эпидермального фактора роста второго типа, TGF β -RI, TGF β -RII [34, 62, 88]. Полагают, что IGFs участвуют в регуляции экспрессии актинсвязывающих белков либо через активацию малых ГТФ-аз, либо посредством дестабилизации катенин-кадгериновых комплексов и увеличении фракции p45 Ser катенина [94].

Трансформирующий фактор роста β (TGF- β) также опосредует реорганизацию актинового цитоскелета через LIM-киназу 2 и фосфорилирование кофилина [109]. Выявленная высокая миграционная и инвазивная активность эндометриальных опухолевых клеток может быть обусловлена тем, что значительная часть клеток находится в состоянии эпителиально-мезенхимального перехода [102]. Нокдаун кофилина, кортактина, гельзолина и гиперэкспрессия тимозина приводят к изменениям, аналогичным классическому эпителиально-мезенхимальному переходу (реверсия экспрессии кадгеринов с перераспределением β -катенина в цитозоль, стимуляция миграционной и инвазивной активности *in vitro*) [44, 97, 99, 105].

Экспрессия большинства актинсвязывающих белков, вовлеченных в реорганизацию актинового цитоскелета достаточно слабо изучена при гиперпластических процессах и раке эндометрия. Так исследования Afify et al. (1998) показали потерю экспрессии гельзолина в эндометриальных

карциномах по сравнению с нетрансформированными тканями [38]. Экспрессия фасцина - белка, участвующего в формировании актиновых пучков из актиновых филаментов и функционально близкого белками комплекса Arp2/3 в опухолях эндометрия в значительной степени коррелировала со степенью дифференцировки и наличием лимфоваскулярной инвазии по данным однофакторного анализа [42]. Хотелось бы также отметить, что данных об экспрессии других актинсвязывающих белков при раке эндометрия не выявлено.

Инвазивный и миграторный потенциал опухолевых клеток достаточно тесно связан с состоянием плотных межклеточных контактов (катенин-Е-кадгериновые контакты). Двойственная роль β -катенина обусловлена тем, что в клетке этот белок присутствует в основном в составе катенин-кадгериновых комплексов, являясь важнейшим компонентом адгезивных контактов, обеспечивая адгезию и снижая миграционную активность клеток. Находясь в составе катенин-кадгериновых комплексов, β -катенин также связан с нитями актина, таким образом, оказывает прямое влияние на реорганизацию актиновых филаментов.

С другой стороны, β -катенин в фосфорилированной форме - p45 Ser β -катенин - является сигнальной молекулой в Wnt-сигнализации, а именно участвует в активации генной транскрипции посредством активации TCF/LEF транскрипционных факторов, среди таргетных генов которых отмечены *c-myc*, *cyclin D1*, молекула адгезии CD44 и др., участвуя таким образом в опухолевой прогрессии [62, 78]. Для эндометриоидного рака эндометрия характерна высокая частота мутаций β -катенина, что, по мнению ряда авторов, способствует туморогенезу [46].

Хотя важная роль ассоциированных с клеточной подвижностью белков в инвазивном росте и метастазировании хорошо известно, однако до настоящего времени нет данных о возможных взаимосвязях между экспрессией TGF-beta-RI, IGF-RI, p45 Ser β -катенина и экспрессией

важнейших актинсвязывающих белков во взаимосвязи с глубиной инвазии при опухолях эндометрия, что и явилось одной из задач исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ОБЗОРУ ЛИТЕРАТУРЫ

Проведенный анализ литературы по проблеме МС на фоне рака эндометрия: связь с инвазией, ассоциированными с клеточной подвижностью белками и прогнозом показал, что обменно-метаболические нарушения достаточно типичны для больных раком эндометрия всех возрастных периодов.

Поскольку большинство больных раком эндометрия страдают ожирением, уровень гормонов жировой ткани лептина, адипонектина, резистина исследовались ранее во многих исследованиях. Появились единичные статьи, где у больных исследуются и уровни рецепторов адипокинов, экспрессия генов рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия.

Новизной планируемого исследования явилось то, что было проведено комплексное изучение содержания адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи с опухолевой инвазией (инвазией опухоли в миометрий, цервикальной инвазией), степенью дифференцировки и наличием МС.

При анализе возможных механизмов влияния МС на аспекты патогенеза ассоциированных с МС опухолей (пролиферация, инвазия, апоптоз, неоангиогенез) важную роль отводят активации/инактивации транскрипционных факторов, влиянию на экспрессию ростовых факторов и их рецепторов, белков, связывающих ростовые факторы гормонами жировой ткани - лептином, адипонектином и др. Обсуждается также прямое и опосредованное влияние лептина и адипонектина на экспрессию ассоциированных с клеточной подвижностью белков, что может быть одним из возможных механизмов влияния МС на инвазивный рост и метастазирование опухолей. В связи с этим в работе выполнен фрагмент по

изучению взаимосвязей уровня адипокинов сыворотки крови, экспрессии рецепторов адипокинов с экспрессией белков системы IGFs, а также ассоциированными с клеточной подвижностью белками.

Необходимо отметить, что поскольку в литературе данные об экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков при раке эндометрия практически отсутствуют (за исключением данных об экспрессии фасцина) на первом этапе исследования возникла необходимость проведения сравнительного анализа уровня этих белков при доброкачественных и злокачественных процессах эндометрия. На втором этапе был проведен анализ экспрессии рецепторов ростовых факторов и ассоциированных с клеточной подвижностью белков в ткани рака эндометрия во взаимосвязи с опухолевой инвазией. Наконец, на третьем этапе был проведен анализ экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков в ткани рака эндометрия с экспрессией рецепторов адипокинов в опухолевой ткани и содержанием адипокинов сыворотки крови.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование было включено 60 больных раком эндометрия и 15 больных с гиперпластическими процессами эндометрия, находившихся на стационарном лечении в отделении гинекологии с группой профилактики ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН с 2011 по 2013гг. (с 2014 г. – Томский НИИ онкологии), подписавшие информированное согласие на участие в исследовании.

2.1 Клиническая характеристика исследуемых больных

Все больные раком эндометрия в зависимости от наличия МС были разделены на две группы: I группа – больные раком эндометрия с МС (37 человек), II группа – больные раком эндометрия без МС (23 человека). Критериями включения в первую группу с учетом рекомендаций International Diabetes Federation (2005) являлось наличие абдоминального типа ожирения (для женщин окружность талии более 80 см) в сочетании, как минимум, с двумя из 4 дополнительных критериев:

- с повышением ТГ более 1,7 ммоль/л или проводимым ранее лечением дислипидемии;
- со снижением ЛПВП менее 1,29 ммоль/л;
- с повышением артериального давления (систолического более 130 мм рт.ст. или диастолического более 85 мм рт.ст.) или проводимой терапией артериальной гипертензии;
- с повышением глюкозы крови натощак более 5,6 ммоль/л, или нарушением толерантности к глюкозе, или выявленным СД 2-го типа.

Стадирование рака эндометрия осуществлялось в соответствии с международными классификациями рака эндометрия FIGO (2009) и TNM (2002). Распределение больных по стадии было следующее: I стадия выявлена у 48 пациенток (80%), вторая – у 12 (20%). Ia стадию имела 38 больная, Ib стадию - 10 больных. В исследование были включены только больные с эндометриоидными аденокарциномами. По степени дифференцировки опухоли больные распределились следующим образом: высокодифференцированные аденокарциномы были выявлены в 12,8% случаев, умереннодифференцированные аденокарциномы – в 51,3% случаев, низкодифференцированные - в 30,7%. Степень дифференцировки опухоли не определялась в 5,1% случаев.

При выполнении фрагмента исследования по оценке экспрессии рецепторов ростовых факторов и ассоциированных с клеточной подвижностью белков группы исследования составили 38 постменопаузальных больных раком эндометрия с I-II стадией, средний возраст больных составил $56,8 \pm 1,5$ года и 15 пациенток со сложной типичной и атипичной гиперплазией эндометрия, средний возраст составил $51,8 \pm 1,8$ года) – группа сравнения. При выполнении данного фрагмента работы не проводилось выделение подгрупп с МС и без МС.

Необходимость формирования группы сравнения, представленной больными с гиперпластическими процессами эндометрия, обусловлена практически полным отсутствием в литературе данных об экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков при раке эндометрия и необходимостью проведения на первом этапе сравнительного анализа при доброкачественных и злокачественных процессах эндометрия. На втором этапе был проведен анализ экспрессии рецепторов ростовых факторов и ассоциированных с клеточной подвижностью белков в ткани рака эндометрия во взаимосвязи с опухолевой инвазией. Хотя в данном фрагменте работы не проводилось выделение подгрупп больных с МС и без МС, но на заключительном этапе работы нами был проведен анализ взаимосвязи

экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков в опухолевой ткани с содержанием адипокинов в сыворотке крови больных раком эндометрия и экспрессией их рецепторов в опухолевой ткани.

Согласно классификации FIGO (2009), пациенты были разделены от стадии заболевания: Ia (инвазия опухоли в миометрий менее 1\2) и Ib (инвазия миометрия более 1\2). Однако, мы разделили пациенток на три группы в соответствии с глубиной инвазии опухоли в миометрий. Пациенток с Ia стадией мы подразделили на две группы: без инвазии опухоли в миометрий (опухоль ограничивалась только эндометрием) и с проникновением опухоли в миометрий (поражение миометрия менее, чем на 50%). Кроме того, учитывалось наличие цервикальной инвазии.

Объемы обследования и лечения больных раком эндометрия соответствовали рекомендациям Министерства здравоохранения РФ (2000). Всем больным проведено лечение в соответствии со стадией процесса. На первом этапе всем пациентам выполнялось хирургическое лечение в объеме простой или расширенной экстирпации матки с придатками. У 16 пациенток (26%) было проведено только хирургическое лечение, адъювантная терапия не требовалась. У 44 пациенток с IbG 2-3 –Ia стадией проведено комбинированное лечение: операция и адъювантный курс лучевой терапии в общепринятых дозах.

2.1.1 Клиническая характеристика больных раком эндометрия с метаболическим синдромом и без метаболического синдрома

В группу больных раком эндометрия с МС было включено 37 пациенток. Возраст женщин колебался от 24 до 70 лет, в среднем составил $56,9 \pm 1,6$ года.

Высокая степень дифференцировки аденокарциномы наблюдалась в 7,2 %, умеренная – в 64,2 %, низкая – в 28,6 % случаев. Распределение по

стадиям процесса в группе было следующее: IA стадия - 67%, IB – в 21,3%, II – в 10,7%. Индекс массы тела (ИМТ) у больных в подгруппе составил $37,2 \pm 1,86$.

В группу больных раком эндометрия без МС было включено 23 больные. Возраст больных колебался от 24 до 79 лет, в среднем составил $56,3 \pm 1,8$ года.

Высокая степень дифференцировки аденокарциномы наблюдалась в 27,2 %, умеренная – в 36,3 %, низкая – в 36,5 % случаев. Распределение по стадиям процесса в группе было следующее: IA стадия – 63,6%, IB – в 18,1%, II – в 18,1%. Индекс массы тела (ИМТ) у больных в подгруппе составил $23,2 \pm 1,06$. В группе без МС несколько чаще встречались больные с высокодифференцированными и реже с умереннодифференцированными опухолями, однако различия были статистически не значимы.

2.1.2 Характеристика больных с гиперпластическими процессами эндометрия

В группу сравнения было включено 15 пациенток со сложной типичной и атипичной гиперплазией эндометрия для сравнительной оценки уровня экспрессии рецепторов ростовых факторов и ассоциированных с клеточной подвижностью белков. Возраст больных данной группы был от 45 до 71 года и в среднем средний возраст составил $51,8 \pm 1,8$ года. 10 больных находились в перименопаузе, 5 больных – в постменопаузе.

С целью верификации диагноза пациенткам данной группы проводилась гистероскопия с отдельным диагностическим выскабливанием полости матки и цервикального каналаи последующим морфологическим исследованием. Лечение назначалось в зависимости от вида гиперплазии и возраста больной.

Общий дизайн исследования представлен на рисунке 1.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Клиническое обследование больных

Обследование больных проводилось по разработанной комплексной анкете, включающей клинические данные: сбор жалоб, анамнеза (в том числе акушерско-гинекологического), оценку возраста, общесоматического и гинекологического статуса, анализ сопутствующей гинекологической патологии и экстрагенитальных заболеваний.

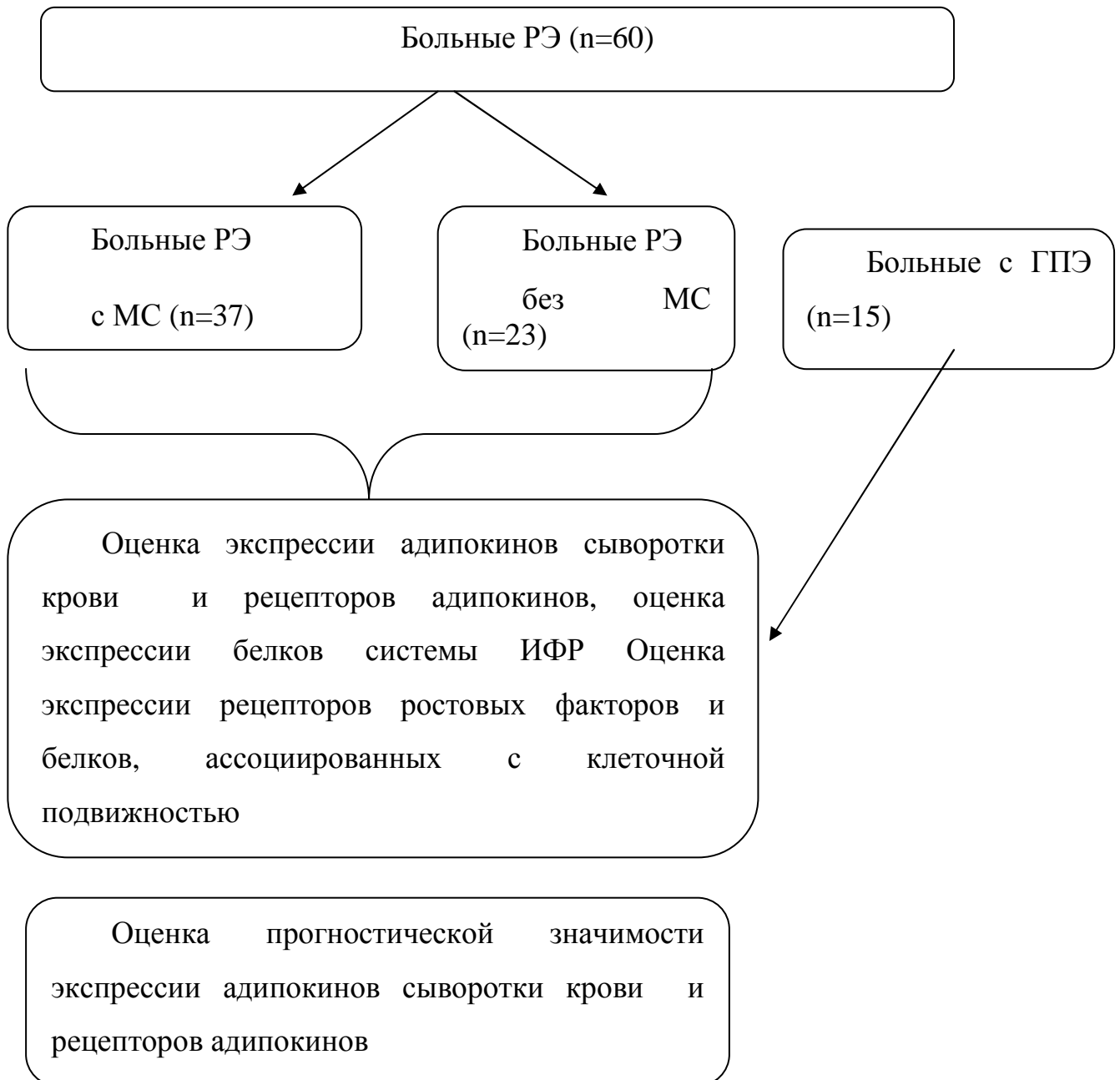


Рисунок 1 - Общий дизайн исследования.

Примечание: РЭ – рак эндометрия, ГПЭ – гиперпластические процессы эндометрия

Исследование антропометрических показателей включало измерение роста, веса, окружности талии (ОТ) и окружности бедер (ОБ). Оценка степени ожирения проводилась на основании расчета ИМТ (индекс Кеттле) по формуле:

$$\text{ИМТ} = \frac{m}{h^2} \quad (1)$$

где m – масса тела, кг;

h – рост, м.

При значении ИМТ, рассчитанного по формуле (1), более или равное 25 диагностировали избыточную массу тела, при ИМТ более или равное 30 – ожирение.

Окружность талии измерялась на середине расстояния от нижнего края реберной дуги до гребня подвздошной кости, окружность бедер – на уровне вертелов бедренных костей сантиметровой лентой. Тип распределения жировой ткани устанавливался на основании значения индекса отношения ОТ к ОБ. При значении данного индекса более или равное 0,85 диагностировалось абдоминальное ожирение, при значении индекса менее 0,85 – глутеофemorальный тип ожирения. У 60% больных с ожирением был выявлен абдоминальный тип.

