

**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**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата медицинских наук**

**Томск - 2015**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении  
“Томский научно-исследовательский институт онкологии”

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук,  
**Чернышова Алена Леонидовна**  
**Научный консультант:** доктор медицинских наук  
**Юнусова Наталья Валерьевна.**

**Официальные оппоненты:**

**Агафонов Владимир Иванович**  
г.н.с. лаборатории патологической физиологии  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фармакологии и регенеративной медицины  
им. Е.Д. Гольдберга»  
доктор медицинских наук, профессор

**Красильников Сергей Эдуардович**  
Заведующий отделением онкогинекологии  
ГБУЗ НСО ООД г.Новосибирска  
доктор медицинских наук, профессор

**Ведущая организация -** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
"Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина", г. Москва

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании  
диссертационного совета Д001.032.01 при Федеральном государственном бюджетном  
научном учреждении “Томский научно-исследовательский институт онкологии” (634009,  
г. Томск, пер. Кооперативный, 5).  
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Томского НИИ онкологии.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

Фролова И.Г.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** 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 [Чиссов В.А., 2012, А.Д. Каприн, 2013].

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» [Анцифиров М.Б., 2000, Берштейн Л.М., 2000, 2004]. 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 [Квачевская О.Ю., 2000, Берштейн Л.М., 2004, Коломиец Л.А. и др., 2010].

Молекулярные механизмы вовлеченности МС в процессы опухолевого роста и опухолевой прогрессии изучены недостаточно. 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 [Firth S.M. et al., 2002]. 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 [Gao J. et al., 2013, Tae S.H. et al., 2014].

Среди факторов, которые при раке эндометрия изучаются в качестве этиопатогенетических наиболее часто обсуждаются эстрогены, ростовые и транскрипционные факторы [Берштейн Л.М., 2004, Бочкарева Н.В. и др., 2010, Спирина Л.В. и др., 2012]. 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 [Moon E.Y. et al., 2007, Keshamouni V.G. et al., 2009].

Ремоделирование актинового цитоскелета при участии актинсвязывающих белков (Агр3, фасцина, кофилина, гельзолина, тимозина  $\beta$ -4) с формированием 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-II) [C.D. Dos Remedios et al., 2003, Bourguignon L.Y. et al., 2007]. 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** - изучение роли гормонов жировой ткани в механизмах инвазии рака эндометрия на фоне метаболического синдрома с поиском новых молекулярных факторов прогноза.

#### **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 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 (Arg3, гельзолина и тимозина  $\beta$ -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 8 печатных работах, в том числе 3 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.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

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 триглицеридов (ТГ) более 1,7 ммоль/л или проводимым ранее лечением дислипидемии; со снижением липопротеидов высокой плотности (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 сахарным диабетом 2 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 эндометриодными аденокарциномами. 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 с типичной и атипичной гиперплазией эндометрия, средний возраст составил  $51,8 \pm 1,8$  года). Согласно классификации FIGO (2009), пациенты были разделены по стадиям: Ia (инвазия менее 1/2 миометрия) 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 (опухоль ограничивалась только эндометрием) и с проникновением опухоли в миометрий (поражение миометрия менее, чем на 50%). Кроме того, учитывалось наличие цервикальной инвазии.

Всем больным раком эндометрия проведено лечение в соответствии со стадией процесса. На первом этапе всем пациенткам 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 –IIa стадией проведено комбинированное лечение: операция и адъювантный курс лучевой терапии в общепринятых дозах. 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. Обследование больных проводилось по разработанной комплексной анкете, включающей клинические данные: сбор жалоб, анамнеза, оценку возраста, общесоматического и гинекологического статуса, анализ сопутствующей гинекологической патологии и экстрагенитальных заболеваний. Исследование антропометрических показателей включало измерение роста, веса, окружности талии (ОТ) и окружности бедер (ОБ). Оценка степени ожирения проводилась на основании расчета индекса массы тела (ИМТ) по формуле:  $ИМТ = \text{масса тела (кг)} / \text{рост}$

(м<sup>2</sup>). Тип распределения жировой ткани устанавливался на основании значения индекса ОТ / ОБ. При ОТ/ОБ > 0,85 диагностировалось абдоминальное ожирение, при ОТ/ОБ < 0,85 – глутеофеморальный тип ожирения. Общий дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Забор материала для морфологического исследования проводился на этапе хирургического лечения больных раком эндометрия или во время гистероскопии у больных с гиперпластическими процессами эндометрия. 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).