2.2.2 Оценка гормонально-метаболического статуса

Для проведения биохимических и гормональных исследований у женщин осуществлялся забор крови из локтевой вены в утренние часы после 12-часового голодания. Сыворотку крови получали методом центрифугирования при 3000 об/мин в течение 15 мин.

Оценка состояния углеводного и липидного обмена

Оценка состояния углеводного обмена включала исследование уровня глюкозы, который определялся в капиллярной крови натощак глюкозооксидазным методом на автоматическом анализаторе Konelab-20, нормальные значения 4,1–6,4 ммоль/л.

Проводилось исследование уровней показателей липидного спектра: общего холестерина (ОХ), ЛПВП и ТГ, на биохимическом многоканальном анализаторе Konelab-20 (Финляндия) после 16-часового голодания с использованием реактивов фирмы Human (Германия) и ThermoScientific (Финляндия). Уровень ЛПНП рассчитывался по формуле Фридевальда:

$$\text{ЛПНП} = \text{ОХ} - (\text{ЛПВП} + 0,25\text{ТГ}) \quad (2)$$

где ЛПНП – концентрация липопротеидов низкой плотности сыворотки крови; ммоль/л;

ОХ - концентрация общего холестерина сыворотки крови; ммоль/л;

ЛПНП – концентрация липопротеидов высокой плотности сыворотки крови; ммоль/л;

ТГ - концентрация триглицеридов сыворотки крови; ммоль/л.

Согласно рекомендациям Национальной образовательной программы по холестерину США в третьем докладе по лечению дислипидемий у взрослых (АТР-III, 2001) за нормальные значения показателей липидного спектра у женщин приняты следующие уровни:

ОХ менее 5,2 ммоль/л,

ТГ менее 1,7 ммоль/л,

ЛПВП более 1,0ммоль/л,

ЛПНП менее 3,5 ммоль/л.

Оценка уровня гормонов жировой ткани

Исследование уровня лептина и адипонектина сыворотки крови выполнялось методом твердофазного иммуноферментного анализа по стандартной методике с использованием наборов фирмы R&D (США). Согласно рекомендациям производителя коммерческих наборов, а также в соответствии с рекомендациями IDF (2005) нормальные уровни лептина у женщин старше 20 лет составляют 7–27 нг/мл, адипонектина - от 0,8 до 28,2 мкг/мл.

2.2.3 Морфологическое исследование эндометрия

Забор материала для морфологического исследования проводился на этапе хирургического лечения больных раком эндометрия или во время гистероскопии у больных с гиперпластическими процессами эндометрия. Гистологические срезы готовились из парафиновых блоков по традиционной методике с окраской гематоксилин-эозином. При морфологическом исследовании оценивали гистологический тип опухоли эндометрия и степень

ее дифференцировки, распространенность по полости матки, глубину инвазии в миометрий, вовлечение в опухолевый процесс цервикального канала, состояние маточных труб и яичников, лимфатических узлов (при проведении лимфаденэктомии).

2.2.4. Оценка уровня растворимого рецептора лептина в сыворотке крови

Оценка уровня растворимого рецептора лептина в сыворотке крови (sOb-R) проводилась методом ELISA с использованием набора BioVendor (Чехия) в соответствии с рекомендациями к набору. Результаты рассчитывались в нг/мл.

2.2.5 Определение экспрессии белков системы инсулиноподобных факторов роста, рецепторов ростовых факторов, рецепторов адипокинов и ассоциированных с клеточной подвижностью белков в ткани эндометрия

Забор ткани для определения белков системы инсулиноподобных факторов роста, экспрессии рецепторов ростовых факторов, рецепторов адипокинов и ассоциированных с клеточной подвижностью белков в ткани эндометрия проводился из участков макроскопически определяемой опухоли в операционном материале. Полученный материал расфасовывали в пластиковые пробирки Eppendorf, 1,5 мл, маркировали и доставляли на льду в предельно короткий срок в лабораторию биохимии опухолей, немедленно замораживали и хранили при температуре -80°C .

Для выполнения проточной цитометрии свежие образцы опухолевой и гиперплазированной ткани не замораживали, а подвергали гомогенизации.

ELISA

В опухолевой ткани определяли содержание белков системы IGFs, рецепторов адипонектина AdipoR1 и AdipoR2 методом ELISA на ИФА-анализаторе Anthos 2020.

Предварительно 100 мг ткани гомогенизировали в жидком азоте до порошкообразного состояния, порошок ресуспендировали в 600 мкл 50 мМ трис-HCl-буфера (pH=7,8) с 1 мМ ЭДТА и 1 мМ дитиотрейтолом. Гомогенат центрифугировали 30 мин при 10000g и 4 С. В каждую лунку планшета для твердофазного иммуноферментного анализа добавляли соответствующее методическим рекомендациям к набору количество супернатанта. Содержание белка в супернатантах определяли по методу Лоури и выражали в нг/мг белка.

Использовались следующие наборы Human AdipoR1 и AdipoR2 (USCN, Китай), human IGF-I, IGFBP-3 (R&D, США), human IGFBP-4 (Abcam, Великобритания), IGF-II (Mediagnost, Германия).

*Подготовка тканей для цитометрического анализа с использованием
деагрегирующего устройства BD Medimachine*

Образец опухолевой или гиперплазированной ткани (~ 10-20 мм³) предварительно смоченный фосфатно-солевым буфером («Cell Wash», Becton Dickinson (BD), США) помещали в медикон (35µm, нестерильный, BD) вместе с 1.5 мл буфера и вставляли медикон в деагрегирующее устройства BD Medimachine. Ткань деагрегировали в течение 30-60 секунд. Суспензию клеток из медикона извлекали с помощью шприца через отверстие в медиконе. Далее суспензию фильтровывали через фильтр 50 µm Syringe Filcons (нестерильный, BD) и затем дважды промывали водно-солевым буфером по стандартной методике.

Указанная процедура наиболее оптимальна для получения клеточных суспензий из тканей, в которой исключается контаминация, улучшается воспроизводимость получения клеточной суспензии, уменьшается степень повреждения белков цитоплазматической мембраны. Подсчет клеток производили в пробирках BD Trucount tubes (BD) на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (BD).

Проточная цитофлуориметрия

Для определения рецепторов ростовых факторов, фракции β -катенина, экспрессии Arp3, гельзолина и типирования цитокератин 18-позитивных клеток была выполнена фиксация и пермеабелизация клеток с помощью набора Cytofix/Cytoperm (BD, США) по стандартному протоколу. Аликвоты подготовленных суспензий были проинкубированы с соответствующими первичными конъюгированными антителами; использовались anti-CD221 (IGF-IR) phycoerythrin (PE), anti-p45 Ser β -catenin PE, anti-cytokeratin 18 fluorescein isothiocyanate (FITC), anti-cytokeratin 18 PE, анти-TGF β -RI (Abcam), анти-Arp3 (Abcam), анти-gelsolin (BD). В качестве вторичных антител использовались козы IgG anti-mouse -FITC (BD).

Результаты были проанализированы с использованием FACS Diva 6.1. В таблицах и на рисунках представлен процент IGF-RI, TGF β -RI, p45-Ser- β -катенина, Arp3 и гельзолин специфически окрашенных цитокератин-18-позитивных клеток в процентах от всех цитокератин-18-позитивных клеток.

Определение экспрессии кофилина и тимозина β -4 методом Вестерн-блоттинг

Электрофорез проводили по Laemmli [Laemmli, 1970] в 13% полиакриламидном геле. Пробы наносили в буфере, содержащем 0,0625M трис-HCl (pH 6,8), 2% SDS, 5% 2-меркаптоэтанол, 10% глицерин, 0,01% бромфеноловый синий.

После электрофореза белков осветленных гомогенатов в 13%-ном полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия осуществляли перенос полипептидов на PVDF -мембрана (Amersham, США). Мембрану инкубировали в течение 2 часов при 20°C в буфере TNT, содержащем 10 мМ Tris-HCl (pH 7,5), 150 мМ NaCl, 0,1% Tween-20. Затем мембрану инкубировали в том же буфере, содержащем 5%-ное обезжиренное молоко и моноклональные антитела к кофилину (Abcam, разведение 1:500) и TIMSB4Y (тимозину β -4, (Abcam, разведение 1:1000) в течение 12 часов при 4°C, отмывали несколько раз буфером TNT и инкубировали в течение 1 часа в буфере TNT с 5%-ным обезжиренным молоком и антителами к IgG мыши или кролика, конъюгированными с пероксидазой, в разведении 1: 10000.

После отмывки мембрану подвергали стандартной обработке системой хемилюминесцентной детекции белков (Amersham, США). Плотность полос была определена с помощью стандартной компьютерной программы «Image J». Результаты выражали в процентах от содержания актинсвязывающих белков в неизменной ткани, где за 100% брали содержание актинсвязывающих белков в неизменной ткани.

2.2.6. Методы статистической обработки материалов

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 8.0.

На первом этапе данные были проанализированы на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Вилкс. Данные в таблицах представлены как медиана (Me) с интерквартильным размахом (25-й и 75-й процентиля). Для показателей, характеризующих качественные признаки, учитывалось абсолютное число и относительная величина в процентах (%).

Сравнительный анализ показателей включал оценку межгрупповых и внутригрупповых различий исследуемых признаков. Достоверность различий

проверяли при помощи U-критерия Уилкоксона – Манна – Уитни (в случае независимых совокупностей). При количестве сравниваемых групп более двух пользовались методом Крускала – Уоллиса. Качественные признаки сравнивали с помощью точного теста Фишера. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Для определения существования функциональных связей между параметрами вычисляли коэффициент корреляции Спирмена R, который считали достоверным при $p < 0,05$. На рисунках представлены только статистически значимые корреляционные взаимосвязи с уровнем значимости $p < 0,05$.

Прогностическую значимость изучаемых параметров оценивали с использованием модуля Survival analysis программы Statistica 8.0. Кривые кумулятивной выживаемости строились по методу Каплана – Майера, значимость различий в выживаемости между группами оценивали по критерию Гехана – Вилкоксона.

ГЛАВА 3

СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Спектр обменно-метаболических нарушений у больных раком эндометрия

Все больные раком эндометрия в зависимости от наличия МС были разделены на две подгруппы: с МС и без МС. Критериями включения в группу с МС с учетом рекомендаций International Diabetes Federation (2005) являлось наличие абдоминального типа ожирения (окружность талии более 80 см для женщин – у европеоидной расы) в сочетании как минимум с двумя из 4 дополнительных критериев: повышение ТГ более 1,7 ммоль/л или проводимое ранее лечение дислипидемии; снижение ЛПВП менее 1,29 ммоль/л для женщин; повышение артериального давления (систолического более 130 мм. рт.ст., или диастолического более 85 мм. рт.ст., или проводимая терапия артериальной гипертензии); повышение глюкозы крови натощак более 5,6 ммоль/л, или нарушение толерантности к глюкозе, или выявленный СД II типа. Среди больных раком эндометрия МС был выявлен в 61,6% случаев (у 37 больных из 60).

Сравнительные данные по ИМТ, уровню гликемии, встречаемости гипертонии и СД II типа, а также уровню адипокинов сыворотки крови в подгруппах больных раком эндометрия с МС и без МС представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Индекс массы тела, уровень гликемии, встречаемость гипертонии и сахарного диабета II типа, а также уровень адипокинов сыворотки крови в подгруппах больных раком эндометрия с МС и без МС

Параметр	Рак		Рак
	эндометрия МС (n=23)	без МС	эндометрия с МС (n=37)
ИМТ, m±M	23,2±1,06*		37,2±1,86
Уровень гликемии, ммоль/л, m±M	5,00±0,14*		6,21±0,42
Встречаемость СД II типа, n (%)	4 (6,4%)*		17 (45,9%)
Встречаемость гипертонической болезни, n (%)	19 (73%)		33 (97,1%)
Уровень лептина сыворотки крови, нГ/мл, Me (25%- 75%)	17,8	(19,0- 28,0)*	70,5 (20,6- 124,5)
Уровень адипонектина сыворотки крови, мкг/мл, Me (25%- 75%)	12,1	(5,44- 13,9)*	5,59 (3,50- 8,64)

Примечание:

m – среднее выборочное, M – ошибка среднего, МС – метаболический синдром, СД – сахарный диабет; * - достоверность различий по сравнению с

соответствующими показателями в подгруппе больных раком эндометрия с МС, $p < 0,05$.

Таким образом, по таким показателям как ИМТ, уровень гликемии, встречаемость сахарного диабета II типа, уровень лептина и адипонектина в сыворотки крови больные раком эндометрия с МС достоверно отличались от больных раком эндометрия без МС. Наличие статистически значимых различий по уровню гликемии в подгруппах с МС и без МС свидетельствует, по-видимому, о сложности коррекции нарушений углеводного обмена у такой достаточно соматически отягощенной категории больных.

3.2. Уровень адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи со стадией, степенью дифференцировки и наличием МС

Уровень адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи с инвазией опухоли в миометрий, цервикальной инвазией и наличием МС представлен в таблице 2.

Таблица 2 - Уровень адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия: связь с инвазией опухоли в миометрий, цервикальной инвазией и наличием МС, Me (25%-75%)

Клинические параметры	Параметры				
	Лептин, нг/мл	Адипонектин, мкг/мл	sObR, нг/мл	AdipoR1, нг/мг белка	AdipoR2, нг/мг белка
Инвазия в миометрий:					
Отсутствует или поверхностная	38,5 (19,5-97,1)	7,28 (3,80-11,8)	2,80 (2,24-5,12)	44,9 9 (31,1-59,0)	14,1 (8,14-18)
Глубокая	60,3 (3,42-193)	7,30 (5,84-11,6)	2,43 (1,86-5,21)	88,3 (64,3-102)	9,60 (5,70-14,0)
				p<0,05	
Цервикальная инвазия:					
Нет	40,9 (17,2-100)	7,28 (3,80-11,8)	2,56 (2,24-5,05)	47,2 (33,7-71,8)	12,6 (5,40-17,6)
Да	15,8 (5,5-28,2)	4,02 (3,07-5,03)	4,02 (3,07-5,04)	51,0 (50,8-70,3)	17,6 (9,24-24,3)
	p<0,05	p<0,05			
Наличие МС:					
Да	70,4	5,69	2,64	48,7	11,1

	(20,0-124)	(3,50-8,64)	(2,15-5,21)	(34,2-64,5)	(5,40-17,2)
Нет	19,5	11,9	3,80	57,5	14,2
	(9,01-28,6)	(5,44-13,4)	(2,83-4,85)	(33,7-88,3)	(7,32-18,0)
	p<0,05	p<0,05	p<0,05		

Максимальный уровень лептина был у больных раком эндометрия с МС и с IV стадией заболевания (глубокая инвазия опухоли в миометрий). При наличии цервикальной инвазии уровень лептина снижался. Уровень адипонектина, наоборот, был выше у больных без МС, что соответствует данным литературы. Уровень адипонектина также коррелировал с наличием цервикальной инвазии. Уровень sOb-R был выше у больных раком эндометрия без МС.

Уровень рецепторов адипонектина AdipoR1 и AdipoR2 не зависел от наличия у больной МС, но уровень AdipoR1 зависел от глубины инвазии опухоли в миометрий. Уровень адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи со степенью дифференцировки опухоли представлен в таблице 3.

Максимальный уровень адипонектина сыворотки крови был у больных с высокодифференцированными опухолями, причем разница по сравнению с умереннодифференцированными опухолями была статистически значима. Динамика изменения уровня рецепторов адипокинов AdipoR1 и AdipoR2 была примерно одинакова. Минимальный уровень рецепторов наблюдался при высокодифференцированных опухолях, уровень обоих видов рецепторов существенно увеличивался при G2- и G3-опухолях.

Таблица 3 - Уровень адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия: связь со степенью дифференцировки опухоли, Me (25%-75%)

Степень дифференц. опухоли	Параметры				
	Лептин, нг/мл	Адипонектин, мкг/мл	sOb-R, нг/мл	AdipoR1, нг/мг белка	AdipoR2, нг/мг белка
G1	20,7 (8,22-37,6)	11,7 (7,22-12,09)*	4,85 (2,43-8,95)	33,7 (26,7-43,8)**	5,01 (4,52-10,3)*
G2	43,2 (20,6-110)	4,34 (3,50-8,00)	2,82 (2,15-5,21)	47,8 (35,6-71,8)	14,9 (8,38-18,0)
G3	33,2 (14,7-97,1)	7,28 (2,84-9,90)	2,80 (2,30-4,71)	54,7 (36,7-64,3)	13,4 (6,28-19,6)

Примечание:

G1, G2, G3 – высоко-, умеренно- и низкодифференцированные опухоли, соответственно; * - достоверность различий по сравнению с G2-опухолями, $p < 0,05$; ** - достоверность различий по сравнению с G3-опухолями, $p < 0,05$.

3.3. Уровень экспрессии компонентов системы инсулиноподобных факторов роста у больных раком эндометрия с метаболическим синдромом и без метаболических нарушений: взаимосвязь с уровнем адипокинов сыворотки крови и рецепторами адипокинов

Поскольку ранее нами было высказано предположение, что влияние МС на опухолевые клетки опосредуется через важнейшие гормоны жировой ткани - адипокины (лептин и адипонектин) посредством активации через

свои рецепторы экспрессии ростовых и транскрипционных факторов, далее в своей работе мы изучили экспрессию основных белков системы IGFs в ткани рака эндометрия. Уровень экспрессии рецептора IGF-RI в ткани рака представлен на рисунке 2 и таблице 4.

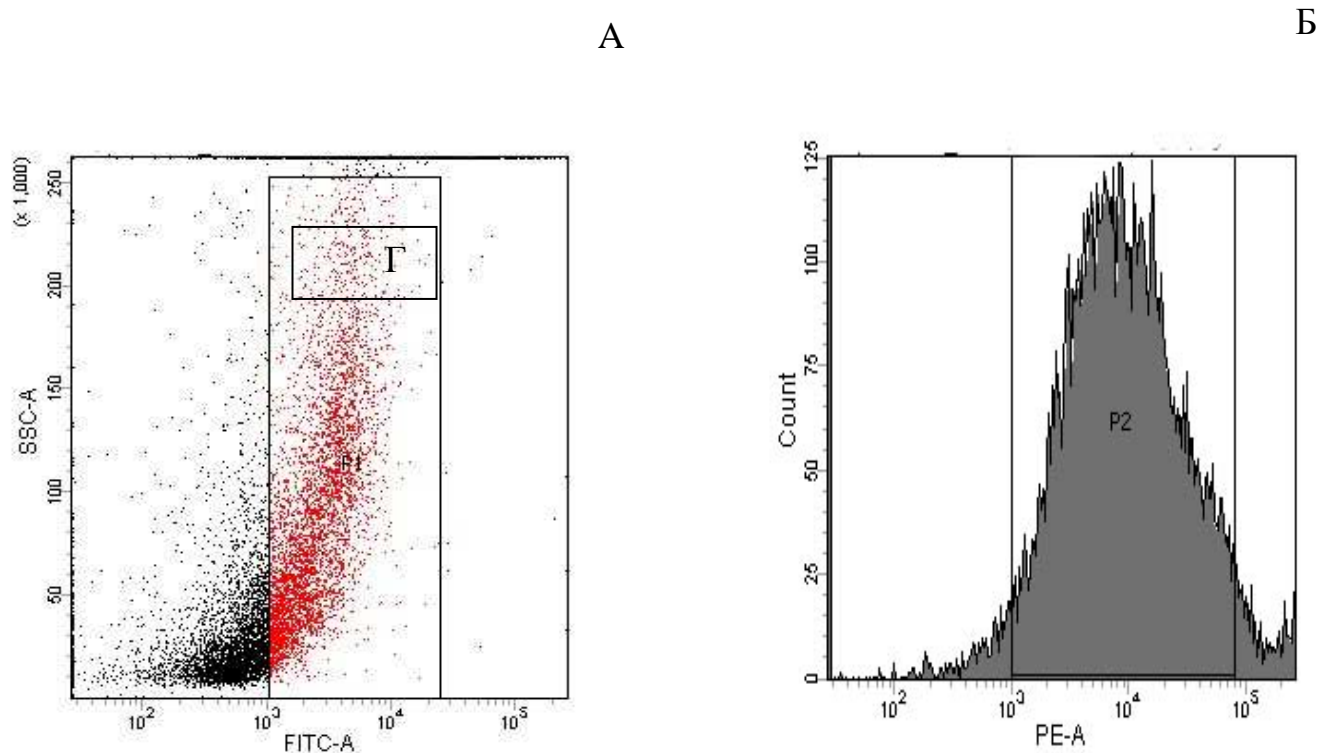


Рис. 2 - Высокая экспрессия IGF-RI в ткани рака эндометрия, проанализированная методом проточной цитометрии. А: цитокератин 18-позитивные клетки – гейт 1. Б: гистограмма, отражающая интенсивность флюоресценции и количество цитокератин 18-позитивных клеток, окрашенных антителами anti-CD221 PE (anti-IGF-RI PE). 96% цитокератин 18-позитивных клеток экспрессировали IGF-RI.

Таблица 4 - Процент цитокератин 18-позитивных клеток, экспрессирующих IGF-RI (в %) в ткани рака эндометрия рака, Me (25-75%).

Процент цитокератин 18-позитивных клеток, экспрессирующих IGF-RI (в %) в ткани рака эндометрия, Me (25-75%)	
С метаболическим синдромом	Без метаболического синдрома
86,5 (74,8-89,0)	76,5 (70,5-87)

Экспрессия IGF-RI была несколько выше в подгруппе с МС, но статистически достоверных различий выявлено не было.

Далее в нашей работе был изучен уровень экспрессии инсулиноподобных факторов роста (IGF-I и IGF-II) и их основных связывающих белков (IGFBP-3 и IGFBP-4) в ткани рака эндометрия. Данные представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Уровень IGF-I, IGF-II, IGFBP-3 и IGFBP-4 в опухолевой ткани у больных раком эндометрия с МС и без метаболических нарушений, Me (25%-75%)

Клинические группы	Параметры			
	IGF-I (нг/мг белка)	IGF-II (нг/мг белка)	IGFBP-3 (нг/мг белка)	IGFBP-4 (нг/мг белка)
Рак эндометрия с МС	0,235 (0,17-0,35)	4,52 (3,62-5,90)	10,56 (7,27-13,84)	0,56 (0,38-0,78)
Рак эндометрия без МС	0,257 (0,23-0,31)	5,63 (3,63-6,97)	9,07 (5,99-14,30)	0,90 (0,77-2,56)*

Примечание:

МС – метаболический синдром, * - достоверность различий по сравнению с подгруппой больных раком эндометрия с МС, $p < 0,05$.

У больных раком эндометрия уровень IGF-I и IGF-II не различался в подгруппах больных с МС и без МС. Максимальный уровень IGFBP-4 был выявлен в подгруппе больных раком эндометрия без МС, причем различия между подгруппами без МС и с МС были статистически значимы.

Полученные данные были проанализированы во взаимосвязи с уровнем экспрессии IGF-RI, а также уровнем адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов отдельно в подгруппах с МС и без метаболических нарушений. Результаты корреляционного анализа представлены на рисунках 3 и 4. На рисунках представлены только статистически значимые корреляционные взаимосвязи с уровнем значимости $p < 0,05$.

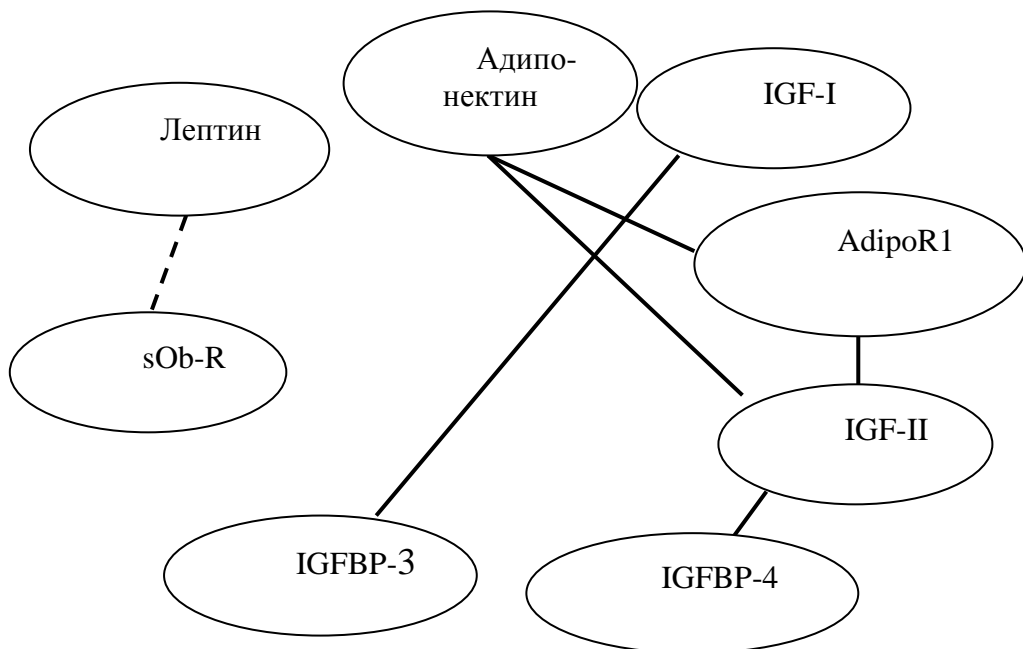


Рисунок 3 - Спектр корреляционных взаимосвязей экспрессии компонентов системы инсулиноподобных факторов роста, содержания адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия с МС: ——— положительные связи, -----отрицательные связи.

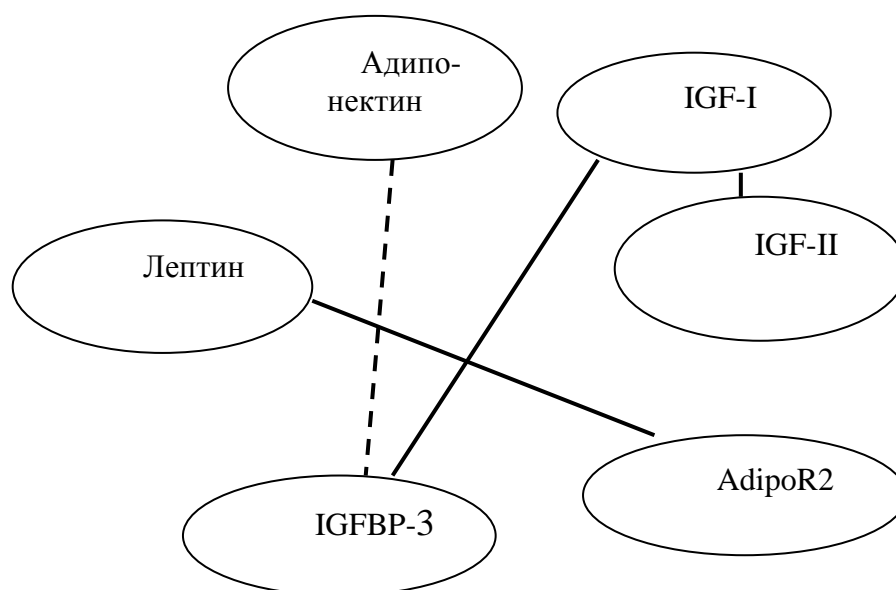


Рисунок 4 - . Спектр корреляционных взаимосвязей экспрессии компонентов системы инсулиноподобных факторов роста, содержания адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия без МС ——— положительные связи, -----отрицательные связи..

У больных раком эндометрия с МС уровень лептина сыворотки крови был связан отрицательной связью с уровнем растворимого рецептора лептина. Интересно, что в группе без МС эта связь отсутствует. В обеих подгруппах уровень сывороточных адипокинов был связан как с уровнем рецепторов адипонектина, так и с белками системы инсулиноподобных факторов роста. Кроме того, в обеих подгруппах имелись внутренние корреляционные связи между отдельными белками системы инсулиноподобных факторов роста. Также, в обеих группах не было выявлено взаимосвязей адипокинов сыворотки крови, рецепторов адипокинов и IGFs и IGFBPс с рецептором инсулиноподобного фактора роста первого типа (IGF-RI).

Таким образом, в результате проведенного исследования получены данные о высокой частоте МС в выборке больных раком эндометрия - 64,5%.

В представленном фрагменте работы показано, что уровень лептина сыворотки крови был выше у больных раком эндометрия с МС и глубокой инвазией опухоли в миометрий. При наличии цервикальной инвазии уровень лептина снижался. Уровень адипонектина, наоборот, был выше у больных без МС, его уровень также коррелировал с наличием цервикальной инвазии. Уровень рецепторов адипонектина AdipoR1 и AdipoR2 не зависел от наличия у больных раком эндометрия МС, но зависел у больных раком эндометрия от глубины миометриальной инвазии. Выявлен различный спектр корреляционных взаимосвязей между экспрессией компонентов системы инсулиноподобных факторов роста, адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия в подгруппах с МС и без МС.

3.4. Клиническое значение экспрессии рецепторов инсулиноподобного фактора роста I, рецептора трансформирующего фактора роста I типа и ассоциированных с клеточной подвижностью белков при гиперплазии и раке эндометрия

Данный фрагмент исследования выполнен на образцах ткани 38 постменопаузальных больных раком эндометрия I-II стадии, средний возраст больных составил $56,8 \pm 1,5$ года и 15 пациенток с типичной и атипичной гиперплазией эндометрия, средний возраст составил $51,8 \pm 2,8$ года). В перименопаузе находились 10 больных, в постменопаузе – 5 больных.

Согласно классификации FIGO (2009), пациенты были разделены по стадиям: Ia (инвазия опухоли в миометрий менее $1/2$ толщины) и Ib (инвазия

миометрия более 1\2). Однако, мы разделили пациенток на три группы в соответствии с глубиной инвазии опухоли в миометрий. Пациенток с Ia стадией мы подразделили на две группы: без инвазии опухоли в миометрий (опухоль ограничивалась только эндометрием) и с проникновением опухоли в миометрий (поражение миометрия менее, чем на 50%). Кроме того учитывалось наличие цервикальной инвазии. Клинические и морфологические параметры пациенток с раком эндометрия представлены в таблице 6.

Уровень рецепторов ростовых факторов и актинсвязывающих белков при гиперплазии и раке эндометрия

Типичные данные по экспрессии TGF β -RI, p45 Ser β -катенина, Arp3 и гельзолина при гиперпластических процессах и раке эндометрия представлены на рисунке 5. Уровень экспрессии IGF-RI и TGF-beta-RI у больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия был высок и достоверно не различался. Уровень экспрессии кофилина-1 и тимозина β -4 в ткани эндометрия представлены на рисунке 6.

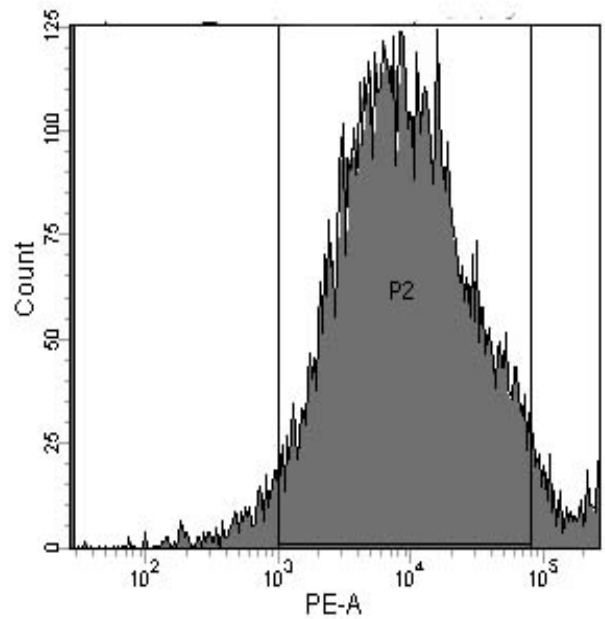
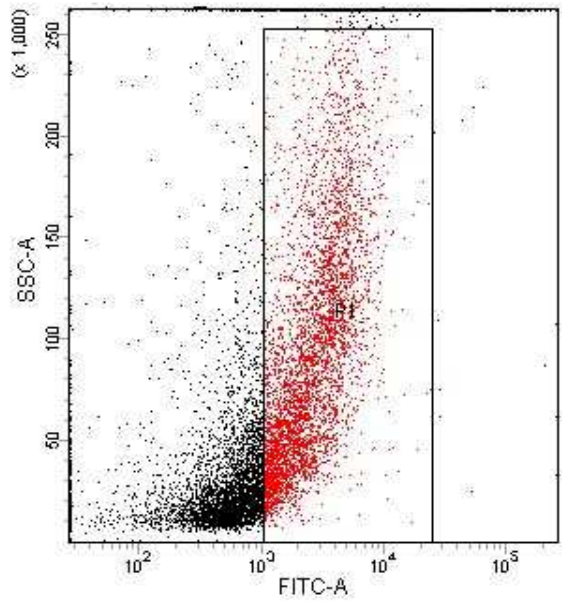
Таблица 6. Клинико-морфологические параметры больных раком эндометрия.

Параметры	N
Менопаузальный статус:	
Постменопауза	38
Стадия:	
I	30
II	8
Инвазия опухоли в миометрий:	
Без инвазии	5
До половины миометрия	17
Более половины миометрия	8
Нет данных	8
Наличие цервикальной инвазии:	
Нет	30
Да	8
Всего:	38

А

Б

А



В

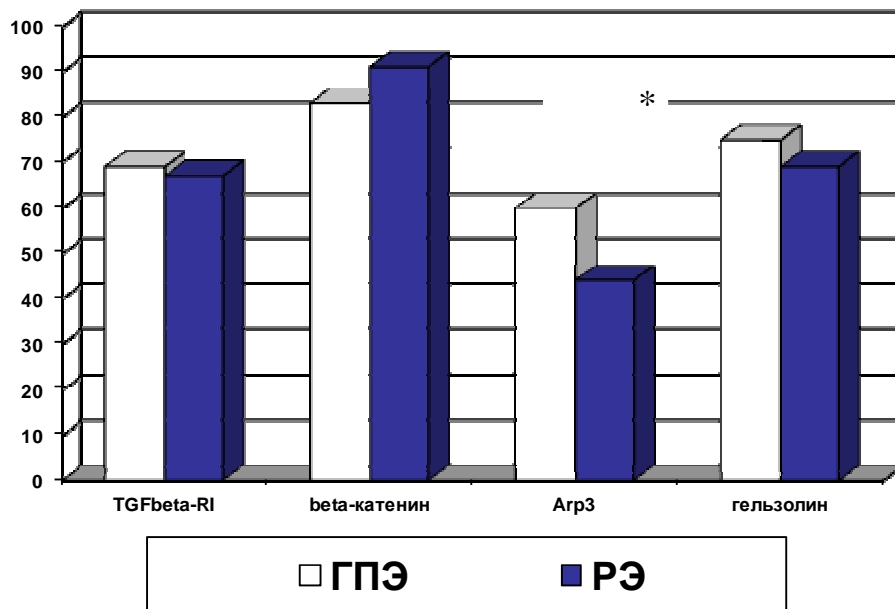


Рис. 5. - Высокая экспрессия p45 Ser β -катенина в ткани эндометрия, проанализированная методом проточной цитометрии. А: цитокератин 18-положительные клетки – гейт 1. Б: гистограмма, отражающая интенсивность

флюоресценции и количество (%) цитокератин 18-позитивных клеток, окрашенных антителами anti-p45 Ser β -catenin PE. 96% цитокератин 18 - позитивных клеток экспрессировали p45 Ser β -катенин. В: Процент цитокератин 18-позитивных клеток, окрашенных антителами TGF β -1R+FITC, anti-p45 Ser β -catenin, anti-Arp3+FITC и anti-gelsolin+FITC в процентах от всех цитокератин 18-позитивных клеток; * - достоверность различий по сравнению с экспрессией белка в опухолевой ткани, $p < 0,05$; РЭ – рак эндометрия, ГПЭ – гиперпластические процессы эндометрия.