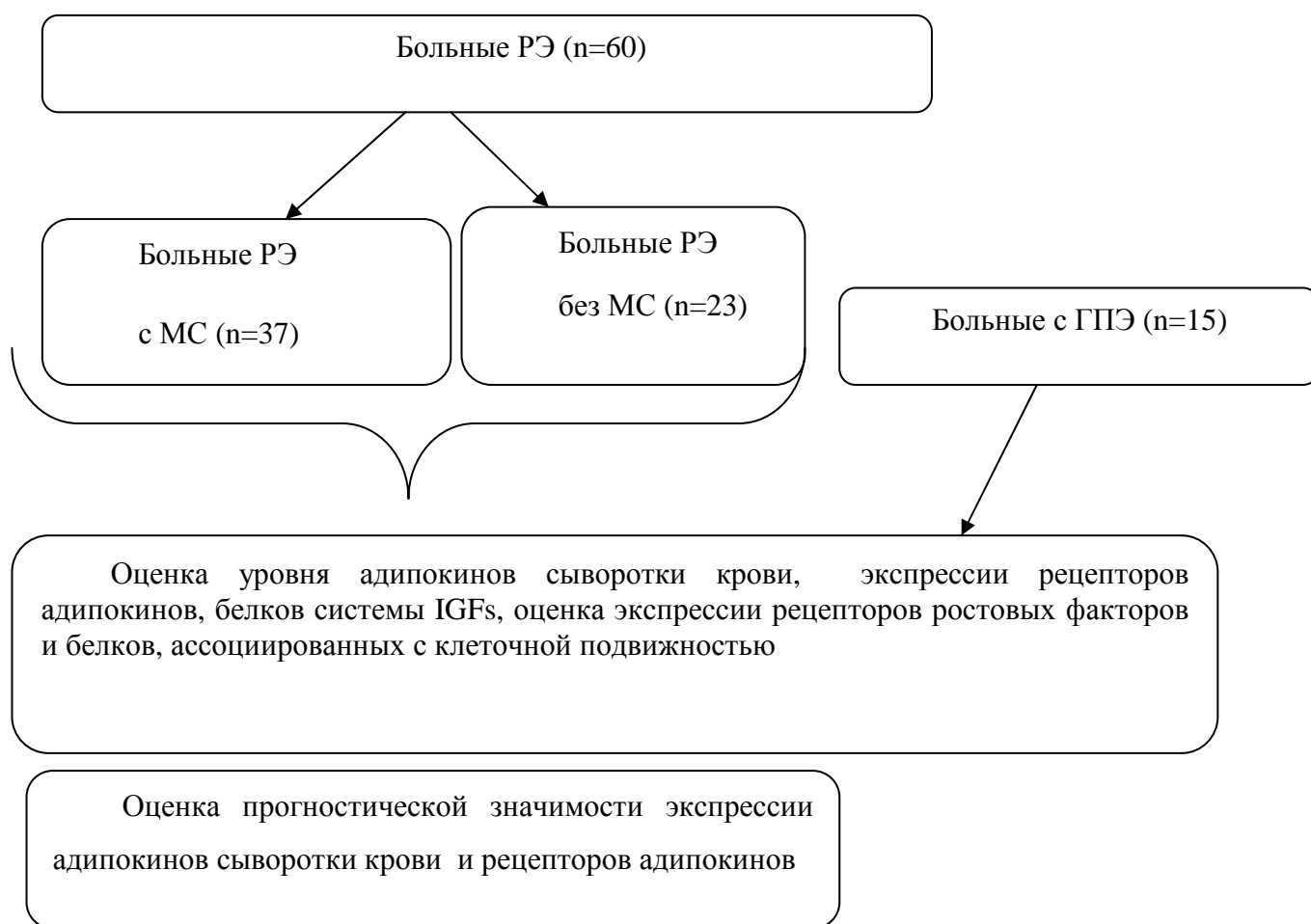


Рисунок 1 - Общий дизайн исследования. Примечание: РЭ – рак эндометрия, ГПЭ – гиперпластические процессы эндометрия.

Оценка состояния углеводного обмена включала исследование уровня глюкозы глюкозооксидазным методом. Для диагностики МС также проводилось исследование уровней показателей липидного спектра: общего холестерина (ОХ), ЛПВП и ТГ, на биохимическом многоканальном анализаторе Konelab-20 (Финляндия). Уровень ЛПНП рассчитывался по формуле Фридевальда. Исследование уровня лептина, адипонектина, растворимого рецептора лептина (sOb-R) в сыворотке крови выполнялось методом ELISA с использованием наборов фирмы R&D (США), BioVendor (Чехия).

В опухолевой ткани определяли содержание белков системы IGFs, AdipoR1 и AdipoR2 методом ELISA на ИФА-анализаторе Anthos 2020. Содержание белка в супернатантах определяли по методу Лоури. 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). Для определения экспрессии рецепторов ростовых факторов, фракции  $\beta$ -катенина, экспрессии Arp3, гельзолина методом проточной цитометрии готовили клеточные суспензии из ткани по стандартизированному протоколу. После фиксации и пермеабилзация клеток с помощью набора Cytofix/Cytoperm (BD, США) аликвоты подготовленных суспензий были проинкубированы с первичными конъюгированными антителами; использовались anti-CD221 (IGF-IR) phycoerythrin (PE), anti-p45 Ser  $\beta$ -catenin PE, anti-cytokeratin 18 fluorescein isothiocyanate (FITC), anti-cytokeratin 18 PE, анти-TGFbeta-RI (Abcam), анти-Arp3 (Abcam), анти-gelsolin (BD). В качестве вторичных антител использовались козы IgG anti-mouse -FITC (BD).