Нами выявлено снижение уровня кофилина-1, тимозина β -4 и повышенная экспрессия Arp3 при гиперплазии эндометрия по сравнению с экспрессией данных белков в ткани рака эндометрия. В тоже время содержание кофилина-1, тимозин β -4 в трансформированных тканях было выше, чем в нетрансформированных.

Прогресс в понимании молекулярных механизмов формирования инвазивных протрузий трансформированными клетками, таких как ламелиподии и инвадоподия, связан с дальнейшим изучением функции ключевых регуляторных белков цитоскелета и актинветвящего комплекса Arp2/3. Формирование и активация комплекса Arp2/3 необходима для подвижности раковых клеток. Но мы выявили уменьшение экспрессии Arp3 в ткани рака эндометрия по сравнению с гиперпластическими процессами эндометрия, поэтому далее была проанализирована экспрессию Arp3 и других актинсвязывающих белков во взаимосвязи с опухолевой инвазией.

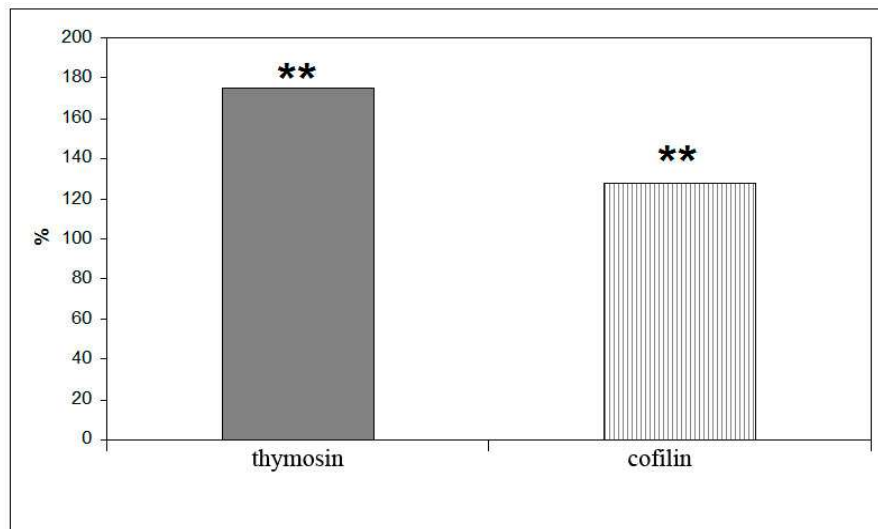
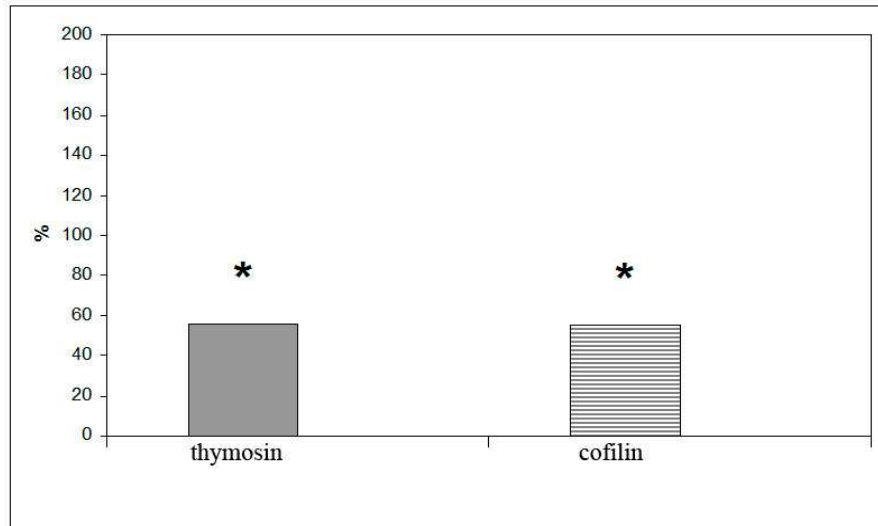
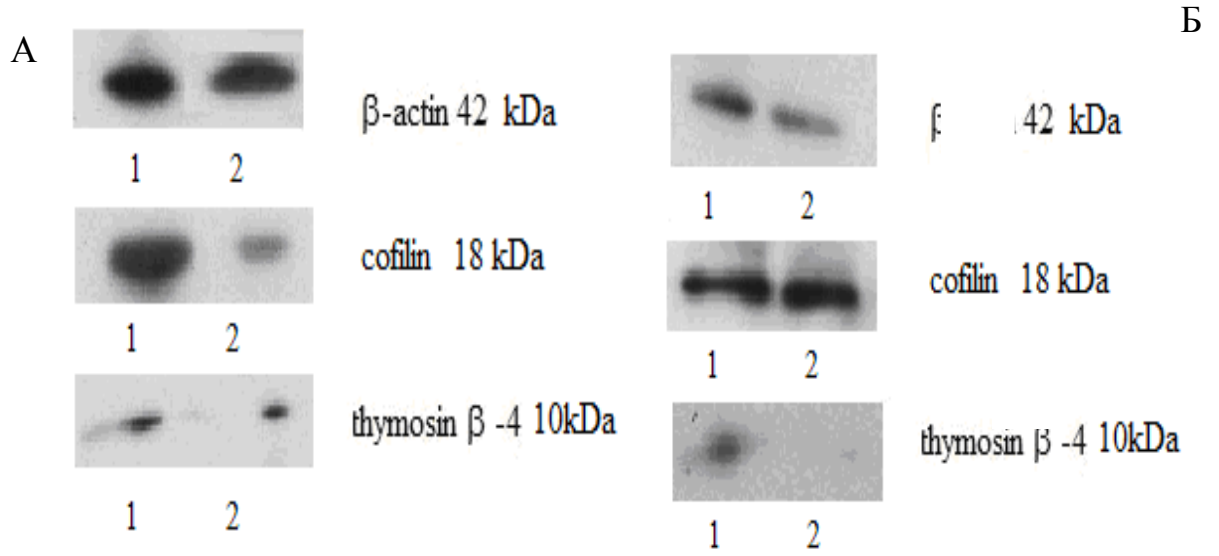


Рисунок 6. - Экспрессия кофилина и тимозина в гиперплазированной, неизменной и опухолевой тканях эндометрия: А - Вестерн блоттинг кофилина и тимозина в опухолевой и гиперплазированных тканях; Б - Вестерн блоттинг кофилина и тимозина в опухолевой и неизменных тканях; В - Содержание кофилина и тимозина в гиперплазированной ткани в процентном отношении к их содержанию в опухолевой ткани; Г - Содержание кофилина и тимозина в опухолевой ткани в процентном отношении к их содержанию в неизменной ткани. Примечание: А: 1 – в опухолевой ткани, 2 – в гиперплазированной ткани эндометрия; Б: 1 – в опухолевой ткани, 2 – в неизменной; * - по сравнению с трансформированной тканью, $p < 0,05$; ** - по сравнению с нетрансформированной тканью, $p < 0,05$.

Связь экспрессии TGF β -RI, IGF-RI и ассоциированных с клеточной подвижностью белков у больных раком эндометрия с инвазией

Данные об экспрессии TGF β -RI и IGF-RI во взаимосвязи с инвазией опухоли в миометрий и цервикальной инвазией представлены в таблице 7, данные по экспрессии других изученных белков - p45 Ser β -катенина, Arp3, gelsolin, кофилина-1 и тимозина- β 4 представлены в таблице 8.

Уровень экспрессии обоих видов рецепторов ассоциировался с глубиной инвазии опухоли в миометрий, а TGF β -RI – и с наличием цервикальной инвазией.

Таблица 7 - Уровень экспрессии рецепторов ростовых факторов в ткани больных раком эндометрия с различной глубиной инвазии опухоли в миометрий и с отсутствием и наличием цервикальной инвазии, Me (25%-75%).

Параметры, n	Процент цитокератин-18-позитивных клеток, окрашенных TGFβ-FITC и IGF-RI PE, %	
	TGFβ-RI	IGF-RI
Глубина инвазии в миометрий:		
Без инвазии	40,2 (31,0-57,0)	77,5 (72,0-81,0)
Инвазия до половины миометрия	57,4 (39,1-74,9)	86,5 (78,9-89,0)
Инвазия более половины миометрия	86,0 (79,0-91,5) p_{1,3}<0,05 p_{2,3}<0,05	94,5 (93,0-96,0) p_{1,3}<0,05
Наличие цервикальной инвазии:		
Нет	67,0 (39,0-77,2)	86,0(71,1-89,0)
Да	88,1 (77,7-92,2) p<0,05	92,5 (88,0-95,8)

Примечание:

$p_{1,3}<0,05$ – достоверность различий между группами без инвазии и с инвазией более половины миометрия; $p_{2,3}<0,05$ – достоверность различий между группами с инвазией до и более половины миометрия.

Таким образом, при увеличении глубины инвазии опухоли в миометрий уровень экспрессии данных рецепторов существенно увеличивался.

Таблица 8 - Уровень экспрессии p45 Ser β -катенина, Arp3, гельзолина, кофилина-1, тимозина β -4 в ткани больных раком эндометрия с различной глубиной опухолевой инвазии, Me (25-75%).

Параметры	Процент цитокератин-18-позитивных клеток, окрашенных p45 Ser β -катенин PE, Arp3+FITC и гельзолин+FITC			Уровень кофилина и тимозина в процентах к нетрансформированной ткани эндометрия, %	
	p45 Ser β -катенин	Arp3	Гельзолин	Кофилин	Тимозин
Глубина инвазии в миометрий:					
Без инвазии	89.2 (80.0-91.0)	34.0 (23.0-45.9)	61.5 (54.0-65.0)	130.0 (100-155)	49.0 (29.0-55.0)
Инвазия до половины миометрия	92.3 (80.1-95.9)	53.6 (39.1-75.1)	74.6 (69.1-82.0)	122 (114-129)	197 (160-240)
Инвазия более половины миометрия	94.2 (82.0-96.0)	46.2 (36.0-60.4)	62.8 (55.0-68.0)	181 (140-219) p_{1,3}<0,05 p_{2,3}<0,05	199 (155-260) p_{1,3}<0,05 p_{1,2}<0,05
Наличие ЦИ:					
Нет	91.0 (82.0-94.2)	45.0 (35.0-70.2)	71.0 (65.0-75.0)	124 (108-138)	148 (89.0-209)
Да	91.5 (88.7-93.2)	33.0 (22.0-46.8)	66.0 (54.0-76.0)	106 (80.6-140)	290 (255-367) p<0,05

--	--	--	--	--	--

Примечание:

$P_{1,3} < 0,05$ – достоверность различий между группами без инвазии и с инвазией более половины миометрия; $p_{2,3} < 0,05$ – достоверность различий между группами с инвазией до и более половины миометрия, $p_{1,2} < 0,05$ – достоверность различий между группами без инвазии и с инвазией до половины миометрия; ЦИ – цервикальная инвазия.

Экспрессия кофилина-1 и тимозина β -4 также зависела от глубины инвазии опухоли в миометрий. Экспрессия тимозина β -4 была выше у пациентов с поверхностной и глубокой миометральной инвазией более чем в 3,0 раза по сравнению с больными без инвазии ($p < 0,05$). Экспрессия кофилина-1 у пациентов с глубокой инвазией была выше на 48% по сравнению с пациентами с поверхностной инвазией.

Экспрессия TGF-beta-RI и тимозина β -4 варьировала в зависимости от наличия или отсутствия цервикальной инвазии. Содержание этих белков было выше у больных раком эндометрия с цервикальной инвазией на 33 и 95%, соответственно.

Взаимосвязи экспрессии IGF-RI, TGF-бета-RI, p45 Ser- β -катенина с экспрессией актинсвязывающих белков в ткани эндометриальной гиперплазии и рака эндометрия.

Взаимосвязи между экспрессией IGF-RI, TGF-beta-RI, p45 Ser- β -катенин и актинсвязывающими белками были проанализированы отдельно в группах больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия. При гиперплазии эндометрия выявлены множественные корреляционные

взаимосвязи между изученными белками. Выявлены положительные взаимосвязи между экспрессией p45 Ser- β -катенина и TGF β -RI ($r = 0,65$, $p < 0,05$), Arp3 ($r = 0,71$, $p < 0,05$), экспрессией гельзолина ($r = 0,81$, $p < 0,05$). Аналогичные положительные корреляционные взаимосвязи выявлены между экспрессией IGF-RI и TGF-beta-RI, p45 Ser- β -катенина и гельзолина.

В группе больных раком эндометрия выявлены статистически значимые корреляции между экспрессией p45 Ser- β -катенина и TGF β -RI ($R = 0,53$, $p < 0,05$), Arp3 ($r = 0,52$, $p < 0,05$) и IGF-RI ($r = 0,59$, $p < 0,05$).

Таким образом, выявлены множественные корреляционные взаимосвязи между экспрессией рецепторов ростовых факторов, p45 Ser- β -катенином и экспрессии основных актинсвязывающих белков как при гиперплазии, так и при раке эндометрия. Полученные данные позволяют предположить о существовании пересечений между многими сигнальными путями, вовлеченными в регуляцию клеточной миграции и инвазии, как при гиперпластических процессах, так и раке эндометрия.

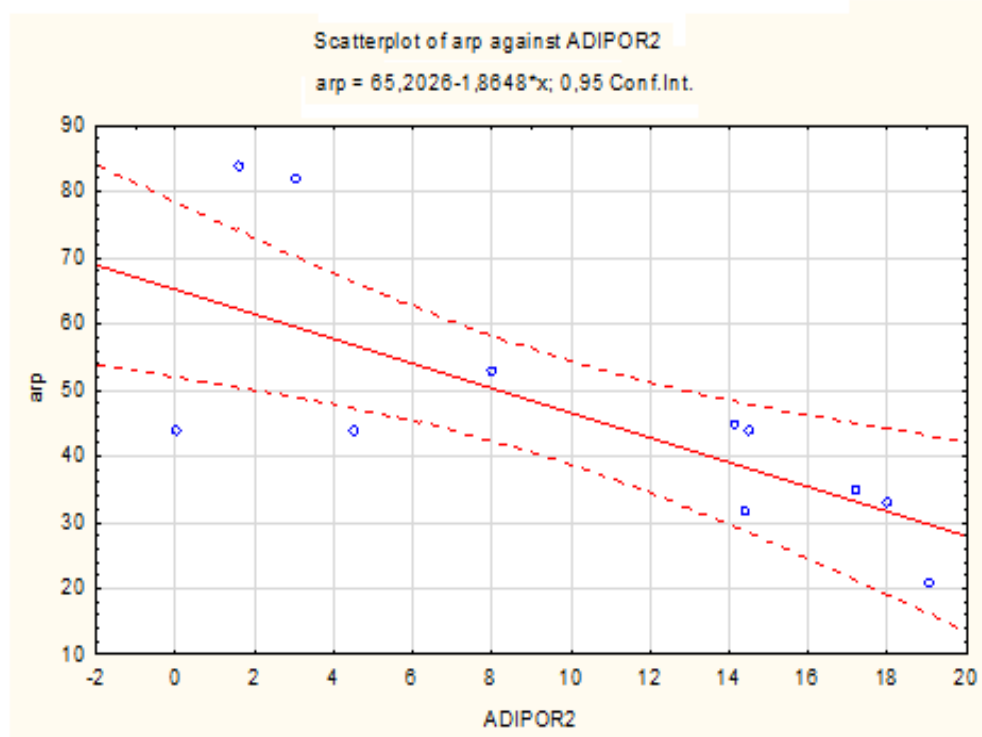
3.5. Взаимосвязи между экспрессией адипокинов сыворотки крови, рецепторами адипокинов и ассоциированными с клеточной подвижностью белками в ткани рака эндометрия

В группе больных раком эндометрия были проанализированы взаимосвязи между экспрессией адипокинов сыворотки крови, рецепторами адипокинов ассоциированными с клеточной подвижностью белками.

Статистически достоверные связи представлены в виде графиков рассеяния на рисунке 7.

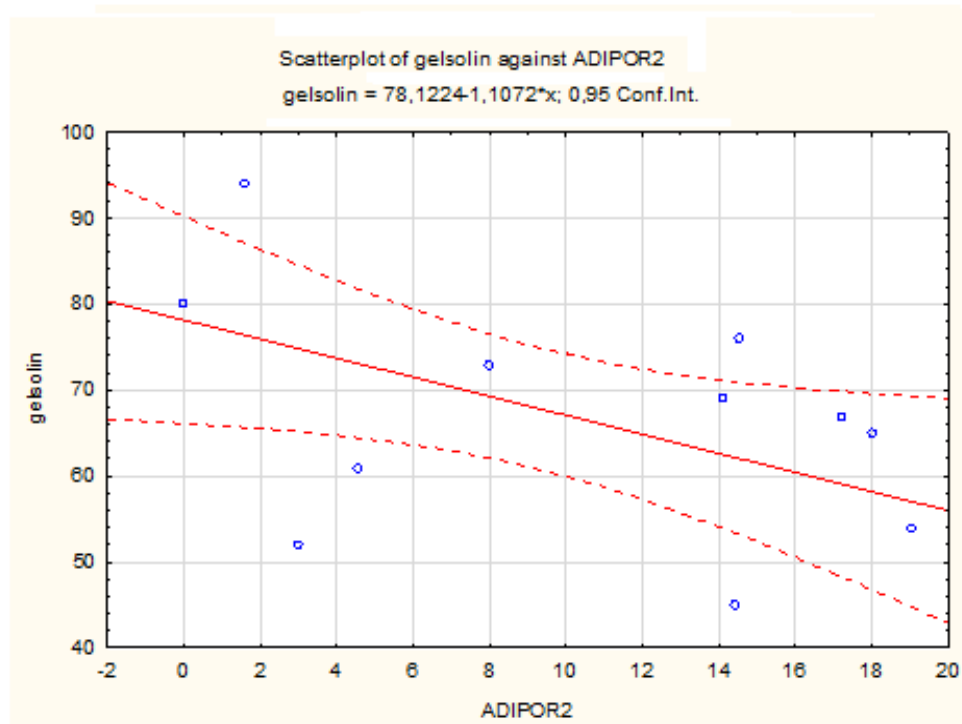
A

$$r = -0,707, p < 0,05$$



Б

$$r = -0,595, p < 0,05$$



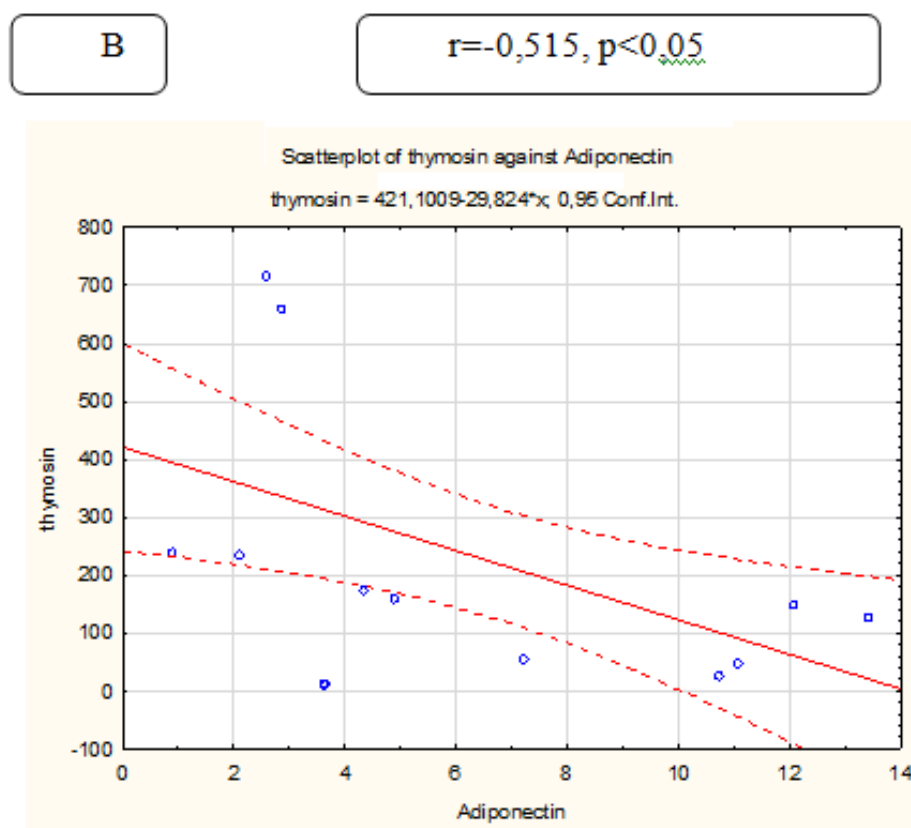


Рис.7 - Диаграммы рассеяния: А – зависимости экспрессии Arp3 от экспрессии AdipoR2, Б – зависимости экспрессии гельзолина от экспрессии AdipoR2, В – зависимости экспрессии тимозина β -4 от уровня адипонектина в сыворотке крови; сплошная линия – линия тренда, пунктирная линия – значения 95% доверительного интервала.

Полученные данные свидетельствуют, по-видимому, о возможной регуляции экспрессии Arp3, гельзолина и тимозина через адипонектин и его рецепторы.

3.6 Прогностическая значимость адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов в ткани рака у больных раком эндометрия

Изучена прогностическая значимость содержания адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов в ткани рака в отношении трехлетней общей и безрецидивной выживаемости в группе больных раком эндометрия с МС. В исследование были включены больные с первичным операбельным раком эндометрия I-II стадии. Все пациентки получили либо оперативное, либо комбинированное лечение. Средний срок наблюдения составил $34,3 \pm 2,2$ мес.

Основываясь на величине выборке, количестве исходов (рецидивов, летальных исходов) для решения поставленной задачи проведен однофакторный анализ уровня прогностической значимости уровня адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов.

Ранее в работе Асадчиковой О.Н. (2012) было показано, что из всех компонентов системы IGFs прогностической значимостью в отношении безрецидивной выживаемости обладал только уровень экспрессии металлопротеиназы PAPP-A в опухоли [5]. Кроме того, в настоящем исследовании показано, что у больных раком эндометрия адипокины и рецепторы адипокинов, по-видимому, не вовлечены в регуляцию экспрессии IGF-RI. Экспрессия данного вида рецептора ассоциировалась, главным образом, с экспрессией белков клеточной подвижности. Поэтому уровень экспрессии IGF-RI мы также не включили в анализ выживаемости.

Прогностическая значимость признаков в отношении общей и безрецидивной выживаемости оценивалась с использованием программы Survival Analysis, Statistica 10.0. Основываясь на характере распределения параметров, в качестве пороговых значений для уровня адипокинов и их рецепторов принимали медианные значения.

При проведении однофакторного анализа с целью определения прогностического значения адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов было установлено, что уровень лептина, адипонектина, AdipoR1 и AdipoR2 не являются значимыми прогностическим факторам. В тоже время уровень sOb-R сыворотки крови у больных раком эндометрия явился прогностически значимым в отношении безрецидивной выживаемости (рис. 8).

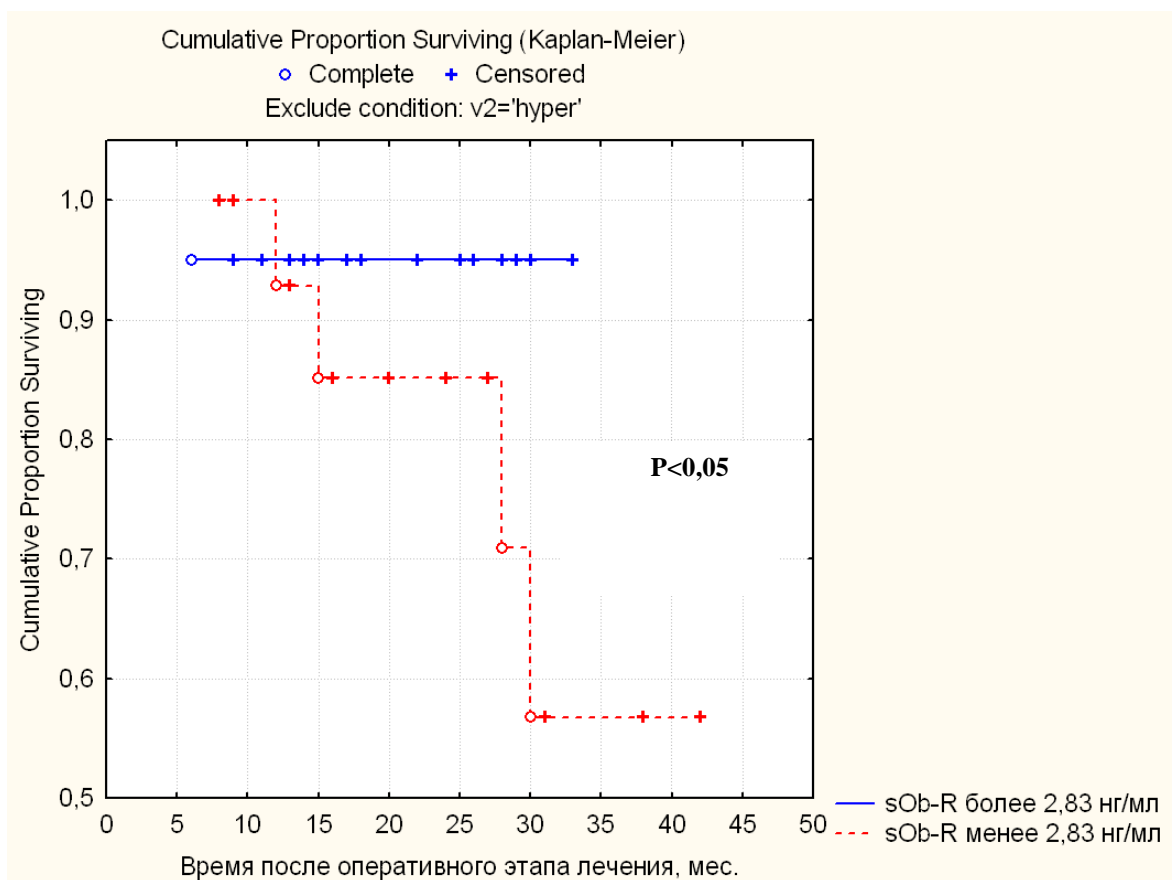


Рисунок 8 – Безрецидивная выживаемость больных раком эндометрия в зависимости от уровня sOb-R в сыворотке крови: сплошная линия – sOb-R более 2,83 нг/мл, пунктирная линия – sOb-R менее 2,83 нг/мл. По оси абсцисс – время наблюдения (мес), по оси ординат – кумулятивная выживаемость, рассчитанная по методу Каплана – Мейера. Значимость различий (p) в выживаемости между группами оценена по критерию Гехана – Вилкоксона.

Трехлетняя безрецидивная выживаемость больных раком эндометрия с уровнем sOb-R более 2,83 нг/мл составила $95,2 \pm 1,9\%$, а при $sOb-R \leq 2,83$ нг/мл – $58,0 \pm 1,7\%$ ($p < 0,05$).

Таким образом, в результате проведенного исследования получены данные о высокой частоте МС в выборке больных раком эндометрия – 61,6%. Показано, что уровень лептина сыворотки крови был выше у больных раком эндометрия с МС и глубокой инвазией опухоли в миометрий. При наличии цервикальной инвазии уровень лептина снижался. Уровень адипонектина, наоборот, был выше у больных без МС, его уровень также коррелировал с наличием цервикальной инвазии. Уровень растворимого рецептора лептина (sOb-R) был ниже у больных раком эндометрия с МС.

Уровень рецепторов адипонектина AdipoR1 и AdipoR2 не зависел от наличия у больных раком эндометрия МС, но зависел от глубины миометриальной инвазии. Уровень адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов коррелировал со степенью дифференцировки опухолей. Выявлен различный спектр корреляционных взаимосвязей экспрессии компонентов системы инсулиноподобных факторов роста, адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия в подгруппах с МС и без МС.

Уровень экспрессии IGF-RI и TGF β -RI у больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия был высок и достоверно не различался. Выявлено снижение уровня кофилина-1, тимозина β -4 и повышенная экспрессия Agr3 при гиперплазии эндометрия в сравнении с экспрессией данных белков в ткани рака эндометрия. При увеличении глубины миометриальной инвазии уровень экспрессии рецепторов ростовых факторов (IGF-RI и TGF β -RI) существенно увеличивался. Экспрессия кофилина-1 и тимозина β -4 также зависела от глубины миометриальной инвазии. Экспрессия TGF β -RI и тимозина β -4 варьировала в зависимости от наличия или отсутствия цервикальной инвазии. Содержание этих белков

была выше у больных раком эндометрия с цервикальной инвазией на 33 и 95%, соответственно.

У больных раком эндометрия выявлены отрицательные взаимосвязи между экспрессией рецептора адипонектина AdipoR2 и гельзолином ($r=-0,60$ $p<0,05$) и Arp3 ($r=-0,71$ $p<0,05$), а также между адипонектином и тимозином ($r=-0,52$ $p<0,05$), что позволяет предположить регуляцию экспрессии этих актинсвязывающих белков через адипонектин и его рецептор.

Уровень sOb-R сыворотки крови у больных раком эндометрия явился прогностически значимым показателем в отношении безрецидивной выживаемости. Таким образом, полученные результаты позволили прояснить некоторые аспекты патогенеза рака эндометрия на фоне МС и выявить новые молекулярные факторы прогноза.

ГЛАВА 4

ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рак эндометрия продолжает занимать лидирующие позиции в структуре заболеваемости и восьмое место в структуре смертности женского населения от злокачественных новообразований. Для дальнейшего прироста частоты встречаемости рака эндометрия имеет значение не только увеличение доли женщин в постменопаузе, но и накопление гормонально-метаболических нарушений [9].

Поэтому изучение отдельных аспектов патогенеза сочетания рака эндометрия и МС, выявление новых молекулярных факторов прогноза течения рака эндометрия представляются актуальными как с научной, так и с практической точки зрения. В связи с этим целью настоящего исследования было исследование уровня адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия в зависимости от наличия и выраженности МС, а также изучение экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков, вовлеченных в процесс опухолевой инвазии, во взаимосвязи с уровнем адипокинов и их рецепторов с поиском новых молекулярных факторов прогноза у больных раком эндометрия с МС.

Детальные молекулярные механизмы вовлеченности МС в процессы опухолевого роста и опухолевой прогрессии изучены недостаточно. Однако, имеются литературные данные, позволяющие полагать, что влияние МС на опухолевые клетки опосредуется через активацию экспрессии ростовых и транскрипционных факторов, что в комплексе обуславливает активацию множества сигнальных путей, ответственных за процессы пролиферации, апоптоза, неоангиогенеза, клеточную подвижность и адгезию, формирование инвазивного потенциала. При ассоциированных с МС злокачественных новообразованиях ведущую роль в регуляции экспрессии ростовых и

транскрипционных факторов отводят гормонам жировой ткани - лептину и адипонектину.

В настоящее время адипонектин охарактеризован не только как инсулинсенситизирующий, антидиабетический и анти-атеросклеротический агент, но и как белок с противовоспалительной, антиангиогенной, антипролиферативной активностью, активирующий ряд внутриклеточных каскадов, вовлеченных в индукцию апоптоза клетки, а также как даун-регулятор циклооксигеназы 2 [36, 37, 70]. В тоже время на клеточных линиях эндометриального и колоректального рака были получены сходные данные о лептин-индуцированной пролиферации, инвазии, избыточной клеточной подвижности с формированием ламелиподий и индуцировании апоптоза через множественные сигнальные пути, в том числе и через активацию PI3K/Akt/mTOR, важнейшего пути, активирующегося при связывании IGFs со своим рецептором [50, 51, 73, 74]. Получены данные также об ингибировании значительной части этих эффектов адипонектином. Полагают, что эти эффекты обусловлены активацией соответствующих рецепторов - AdipoR1, AdipoR2, Ob-Ra и Ob-Rb.

Однако оценка уровня самих адипокинов также представляется важной для понимания роли адипокинов и их рецепторов в патогенезе рака эндометрия на фоне МС.

Полученные нами данные свидетельствуют о высокой встречаемости и о значительной степени выраженности обменно-эндокринных нарушений у больных раком эндометрия, что соответствует данным литературы [5, 11, 19]. Показано, что уровень лептина сыворотки крови у больных раком эндометрия ассоциировался не только с наличием МС, но и с инвазией опухоли в миометрий и цервикальной инвазией. При наличии цервикальной инвазии уровень лептина снижался. Уровень адипонектина, наоборот, был выше у больных без МС, его уровень также коррелировал с наличием цервикальной инвазии.

Уровень рецепторов адипонектина AdipoR1 и AdipoR2 не зависел от наличия у больных раком эндометрия МС, но зависел от глубины инвазии опухоли в миометрий. Уровень растворимого рецептора лептина коррелировал с наличием МС.

Нами также получены данные о взаимосвязи экспрессии AdipoR1 и AdipoR2 со степенью дифференцировки опухоли. Так, минимальный уровень экспрессии обоих рецепторов выявлен в высокодифференцированных опухолях.

Данные о влиянии лептина, адипонектина и их рецепторов на процесс инвазии и связанные с инвазией процессы метастазирования злокачественных опухолей, а также данные о взаимосвязи со степенью дифференцировки рака эндометрия в целом, весьма ограничены. В основном такие данные получены на клеточных линиях, в том числе эндометриальных клеточных линиях.

Так, в исследовании японских ученых показано, что при иммуногистохимическом исследовании выраженная экспрессия AdipoR1 в ткани рака эндометрия у 77 больных ассоциировалась с I стадией, G1-дифференцировкой опухоли, поверхностной инвазией опухоли в миометрий или ее отсутствием, отсутствием лимфоваскулярной и цервикальной инвазии. В отношении AdipoR2 таких ассоциаций не обнаружено. Кроме того показано, что позитивная экспрессия по обоим видам рецепторов наблюдалась не во всех опухолях эндометрия, а только в 60% случаев [50, 112]. На нашем клиническом материале максимальная экспрессия AdipoR1 была выявлена у больных с I стадией, но с глубокой инвазией опухоли в миометрий, а связи с цервикальной инвазией получено не было. Минимальный уровень экспрессии AdipoR1 и AdipoR2 был выявлен в высокодифференцированных опухолях. Экспрессия AdipoR1 была выявлена во всех опухолях. AdipoR2 не экспрессировался только в 8,3% случаев.

Таким образом, выявлено некоторое несоответствие данных по экспрессии рецепторов адипонектина в опухолях эндометрия. Необходимо отметить, что достаточно часто имеются расхождения по оценке белковой экспрессии, выполненной различными методами (иммуногистохимия и ELISA), один из которых является полуколичественным методом, а другой - количественным.

Что касается данных по уровню растворимого рецептора лептина (sOb-R), то нет литературных сведений об уровне данного белка при раке эндометрия, однако экспрессия sOb-R активно изучается во взаимосвязи с оценкой риска развития рака молочной железы, колоректального рака, а так же во взаимосвязи с прогрессированием колоректального рака [64, 87].

Вообще же роль данного белка не ограничивается только как лептин-связывающего. Интенсивно изучается его функция, и например, показано, что в отличие от лептина и свободного индекса лептина данный белок не коррелирует с ИМТ и инсулинорезистентностью. У больных с ожирением, но не страдающим диабетом 2 типа только уровень sOb-R коррелировал с уровнем гликированного гемоглобина (HbA1), являющегося интегральным показателем состояния углеводного обмена [55, 77]. Таким образом, по-видимому, sOb-R коррелирует с определенными метаболическими параметрами, но для определенных категорий больных.

В монографии Бондарь Т. П. и Козинец Г. И. (2003) отмечается, что содержание HbA1 находится в прямой зависимости от уровня глюкозы в крови и является интегрированным показателем компенсации углеводного обмена на протяжении последних 60-90 дней. Скорость образования HbA1 определяется величиной гипергликемии, а нормализация его уровня в крови происходит через 4-6 нед после достижения эугликемии. Уровень HbA1 является адекватным показателем компенсации углеводного обмена у больных СД [11].

Однако, в настоящее время в связи с появлением высокочувствительных, хорошо стандартизированных и вместе с тем удобных методов определения HbA1 (ионообменная хроматография) спектр показаний для оценки уровня HbA1 расширился. HbA1c используется как маркер ранних нарушений углеводного обмена и индикатор эффективности патогенетической терапии и больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями с избыточной массой тела. Показано, что примерно у 40 % практически здоровых лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе, которая проявлялась транзиторной гипергликемией после приема пищи и увеличением содержания в крови HbA1c, в течение 5–10 лет развивалась ишемическая болезнь сердца, т.е. уровень HbA1c у больных с нарушением толерантности к глюкозе используется и как фактор прогноза развития сердечно-сосудистых заболеваний [16].

Поэтому исследование уровня HbA1 и ассоциированного с ним уровня sObR полезно не только у больных раком эндометрия и диагностированным СД II типа, но и у больных раком эндометрия с избыточной массой тела и ожирением, у части которых имелось и нарушение толерантности к глюкозе, т.е. фактически подавляющему большинству больных раком эндометрия..

При изучении ассоциированных с адипокинами и рецепторами адипокинов белками системы IGFs выявлено, что в подгруппах с МС и без метаболических нарушений при практически одинаковом уровне IGFs, уровень IGFBR-4 был существенно выше в подгруппе больных без МС. В настоящее время появились работы, в которых обсуждается IGFs-независимый антиангиогенный и противоопухолевый эффект IGFBR-4 [67].

Ранее в работе Чернышовой А.Л. (2009) было показано, что больные без МС имеют лучшие показатели пятилетней безрецидивной и общей выживаемости по сравнению с больными с МС. Возможно, что некоторое ограничение пролиферативных эффектов IGFs за счет высокого уровня IGFBR-

4 в ткани рака в комплексе с IGFs-независимым антиангиогенным и противоопухолевым эффектом IGFBP-4 может быть связанным с более высокими показателями выживаемости у данной группы больных [32].

Данные проведенного корреляционного анализа свидетельствуют о различном спектре корреляционных связей между экспрессией белков системы IGFs, уровнем адипокинов сыворотки крови и рецепторами адипокинов в подгруппах больных с МС и без МС. Основное различие между группами состояло в том, что в группе без МС не были выявлены корреляционные связи между уровнем лептина и его рецептором в сыворотке крови. Кроме того, был выявлен различный характер и сила связей.

В обеих подгруппах не было выявлено взаимосвязей адипокинов сыворотки крови, рецепторов адипокинов и IGFs и IGFBPs с рецептором инсулиноподобного фактора роста первого типа (IGF-RI). В то же время, например, у больных раком ободочной кишки выявленные корреляционные связи свидетельствуют о регуляции адипокинами сыворотки крови уровня IGF-RI [2]. Полученные результаты позволяют предположить новые механизмы вовлеченности белков системы IGFs в патогенез злокачественных новообразований, ассоциированных с МС посредством адипокинов через свои тканевые рецепторы.

Среди факторов, которые при раке эндометрия изучаются в качестве этиопатогенетических наиболее часто обсуждаются эстрогены, ростовые и транскрипционные факторы [14, 28, 31]. Однако, молекулярные механизмы прогрессирования данной патологии изучены недостаточно. В этом аспекте особое внимание заслуживают изучение механизмов инвазивного роста и рецидивирования, поскольку глубина инвазии опухоли в миометрий и наличие цервикальной инвазии являются важнейшими прогностическими факторами для больных раком эндометрия I-II стадии [48, 96, 98].

Известно, что процесс опухолевой инвазии достаточно сложен, включает несколько событий, наиболее значимыми из которых являются

разрыв или ослабление межклеточных контактов и увеличение клеточной подвижности. Эти изменения являются неотъемлемым компонентом опухолевой прогрессии [93, 98].

Ремоделирование актинового цитоскелета при участии актинсвязывающих белков с формирование ламелиподий является центральным событием, обеспечивающим клеточную локомоцию. Регуляция экспрессии актинсвязывающих белков осуществляется с вовлечением многих сигнальных молекул: через рецептор адгезии CD44, через IGF-RI, через рецептор эпидермального фактора роста второго типа, через рецепторы TGF- β [34, 62].

Piestrzeniewicz-Ulanska D. С соавт. (2004) показали повышенный уровень TGF β -RII в опухолях эндометрия по сравнению с нормальным эндометрием [101]. TGF- β , как известно, подавляет рост в нетрансформированных клетках, но способствует пролиферации и опухолевой прогрессии раковых клеток; это явление известно как TGF- β парадокс.

Роль TGF- β в патогенезе гиперпластических процессов и рака эндометрия известна недостаточно хорошо. Есть литературные данные о даун-регуляции основных компонентов TGF- β -опосредованного сигнального и о гиперэкспрессии антагонистов TGF- β - Smad7 при раке эндометрия, по сравнению с нетрансформированными тканями [49, 91]. По-видимому, высокие уровни TGF β -RI, что было получено в нашем исследовании, в опухоли и в гиперпластических эндометриях важны, чтобы выполнять различные функции.

В нашем исследовании выявлен высокий уровень кофилина-1 в опухолях эндометрия по сравнению с гиперпластическими тканями. Полученные результаты согласуются с данными, полученными J. Zhou с соавт. (2012), которые показали прогрессивное повышение экспрессии кофилина-1 в ряду

нормальная ткань яичника, доброкачественные опухоли, пограничные опухоли яичника, высокодифференцированные карциномы яичника [52].

В исследовании Gun B.D. и соавт. (2012) была выявлена высокая экспрессия фасцина в пролиферирующей эндометрии по сравнению с аденокарциномами эндометрия [42]. Atp3 и фасцин принимают участие в формировании пучков актиновых филаментов и ламеллиподий, необходимых для движения большинства типов клеток. Нами был выявлен высокий уровень белка Atp3 в образцах гиперплазии эндометрия по сравнению с тканями рака.

Известно что, нетрансформированные эпителиальные клетки могут быть подвижны в эпителиальном слое [83, 110]. По-видимому, снижение уровня кофилина-1, тимозина β -4 и повышение экспрессии Atp3 при гиперплазии эндометрия необходимо для формирования цитоскелета, что дает механическую поддержку клеток и усиливает клеточную подвижность в процессе пролиферации.

Хотя многие сигнальные пути вовлечены в регулирование миграции клеток и инвазию, TGF- β , как известно, является основным модулятором миграции опухолевых клеток и инвазии [99, 109]. Полученные данные, об экспрессии TGF β -RI в ассоциации с инвазией рака эндометрия соответствуют данным Lei X. et al. (2009), которые демонстрирует важную роль неповрежденного TGF- β сигнального пути формировании метастатического фенотипа рака эндометрия [102].

Хорошо известна роль TGF- β в ремоделировании актиновых филаментов через TGF β -RI благодаря его влиянию на активацию LIM-киназу-2 и фосфорилирование кофилина [109]. В нашем исследовании уровень кофилина был значительно выше у больных раком эндометрия с глубокой инвазией опухоли в миометрий по сравнению с пациентами с поверхностной

инвазией и без инвазии. Эти результаты свидетельствуют, что, по-видимому, кофилин-1 участвует в прогрессии рака эндометрия.

Сверхэкспрессия кофилина-1 способствует моторике опухолевых клеток глиобластомы и увеличивает инвазивный рост астроцитомы, что было показано ранее [95, 104]. Ранее также было установлено, что сверхэкспрессия кофилина-1 может выступать в качестве предиктора безрецидивной и безметастатической выживаемости у больных с серозным раком яичника, получавших стандартную терапию [93].

Содержание гельзолина, обладающими подобными функциями в клетке в тканях рака эндометрия, по нашим данным, не связано ни с какими вариантами инвазии рака. Роль гельзолина в опухолевом росте и прогрессии, вероятно, достаточно противоречива. Например, уровень гельзолина в ткани рака шейки матки был выше по сравнению с прилегающей нормальной неизменной тканью. С другой стороны, экспрессия гельзолина была снижена во многих раковых клеточных линиях и тканях рака человека [43, 47, 80]. M. Litwin et al. (2009) сообщили о низком уровне гельзолина в наиболее агрессивной, высокоинвазивной клеточной линии колоректального рака [58].

Мы также обнаружили, что высокие уровни G-актин-связывающего белка тимозина β -4 были связаны с увеличением инвазии опухоли в миометрий и наличием цервикальной инвазии. Многие солидные опухоли, в том числе колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого, как сообщалось, обладают сверхэкспрессией тимозина β -4, и эта гиперэкспрессия ассоциировалась с опухолевой прогрессией. Например, сверхэкспрессия тимозина β -4 была выявлена преимущественно в инвазивном фронте в тканях колоректального рака [81, 105].

В нашем исследовании связи между экспрессией Arp3 в опухолях эндометрия с опухолевой инвазией не было выявлено. В карциномах

желудка, уровни экспрессии Arp2 и Arp3 коррелировали с размером опухоли, стадией, глубиной инвазии и наличием сосудистой эмболии [84]. В соответствии с полученными ранее на примере серозного низкодифференцированного рака яичников, экспрессия Arp3 ассоциировалась не только с интраперитонеальным метастазированием, но со стадией заболевания [29].

Роль актинветвящих белков (Arp3, Arp2) и белков, участвующих в стабильности параллельных пучков (фасцин) при опухолевой инвазии также противоречива. Экспрессия фасцина в аденокарциномах эндометрия коррелировала с нейрональной инвазией, но не с инвазией опухоли в миометрий или лимфоваскулярной инвазией [42].

Поскольку многие сигнальные пути вовлечены в регуляцию миграции клеток и инвазию, мы изучали вместе с экспрессией рецепторов ростовых факторов также уровень экспрессии p45 Ser β -катенина в тканях рака эндометрия. Аномальная экспрессия β -катенина (накопление фосфо-катенина в цитоплазме и ядрах) была найдена в атипичной гиперплазии и интраэпителиальной неоплазии эндометрия по данным Xiong Y. et al. [111]. Наше исследование выявило высокий уровень экспрессии p45 Ser β -катенина как в простой, так и в атипичной гиперплазии эндометрия, а так же при раке эндометрия, кроме того, не было выявлено взаимосвязей между экспрессией p45 Ser β -катенина и опухолевой инвазией.

Данные проведенного корреляционного анализа свидетельствуют о тесной взаимосвязи между экспрессией рецепторов ростовых факторов, p45 Ser- β -катенином и экспрессии основных актинсвязывающих белков как при гиперплазии, так и при раке эндометрия. Полученные данные позволяют предположить о вовлеченность многих сигнальных путей в регуляцию клеточной миграции и инвазии, как при гиперпластических процессах, так и раке эндометрия.

Данные корреляционного анализа выявили, что при раке эндометрия уровень экспрессии актинсвязывающих белков Arp3, гельзолина и тимозина ассоциировался с экспрессией AdipoR2 и уровнем адипонектина в сыворотке крови. Полученные данные свидетельствуют о возможной регуляции экспрессии актинсвязывающих белков, вовлеченных в процесс опухолевой инвазии, через адипонектин и его рецептор. Полученные нами на клиническом материале результаты хорошо коррелируют с экспериментальными данными, полученными на клеточных линиях рака эндометрия и колоректального рака о лептин-индуцированной пролиферации, инвазии, избыточной клеточной подвижности с формированием ламелиподий через множественные сигнальные пути и о значительном ингибировании этих эффектов адипонектином [33, 50, 51, 73, 74].

Полученные данные могут являться одним из механизмов влияния МС на процесс опухолевой инвазии.

Необходимость поиска среди параметров, ассоциированных с гормонально-метаболическими нарушениями, новых молекулярных факторов прогноза рака эндометрия обусловлена полученными доказательствами тесной вовлеченности этих белков (адипокинов и их рецепторов) в патогенез рака данной локализации, особенно у больных на фоне МС.

В настоящей работе не изучалась прогностическая значимость компонентов системы IGFs, поскольку ранее было показано, что из всех компонентов системы IGFs прогностической значимостью в отношении безрецидивной выживаемости обладал только уровень экспрессии металлопротеиназы PAPP-A в опухоли [5]. Кроме того, в настоящем исследовании показано, что у больных раком эндометрия адипокины и рецепторы адипокинов, по-видимому, не вовлечены в регуляцию экспрессии IGF-RI. Экспрессия данного вида рецептора ассоциировалась, главным

образом, с белками клеточной подвижности. По данным Peiro G. Et al. (2003), при выполнении однофакторного анализа выживаемости выявлена потенциальная прогностическая значимость уровня экспрессии IGF-RI для эндометриоидных карцином (уровень экспрессии менее 10% ассоциировался с высокой общей выживаемостью), но при проведении многофакторного анализа уровень экспрессии IGF-RI не был значимым [65]. Поэтому уровень экспрессии IGF-RI мы также не включили в анализ выживаемости.

В результате проведения однофакторного анализа выживаемости выявлено, что сывороточный лептин, адипонектин, уровень опухолевой экспрессии AdipoR1 и AdipoR2 не относятся к статистически значимым прогностическим факторам. Хотя по данным Yabushita H. et al. (2014) при однофакторном анализе AdipoR1 явился значимым прогностическим фактором, и его слабая экспрессия ассоциировалась с плохим прогнозом [112]. Но здесь хочется подчеркнуть, что это - практически единственное исследование, где анализировалась прогностическая значимость рецепторов адипонектина при раке эндометрия, кроме того, различались методические подходы в японском и собственном исследовании.

Уровень sOb-R сыворотки крови у больных раком эндометрия явился прогностически значимым показателем в отношении безрецидивной выживаемости. Трехлетняя безрецидивная выживаемость больных раком эндометрия с МС с уровнем sOb-R более 2,83 нг/мл составила $95,2 \pm 1,9\%$, а при $sOb-R \leq 2,83$ нг/мл – $58,0 \pm 1,7\%$ ($p < 0,05$).

В литературе отсутствуют данные о прогностическом значении sObR при раке эндометрия. Но следует отметить, что получены данные о связи уровня sObR с прогрессированием колоректального рака в подгруппах с ожирением и без ожирения [87]. Колоректальный рак также как и рак эндометрия относится к ассоциированным с МС злокачественным новообразованиям. Поэтому полученные нами данные, по-видимому,

достаточной перспективны в плане изучения молекулярных факторов прогноза рака эндометрия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Учитывая существенную распространенность метаболического синдрома (МС) в общей популяции, среди женщин в постменопаузе, а также продолжающийся прирост показателей заболеваемости раком эндометрия как в Российской Федерации, так и в мире в целом, изучение отдельных аспектов патогенеза сочетания рака эндометрия и МС, выявление новых молекулярных факторов прогноза течения рака эндометрия представляются актуальными как с научной, так и с практической точки зрения.

В связи с этим, целью настоящего исследования было исследование уровня адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия в зависимости от наличия и выраженности МС, а также изучение экспрессии ассоциированных с клеточной подвижностью белков, вовлеченных в процесс опухолевой инвазии, во взаимосвязи с уровнем адипокинов и их рецепторов с поиском новых молекулярных факторов прогноза у больных раком эндометрия. При этом решались следующие задачи:

- изучить спектр клинико-морфологических особенностей и обменно-метаболических нарушений у больных раком эндометрия на фоне МС и без МС.

- изучить уровень адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи с глубиной инвазии опухоли, степенью дифференцировки и наличием МС.

- оценить уровень экспрессии белков системы инсулиноподобных факторов роста у больных раком эндометрия с МС и без метаболических нарушений во взаимосвязи с уровнем адипокинов и их рецепторами.

- определить экспрессию ассоциированных с клеточной подвижностью белков при гиперплазии при раке эндометрия и выявить взаимосвязи экспрессии этих белков с опухолевой инвазией.

- для выяснения возможных механизмов слияния МС на опухолевую инвазию проанализировать возможные корреляционные взаимосвязи между экспрессией адипокинов, их рецепторов и экспрессией ассоциированных с клеточной подвижностью белков в ткани рака эндометрия.

- выявить взаимосвязи уровня адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов с экспрессией ассоциированных с клеточной подвижностью белков при раке эндометрия.

- оценить прогностическую значимость адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов в опухолевой ткани у больных раком эндометрия.

В результате проведенного исследования получены данные о высокой частоте МС у больных раком эндометрия (61,7%). Выявлено, что уровень лептина сыворотки крови был выше у больных раком эндометрия с МС и глубокой инвазией опухоли в миометрий. При наличии цервикальной инвазии уровень лептина снижался. Уровень адипонектина, наоборот, был выше у больных без МС, его уровень также коррелировал с наличием цервикальной инвазии.

Уровень рецепторов адипонектина AdipoR1 и AdipoR2 не зависел от наличия у больных раком эндометрия МС, но был связан с глубиной миометриальной инвазии. Уровень адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов коррелировал со степенью дифференцировки опухолей.

Выявлен различный спектр корреляционных взаимосвязей экспрессии компонентов системы инсулиноподобных факторов роста, адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия в подгруппах с МС и без МС.

При высоком уровне экспрессии IGF-RI и TGF-beta-RI у больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия выявлено снижение уровня кофилина-1, тимозина β -4 и повышенная экспрессия Arp3 при гиперплазии эндометрия в сравнении с экспрессией данных белков в ткани рака эндометрия. При увеличении глубины инвазии опухоли в миометрий уровень экспрессии данных рецепторов ростовых факторов существенно увеличивался. Экспрессия кофилина-1 и тимозина β -4 зависела от глубины инвазии опухоли в миометрий. Экспрессия TGF-beta-RI и тимозина β -4 варьировала в зависимости от наличия или отсутствия цервикальной инвазии.

Данные корреляционного анализа свидетельствуют о тесной взаимосвязи между экспрессией рецепторов ростовых факторов, p45 Ser- β -катенином и экспрессии основных актинсвязывающих белков как при гиперплазии, так и при раке эндометрия. Полученные данные позволяют предположить о вовлеченность многих сигнальных путей в регуляцию клеточной миграции и инвазии, как при гиперпластических процессах, так и раке эндометрия.

Выявленные отрицательные взаимосвязи между экспрессией AdipoR2 и гельзолином и Arp3, а также между адипонектином и тимозином β -4 позволяют предположить регуляцию экспрессии этих актинсвязывающих белков через гормон жировой ткани адипонектин и его рецептор в тканях рака эндометрия.

Исследование позволило выявить новый молекулярный фактор прогноза рака эндометрия. Уровень sOb-R сыворотки крови у больных раком эндометрия с МС явился прогностически значимым показателем в отношении безрецидивной выживаемости. Трехлетняя безрецидивная выживаемость у больных раком эндометрия с уровнем sOb-R более 2,83 нг/мл составила $95,2 \pm 1,9\%$, а при $sOb-R \leq 2,83$ нг/мл – $58,0 \pm 1,7\%$ ($p < 0,05$).

ВЫВОДЫ:

1. Выявлена высокая частота МС у больных раком эндометрия (61,7%). Выявлено, что уровень лептина сыворотки крови был выше у больных раком эндометрия с МС и глубокой инвазией опухоли в миометрий. При наличии цервикальной инвазии уровень лептина снижался. Уровень адипонектина, наоборот, был выше у больных без МС, его уровень также коррелировал с наличием цервикальной инвазии. Уровень растворимого рецептора лептина (sOb-R) у больных с МС составил 2,64 (2,15-3,01) нг/мл, без МС – 3,80 (2,83-4,85) нг/мл, $p < 0,05$.
2. Уровень рецепторов адипонектина AdipoR1 и AdipoR2 не зависел от наличия у больных раком эндометрия МС. Уровень AdipoR1 был связан с глубиной инвазии опухоли в миометрий: уровень экспрессии AdipoR1 в опухолевой ткани при поверхностной инвазии или ее отсутствии составил 44,99 (31,1-59,0) нг/мг белка, при глубокой инвазии - 88,3 (64,3-102) нг/мг белка, $p < 0,05$. Уровень адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов коррелировал со степенью дифференцировки опухолей. Минимальный уровень рецепторов AdipoR1 и AdipoR2 выявлен в высокодифференцированных опухолях.
3. Выявлен различный спектр корреляционных взаимосвязей между уровнем адипокинов сыворотки крови, экспрессией рецепторов адипокинов и белков системы инсулиноподобных факторов роста в опухолевой ткани у больных раком эндометрия в подгруппах с МС и без МС.
4. Выявлено снижение уровня актинсвязывающих белков кофилина-1, тимозина β -4 и повышение экспрессии Atp3 при гиперплазии эндометрия в сравнении с их экспрессией в ткани рака эндометрия. Уровень экспрессии IGF-RI, TGF β -RI, кофилина-1 и тимозина β -4

ассоциировался с глубиной инвазии опухоли в миометрий и наличием цервикальной инвазии.

5. У больных раком эндометрия выявлены отрицательные взаимосвязи между экспрессией *Arp3* и рецептора адипонектина *AdipoR2* ($r=-0,71$ $p<0,05$), между экспрессией гельзолина и рецептора адипонектина *AdipoR2* ($r=-0,60$ $p<0,05$), а также между экспрессией тимозин β -4 и сывороточным адипонектином ($r=-0,52$ $p<0,05$), что позволяет предположить регуляцию экспрессии этих актинсвязывающих белков через гормон жировой ткани адипонектин и его рецептор.
6. Уровень растворимого рецептора *sOb-R* сыворотки крови у больных раком эндометрия с МС явился прогностически значимым показателем в отношении безрецидивной выживаемости. Трехлетняя безрецидивная выживаемость у больных раком эндометрия с уровнем *sOb-R* более 2,83 нг/мл составила $95,2\pm 1,9\%$, а при $sOb-R \leq 2,83$ нг/мл – $58,0\pm 1,7\%$ ($p<0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У больных раком эндометрия с МС наряду с традиционными клинико-морфологическими факторами определение уровня sObR в сыворотке крови необходимо учитывать при прогнозировании безрецидивной выживаемости.

2. Фактором высокого риска рецидива у больных раком эндометрия с МС в течение 3 лет является уровень sOb-R менее или равный 2,83 нг/мл.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян, Н.А. Болезни цивилизации / Н.А. Агаджанян, А.Я. Чижов, Т.А. Ким // Экология человека. – 2003. – №4. – С.8–11.
2. Адипокины сыворотки крови и рецепторы адипокинов у больных раком ободочной кишки на фоне метаболического синдрома / Юнусова Н.В., Кондакова И.В., Афанасьев С.Г. и др. // Сибирский онкологический журнал.- 2014.-N5.-С.24-28.
3. Анцифиров, М.Б. Ожирение. Метаболический синдром. Сахарный диабет 2 типа / М.Б. Анцифиров; под ред. акад. РАМН И.И. Дедова.– М., 2000. – С.53–61.
4. Артымук, Н.В., Шакирова, Е.А. Особенности гиперпластических процессов эндометрия и гормональный статус у пациенток с гипоталамическим синдромом / Н.В. Артымук, Е.А. Шакирова // Медицина в Кузбассе.-2004.-N11.-С. 5-7.
5. Асадчикова, О.Н. Рак эндометрия у больных с метаболическим синдромом: особенности системы инсулиноподобных факторов роста: автореф. дис.... канд. мед. наук. / О.Н. Асадчикова.- Томск, 2013.-23с.
6. Беляков, Н.А. Ожирение. / Н.А. Беляков - СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2003.- 311с.
7. Берштейн, Л.М. Гормональный канцерогенез / Л.М. Берштейн.– СПб. : Наука, 2000. – 199с.
8. Берштейн, Л.М. Сравнительные особенности гормонально-метаболического статуса у больных с рецепторнегативными новообразованиями молочной железы и эндометрия / Л.М. Берштейн // Вопросы онкологии. – 2003. – Т.49, № 5. – С.716–724.
9. Берштейн, Л.М. Онкоэндокринология. Традиции, современность и перспективы / Л.М. Берштейн.– СПб. : Наука, 2004. – 343с.

10. Берштейн, Л.М. Гиполипидемические и антидиабетические препараты как средство предупреждения и терапии злокачественных опухолей: клинические данные [электронный ресурс] /Л.М. Берштейн // Режим доступа к журн.:<http://www.rosoncweb.ru/congress/ru>
11. Бондарь, Т.П. Лабораторно-клиническая диагностика сахарного диабета и его осложнений / Т.П. Бондарь, Г.И. Козинец. – Москва: Медицинское информационное агенство, 2003.- 87с.
12. Бохман, Я. В. Руководство по онкогинекологии / Я.В. Бохман.- СПб.: «ООО Изд-во Фолиант», 2002.-542с.
13. Бочкарева, Н.В. Нужна ли метаболическая реабилитация больным с гиперпластическими процессами и раком эндометрия на фоне метаболического синдрома? / Н.В. Бочкарева, Л.А. Коломиец, А.Л. Чернышова // Сибирский онкологический журнал.-2010.-N5.-С.71-77.
14. Бочкарева, Н.В. Инсулиноподобные факторы роста и связывающие их белки в патогенезе рака эндометрия / Н.В. Бочкарева, И.В. Кондакова, Л.А. Коломиец // Сибирский онкологический журнал. – 2008. – № 3. – С. 86–93.
15. Васильев, Д.А. Сахарный диабет, нарушение толерантности к глюкозе и злокачественные образования: степень риска и меры воздействия / Д.А. Васильев, Н.В. Семенова, Л.М. Берштейн // Российский онкологический журнал. – 2008. – № 3. – С.49–54.
16. Гликозилированный гемоглобин HbA1c как маркер ранних нарушений углеводного обмена и индикатор эффективности патогенетической терапии у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями с избыточной массой тела / Н.А. Николаев, Л.П. Фирстова, Н.П. Елисеева и др. // Фундаментальные исследования.-2007.-N12-2 [электронный ресурс] //Режим доступа к журн.:<http://cyberlinka.ru>

17. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. - М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России., 2012.- 260 с.
18. Квачевская, Ю.О. Особенности рака эндометрия при синдроме инсулинорезистентности: автореф. дис.....канд. мед. наук / Ю.О. Квачевская – Санкт-Петербург, 2000.-23с.
19. Коломиец, Л.А. Рак эндометрия и метаболический синдром / Л.А. Коломиец, Н.В. Бочкарева, А. Л. Чернышова - Томск: Изд-во Иван Федоров. 2010.-228с.
20. Копнин, Б.П. Компоненты сигнальных путей TGF β -Smad // Канцерогенез / под ред. Д. Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – Гл. 3. – С. 147-148.
21. Кузнецов, В.В. Хирургическое лечение рака тела матки / В.В. Кузнецов, В.М. Нечушкина // Практическая онкология. – 2004. – Т 5, № 1. – С.25–32.
22. Кузнецова, И.В. Гиперпластические процессы эндометрия / И.В. Кузнецова. - Москва, 2009.-48с.
23. Максимов, С.Я. Первично-множественные опухоли органов репродуктивной системы // Практическая онкология.-2009.-Т.10, N2.- С.117-123.
24. Новикова, Е.Г. Органосохраняющее лечение в онкогинекологии /под ред. Е.Г. Новиковой.- М.: Видарм, 2000.-108с.
25. Новикова, Е.Г. Лечение атипичской гиперплазии эндометрия / Е.Г. Новикова, О.В. Чулкова, С.М. Пронин // Практическая онкология.- 2004.-Т.5(1).-С.52-59.
26. Панков, Ю. А. Революционные перемены в эндокринологии /Ю.А. Панков // Проблемы эндокринологии.-2005.-Т.51(6).-С.3-8.

27. Порывкина О.Н. Метаболический синдром: терапевтические возможности и перспективы [электронный ресурс] / О.Н. Порывкина // *Consilium medicum*.-2007.-т.9, №6.
28. Регуляция инсулиноподобных факторов роста и NF-κB протеасомной системой при раке эндометрия. / Спирина Л.В., Бочкарева Н.В., Кондакова И.В. и др. // *Молекуляр. биология*.- 2012.- Т.46(3).-С. 453-460.
29. Связь активности внутриклеточных протеиназ с содержанием локомоторных белков в тканях первичных опухолей и метастазах при раке яичников / Кондакова И.В., Юнусова Н.В., Спирина Л.В. и др. // *Биоорганическая химия*. -2014.-Т.20 (№6).-С.735-742.
30. Состояние онкологической помощи населению России в 2012 году / Под ред А.Д.Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой - М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России., 2013.- 232 с.
31. Ферменты метаболизма эстрогенов при раке эндометрия / Н. В. Бочкарева, Л. А. Коломиец, И. В. Кондакова и др. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. - 2006. - № 2. - С. 202-204.
32. Чернышова, А.Л. Прогноз и особенности клинического течения рака эндометрия на фоне метаболического синдрома: автореф. дис.....д-ра. мед. наук / А. Л. Чернышова – Томск, 2009.-43с.
33. Acrp30 inhibits leptin-induced metastasis by downregulating the JAK/STAT3 pathway via AMPK activation in aggressive SPEC-2 endometrial cancer cells / X. Wu, Q. Yan, Z. Zhang Z.et al. // *Oncol. Rep.*-2012.-Vol. 27(5).-P.1488-1496.
34. Actin binding proteins: regulation of cytoskeletal microfilaments / C.G. Dos Remedios, D. Chahabra, M. Kekic et al. // *Physiol Rev.*-2003.-Vol.83.- P.:433-473.

35. Actin-sequestering protein, thymosin-beta-4, inhibits caspase-3 activation in paclitaxel-induced tumor cell death / E. Y. Moon, J. H. Song, K.H. Yang // *Oncol Res.*-2007.-Vol. 16.-P.507-516.
36. Adiponectin receptor expression is elevated in colorectal carcinomas but not in gastrointestinal stromal tumors / C. Williams, M. Nicholas, E. Sozopoulos et al. // *Endocr. Relat. Cancer.*-2008.-Vol. 15(1).-P.289-299.
37. Adiponectin represses colon cancer cell proliferation via AdipoR1- and R2-mediated AMPK activation / A. Y. Kim, Y. S. Lee, K. H. Kim et al. // *Mol. Endocrinol.*-2010.-Vol.24 (7).-P.1441-1452.
38. Afify, A. M. Decreased expression of the actin-binding protein gelsolin in endometrial and ovarian adenocarcinomas / A. M. Afify, B. A. Werness, A. Bruce // *Applied Immunohistochemistry.* -1998.-Vol. 6(1):30–34.
39. Anderson, B. Obesity and prognosis in endometrial cancer / Anderson B., Connor J.P., Andrews J.I. // *Am. J. of Obstet. and Gynecol.*-1996.-Vol.174 (4).-P.1171-1179.
40. Bilbao, C. The relationship between microsatellite instability and PTEN gene mutations in endometrial cancer / C. Bilbao, G. Rodriguez, R. Ramirez R. // *Int. J. of Cancer.*-2006.-Vol.119(3).-P.563-570.
41. Cavalieri, E.L. Initiation of cancer and other diseases by catechol orthoquinones: a unifying mechanism / E.L. Cavalieri, E.C.Rogan, D. Chakravarti // *Cell. Mol. Life Sci.*- 2002. -Vol.59. -P. 665-681.
42. Clinicopathological significance of fascin and CD44v6 expression in endometrioid carcinomas / B.D. Gun, B. Bahadir, S. Bektas et al. // *Diagn. Pathol.* – 2012.-7: 80 doi:10.1186/1746-1596-7-80.
43. Concurrent down-regulation of egr-1 and gelsolin in the majority of human breast cancer cells / J. Liu, Y. G. Liu, R. Huang et al. // *Cancer Genomics and Proteomics.*-2007.-Vol. 4.-P. 377-385.
44. Cortactin is involved in transforming growth factor-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition in AML-12 cells / K. Zhang, D. Wang, J. Song et

- al. // *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*.-2009.-Vol. 41(10).-P.839-845.
45. Direct role of adiponectin and adiponectin receptors in endometrial cancer: in vitro and ex vivo studies in humans / H. S. Moon, J.P. Shamberland, K. Aronis K. et al. // *Mol. Cancer Ther.*-2011.-Vol.10 (12).-P.2234-2243.
46. Down-regulation of Sox7 is associated with aberrant activation of Wnt/b-catenin signaling in endometrial cancer / D.W. Chan, C.S. Mak, T.H. Leung et al. // *Oncotarget.*-2012.-Vol. 3(12).-P.1546-1556.
47. Downregulation of gelsolin and retinoic acid receptor beta expression in gastric cancer tissues through histone deacetylase / J.H. Kim, Y.K. Choi, H. J. Kwon, et al. // *J Gastroenterol Hepatol.* -2004.-19:218–224.
48. Evaluation of tumor-free distance and depth of myometrial invasion as prognostic factors for lymph node metastases in endometrial cancer / S. Kondalsamy-Chennakesavan, S. van Vugt, K. Sanday et al. // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2010.-Vol. 20.-P.1217-1221.
49. Expression and clinical significance of the transforming growth factor- β signaling pathway in endometrial cancer / P. Mhawech-Fauceglia, J. Kesterson, D. Wang et al. // *Histopathology.* -2011.-Vol. 59(1).-P.63-72.
50. Expression levels of adiponectin receptors are decreased in human endometrial adenocarcinoma tissues / N. Yamauchi, Y. Takazawa, D. Maeda et al. // *Int. J. Gynecol. Pathol.*-2012.-Vol.31(4). –P. 352-357.
51. Expression of adiponectin receptors, AdipoR1 and AdipoR2, in normal colon epithelium and colon cancer tissue / K. Yoneda, A. Tomimoto, H. Endo et al. // *Oncol. Rep.* -2008.-Vol.20 (3).-P.479-483.
52. Expression of cofilin-1 is positively correlated with the differentiation of human epithelial ovarian cancer / J. Zho, Y. Wang Y., J. Fei et al. // *Oncology Letters.*- 2012.-Vol. 4.-P.1187-1190.
53. Expression of leptin, leptin receptor, and hypoxia-inducible factor 1 alpha in human endometrial cancer / M. Koda, M. Sulkowska, A. Wincewicz A. et al. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.*-2007.-Vol. 1095.-P. 90-98.

54. Firth, S.M. Cellular action of the insuline-like growth factor binding proteins / S. M. Firth, R. C. Baxter // *Endocrine reviews*.-2002.-Vol.23(6).-P.824-854.
55. Free leptin index as a marker for leptin action in diabetes and obesity; leptin and soluble leptin receptors relationship with HbA1c / M. Owecki, E. Nikisch, A. Miczke et al. // *Neuro Endocrinol. Letter*.-2010.-Vol.31(5).-P.679-683.
56. Gadducci, A. Treatment planning in endometrial cancer / A. Gadducci, S. Cosio, A.R. Genazzani // *Cancer. Therapy*. – 2003. – Vol.1. – P.373–392.
57. Gatalano, S. Leptin enhances, via AP-1, expression of aromatase in the MCF-7 cell line / S. Gatalano // *J. Biol. Chem*. – 2003. – Vol. 278(31). – P. 28668–28676.
58. Gelsolin in human colon adenocarcinoma cells with different metastatic potential / M. Litwin, A. J. Mazur, D. Nowak, et al. // *Acta Biochimica Polonica*.-2009.-Vol. 56:739-743.
59. Gusberg, S. B. Estrogen and endometrial cancer: an epilogue a la recherche du temps perdu / S.B. Gusberg // *Gynecol. Oncol*. – 1994. – Vol.52. – P.3–9.
60. Hale, G.E. Endometrial cancer: hormonal factors, the perimenopausal «window of risk», and isoflavones / G.E. Hale, C.L. Hughes, J.M. Cline // *J.Clin. Endocrinol. Metabol*. – 2002. – Vol.87. – P. 3–15.
61. Husting, S.D. Obesity, metabolic dysregulation, and cancer: a growing concern and an inflammatory (and microenvironmental) issue / S. D. Husting, S.M. Dunlap // *Ann. N. Y. Acad. Sci*. – 2012. – Vol. 1271. – P. 82–87.
62. Hyaluronan-CD44 interaction with neural Wiskott-Aldrich syndrome protein (N-WASP) promotes actin polymerization and ErbB2 activation leading to

- beta-catenin nuclear translocation, transcriptional up-regulation, and cell migration in ovarian tumor cells / L. Bourguignon, K. Peyrollier, E. Gilad et al. // *J. Biol. Chem* - 2007.-Vol.282.-P.1265-1280.
63. Hypoxia-inducible factor-1 as a therapeutic target in endometrial cancer management / L. M. Seeber, R. P. Zweemer, R.H. Verheijen et al.// *Obstet. Gynecol. Int.* - 2010. - Vol. 2010. - P. 580971-580979.
64. Increased soluble leptin receptor levels are associated with advanced tumor stage in colorectal cancer patients / V. Tutino, M. Notarnicola, V. Guerra et al. // *Anticancer Res.*-2011.-Vol.31(10).-P. 3381-3383.
65. Insulin-like growth factor-I receptor and PTEN protein expression in endometrial carcinoma. Correlation with bax and bcl-2 expression, microsatellite instability status, and outcome / G. Peiro, P. Lohse, D. Mayr et al. // *Am.J.Clin.Pathol.*-2003.-Vol.120 (1).- P.78-85.
66. Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-3) acts as an invasion-metastasis suppressor in ovarian endometrioid carcinoma / P.-L. Torng, C. Lee, J.-H. Ye et al. // *Oncogene.*-2008.-Vol.27.-P.2137-2147.
67. Insulin-like growth factor binding protein-4 is a novel anti-angiogenic and anti-tumorigenic mediator secreted by dB-cAMP-differentiated glioblastoma cells / M.J. Moreno, M. Ball, M.F. Andrade et al. // *Glia.* 2006. V. 53. P. 845-857.
68. Insulin resistance, its consequences for the clinical course of the disease, and possibilities of correction in endometrial cancer / L.M. Berstein, J.O. Kvatshevskaya, T.E. Poroshina et al. // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*-2004.-Vol.130 (11).-P.687-693.
69. Insulin signaling and action in fat cells: associations with insulin resistance and type 2 diabetes / U. Smith, M. Axelsen, E. Carvalho et al. // *Ann. N.-Y. Acad. Sci.*-1999.- Vol. 892.-R119-126.
70. Involvement of adiponectin in early stage of colorectal carcinogenesis / C.H. Tae, S-E Kim, S-A Jung et al. // *BMC Cancer.*-2014.-Vol. 14.-P.811.

71. Lacey, J.V. PTEN Expression in endometrial biopsies as a marker of progression to endometrial carcinoma / J.V. Lacey, J. George, L. Mutter // *Cancer Res.* -2008.-Vol.68(14).-P.6014-6020.
72. Lapinska-Szumzyk, S. Obesity, hypertension and diabetes mellitus in patients with endometrial cancer / S. Lapinska-Szumzyk., J. Emerich // *Ginecol. Pol.* -2003.-74(4).-P.274-281.
73. Leptin induced functional activation of cyclooxygenase-2 through JAK2/STAT3, MAPK/ERK, and PI3K/AKT pathways in human endometrial cancer cells / J. Gao, J. Tian, Y. Lu et al. // *Cancer Sci.*-2009.-Vol. 100(3).- P. 389-395.
74. Leptin promotes the proliferative response and invasiveness in human endometrial cancer cells by activating multiple signal-transduction pathways / D. Sharma, N.K. Saxena, P. M. Vertino et al. // *Endocr. Relat. Cancer.*-2006.-Vol.13(2).-P.629-640 ..
75. Leptin receptors / E. Gorska, K. Popko, A. Stelmaszczyk-Emmel A. et al. // *Eur. J. Med. Res.*-2010.-Vol. 4(15).-P.50-54.
76. Leptin receptor expression in neoplastic and normal ovarian and endometrial tissue / F. Mantzos, P. Vanakara, S. Samara et al. // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* -2011.-Vol. 32(1).-P.84-86.
77. Leptin, soluble leptin receptors, free leptin index, and their relationship with insulin resistance and BMI: high normal BMI / M. Owecki, E. Nikisch, A. Miczke et al. // *Horm Metab. Res.*-2010.-Vol.42(8).-P.585-589.
78. Levina, E. Downregulation of β -catenin by p53 involves changes in the rate of β -catenin phosphorylation and Axin dynamics / E. Levina, M. Oren, A. Ben-Ze' ev // *Oncogene.*-2004.-Vol. 23.-P.4444-4453.
79. Littman, A.J. Recreational physical activity and endometrial cancer risk / A.J. Littman // *Am. J. Epidemiol.* – 2001. – Vol.154 (10). – P.924–933.

80. Loss of Gelsolin expression in human ovarian carcinomas / A. Noske, C. Denkert, H. Schober et al. // *Eur. J. Cancer.*-2005.- 41:461-469.
81. MALAT-1 a novel noncoding RNA and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer / P. Ji, S. Diederichs, W. Wang, et al. // *Oncogene.*-2003. 2:6087–6097.
82. Margetic, S. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*-2002.-Vol. 26(11).- P. 1407–1433.
83. Maree, A. F. Polarization and movement of keratocytes: a multiscale modeling approach / Maree A.F., Jikine A., Daves A. // *Bull Math Biol.* - 2006.-Vol. 68(5):1169-211.
84. Maritzen, T. Gadkin negatively regulates cell spreading and motility via sequestration of the actin-nucleating ARP2/3 complex / T. Maritzen, T. Zech, M. R. Schmidt // *Proc Natl Acad Sci U S A.*-2012. 109(26):10382-7.
85. Margheri, F. et al. The receptor for urokinase-plasminogen activator (uPAR) controls plasticity of cancer cell movement in mesenchymal and amoeboid migration style / F. Margheri, C. Luciani, M. L. Taddei // *Oncotarget.*-2014. 5(6):1538-53.
86. Metabolic syndrome and risk of cancer. A systematic review and meta-analysis / K. Esposito, P. Chiodini, A. Colao et al. // *Diabetes Care.*- 2012.- Vol.35.-P.2402-2411.
87. Mohammadzadeh, G. Association of serum soluble leptin receptor and leptin levels with breast cancer / G. Mohammadzadeh, M.A. Ghaffari, A. Bafandeh // *J. Res. Sci.* -2014.-Vol.19(5).-P.433-438.
88. Morrison, C.D. The relevance of the TGF- β paradox to EMT-MET programs / C.D. Morrison, J.G. Parvani, W.P. Schiemann // *Cancer Lett.* – 2013.-Vol. 341.-P.30–40.
89. Novel regulatory mechanism for generation of the soluble leptin receptor: implications for leptin action [электронный ресурс] / M. Schaab, H. Kausch, J. Klammt et al. // *PLoS One.*- 2012.-Vol.7(4).-e34787.
90. Overexpression of the insuline-like growth factor I receptor and activation of

- the AKT pathway in hyperplastic endometrium / A.S. McCambell, R.R. Broaddus, D.S. Loose. et al. // *Clin. Cancer Res.*- 2006.-Vol.12.-P.6373-6378.
91. Overexpression of the TGF-beta antagonist Smad7 in endometrial cancer / S.C. Dowdy, A. Mariani, M.M. Reinholz et al. // *Gynecol. Oncol.*-2005.-Vol. 96(2).-P. 368-373.
92. Overactivation of the MEK/ERK pathway in liver tumor cells confer resistance to TGF-beta –induced cell death through impairing up-regulation of the NADH oxidase NOX4 / L. Caja, P. Sancho, E. Bertran et al. // *Cancer Res.* -2009.- Vol. 69(19).-P. 7595-7602.
93. Overexpression of cofilin 1 can predict progression-free survival in patients with epithelial ovarian cancer receiving standard therapy / S. Nishimura, H. Tsuda, F. Kataoka et al. // *Hum Pathol.*- 2011.-42:516-521.
94. Reduced expression of insuline-like growth factor I receptors in MCF breast cancer cells leads to a more metastatic phenotype / A.P. Pennisi, V. Barr, N.P. Nunez et al.// *Cancer Research.*-2002.-Vol.62.-P.6529-6537.
95. Role of the cofilin activity cycle in astrocytoma migration and invasion / S. Nagai, O. Moreno, C.A. Smith et al. (2011) // *Genes Cancer.*-Vol. 2.-P. 859–869.
96. Shen, Z.Q. Reverse of progestin-resistant atypical endometrial hyperplasia by metformin and oral contraceptives / Z.Q. Shen, H.T. Zhu, J.F. Lin // *Obstet. Gynecol.*-2008.-Vol.112 (2Pt2).-P.465-467.
97. siRNA gelsolin knockdown induces epithelial-mesenchymal transition with a cadherin switch in human mammary epithelial cells / H. Tanaka, R. Shirkoohi, K. Nakagawa et al. // *Int. J. Cancer.*-2006.-Vol.118(7).-P. 1680-1691.
98. Surgical stage I endometrial cancer: predictors of distant failure and death / A. Mariani, M. J. Webb, G. L. Keeney et al. // *Gynecol Oncol.* – 2002.-Vol. 873.-P.274-280.

99. Temporal quantitative proteomics by iTRAQ 2D-LC-MS/MS and corresponding mRNA expression analysis identify post-transcriptional modulation of actin-cytoskeleton regulators during TGF-beta-induced epithelial-mesenchymal transition / V.G. Keshamouni, P. Jagtag, G. Michailidis et al. // *J Proteome Res.* -2009.-Vol.8(1).-P.35-47. doi: 10.1021/pr8006478.
100. TGF β /TNF α -mediated epithelial-mesenchymal transition generates breast cancer stem cells with a claudin-low phenotype / M.K. Asiedu, J.N. Ingle, M.D. Behrens et al. // *Cancer Res.* - 2011.-Vol. 71(13).-P. 4707-4719.
101. TGF-beta signaling is disrupted in endometrial-type endometrial carcinomas / D. Piestrzeniewicz-Ulanska, M. Brys, A. Semczuk A. et al. // *Gynecol.Oncol.* -2004.-Vol. 95(1).-P.173-180.
102. TGFbeta signaling supports survival and metastasis of endometrial cancer cells / X. Lei, L. Wang., J. Yang J. et al. // *Cancer Manag Res.* - 2009.-Vol.1.-P.15-24.
103. The effect of body mass index on clinical/pathological features, surgical morbidity, and outcome in patients with endometrial cancer / E. Everett, E.E. Tamimi, H. Tamimi et al. // *Gynecol. Oncol.*-2003.-Vol.90(1).-P.150-159.
104. The motility of glioblastoma tumour cells is modulated by intracellular cofilin expression in a concentration-dependent manner / C.T. Yap, T. I. Simpson, T. Pratt et al. // *Cell Motil Cytoskeleton.*-2005. 60: 153-165.
105. Thymosin beta4 triggers an epithelial-mesenchymal transition in colorectal carcinoma by upregulating integrin-linked kinase / H. Huang, C.H. Hu, M. C. Tang et al. // *Oncogene.*-2007.-Vol. 26(19).-P.2781-2790.
106. Treatment effect, disease recurrence, and survival in obese women with early endometrial carcinoma / V. von Gruenigen, C. Tian, H. Frasure H. et al. // *Cancer.*-2006.-Vol.107(12).-P. 2786-2791.

107. Treatment of atypical endometrial hyperplasia with an insulin-sensitizing agent / D.R. Session, K.R. Kalli, I.S. Tummon et al. // *Gynecol. Endocrinol.*-2003.-Vol.15(7).-P.405-407.
108. Vandemput, I. Clinicopathological study in uterine cancer / I. Vandemput, F. Amant, P. Moerman // *Facts Views Vis Obgyn.* -2011.-Vol. 3(3).-P. 189–202.
109. Vardouli, L. LIM-kinase 2 and cofilin phosphorylation mediate actin cytoskeleton reorganization induced by transforming growth factor-beta / L. Vardouli, A. Moustakas, C.J. Stournaras // *J. Biol. Chem.*-2005.-Vol. 280(12).-P. 11448-11457.
110. Waterman-Storer, C. M. Feedback interactions between cell-cell adherent junctions and cytoskeletal dynamics in newt lung epithelial cells / C.M. Waterman-Storer, W. Salmon, E. Salmon // *Mol. Biol. Cell.*-2000.Vol. 11(7).-P.2471-2483.
111. Xiong, Y. Expression and significance of beta-catenin, Glut-1 and PTEN in proliferative endometrium, endometrial intraepithelial neoplasia and endometrioid adenocarcinoma / Y. Xiong, Y.Y. Xiong, Y.F. Zhou // *Eur J. Gynecological Oncol.*-2013.-Vol.31 (2).-P.160-164.
112. Yabushita, H. Clinicopathological role of adiponectin and leptin receptors in endometrial carcinomas / H. Yabushita, K. Iwasaki, Y. Obayashi, A. Wakatsuki // *Oncol. Lett.*-2014.-Vol.7 (4).-P.1109-1117.
113. Zhou, J-R. Symposium introduction: metabolic syndrome and the onset of cancer / J-R. Zhou, G.L. Blackburn, W.A. Walker // *Am. J. of Clinical Nutrition*-2007.-Vol.86 (3).- P.817S-819S.