Экспрессия кофилина и тимозина в-4 была оценена методом Вестерн блоттинг. Электрофорез проводили по Laemmli в 13% полиакриламидном геле. После электрофореза белков осветленных гомогенатов в 13%-ном полиакриламидном геле осуществляли перенос полипептидов на PVDF –мембрану с последующей инкубацией с соответствующими антителами. Плотность полос была определена с помощью стандартной компьютерной программы «Image J». Результаты выражали в процентах от содержания актинсвязывающих белков в неизменной ткани. За 100% брали содержание белков в неизменной ткани.

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 8.0. Данные в таблицах представлены как медиана (Me) с интерквартильным размахом (25-й и 75-й процентиля). Достоверность различий проверяли при помощи U-критерия Уилкоксона – Манна – Уитни. 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  $p < 0,05$ . Прогностическую значимость изучаемых параметров оценивали с использованием модуля Survival analysis. Кривые кумулятивной выживаемости строились по методу Каплана – Майера, значимость различий в выживаемости между группами оценивали по критерию Гехана – Вилкоксона.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Все больные раком эндометрия в зависимости от наличия МС были разделены на две подгруппы: с МС и без МС. 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. По таким показателям как ИМТ, уровень гликемии, встречаемость СД II типа, уровень лептина и адипонектина в сыворотки крови больные раком эндометрия с МС достоверно отличались от больных раком эндометрия без МС.

Детальные молекулярные механизмы вовлеченности МС в процессы опухолевого роста и опухолевой прогрессии изучены недостаточно. При ассоциированных с МС злокачественных новообразованиях ведущую роль в регуляции экспрессии ростовых и транскрипционных факторов отводят гормонам жировой ткани - лептину и адипонектину.



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 эндометрия без МС (n=23)	Рак 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

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 [Williams C. et al. 2008, Kim A.Y. et al., 2010, Tae C.H. et al. 2014]. 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 [Sharma D. et al., 2006, Jaffe T., et al. 2008, Ogunwobi O.O., et al., 2007, Wang D. et al., 2012]. Эти эффекты обусловлены активацией соответствующих рецепторов - AdipoR1, AdipoR2, Ob-Ra и Ob-Rb. Однако оценка уровня самих адипокинов также представляется важной для понимания их роли в патогенезе рака эндометрия на фоне МС.

### **Уровень адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи инвазией опухоли, степенью дифференцировки и наличием МС.**

Уровень адипокинов сыворотки и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия во взаимосвязи с опухолевой инвазией и наличием МС представлен в таблице 2, со степенью дифференцировки опухоли - в таблице 3.

Полученные нами данные свидетельствуют о высокой встречаемости и о значительной степени выраженности обменно-эндокринных нарушений у больных раком эндометрия, что соответствует данным литературы [Коломиец Л.А. и др., 2010, Асадчикова О.Н.,

2013]. Показано, что уровень лептина сыворотки крови у больных раком эндометрия ассоциировался не только с наличием МС, но и с инвазией опухоли. При наличии цервикальной инвазии уровень лептина снижался. Уровень адипонектина, наоборот, был выше у больных без МС, его уровень также коррелировал с наличием цервикальной инвазии.

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	sOb-R, нг/мл	AdipoR1, нг/мг белка	AdipoR2, нг/мг белка	
Инвазия опухоли в миометрий: Отсутствует или поверхностная Глубокая	38,5 (19,5-97,1)	7,28 (3,80-11,8)	2,80 (2,24-5,12)	44,99 (31,1-59,0)	14,1 (8,14-18)	
	60,3 (3,42-193)	7,30 (5,84-11,6)	2,43 (1,86-5,21)	88,3 (64,3-102) <b>P&lt;0,05</b>	9,60 (5,70-14,0)	
Цервикальная инвазия: Нет Да	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)	
	15,8 (5,5-28,2) <b>P&lt;0,05</b>	4,02 (3,07-5,03) <b>P&lt;0,05</b>	4,02 (3,07-5,04)	51,0 (50,8-70,3)	17,6 (9,24-24,3)	
Наличие МС: Да Нет	70,4 (20,0-124)	5,69 (3,50-8,64)	2,64 (2,15-5,21)	48,7 (34,2-64,5)	11,1 (5,40-17,2)	
	19,5 (9,01-28,6) <b>P&lt;0,05</b>	11,9 (5,44-13,4) <b>P&lt;0,05</b>	3,80 (2,83-4,85) <b>P&lt;0,05</b>	57,5 (33,7-88,3)	14,2 (7,32-18,0)	

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. Минимальный уровень экспрессии обоих рецепторов выявлен в высокодифференцированных опухолях (таблица 3). 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.

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

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,  $p < 0,05$ .

В иммуногистохимическом исследовании японских ученых показано, что выраженная экспрессия AdipoR1 в ткани рака эндометрия ассоциировалась с I стадией, G1-дифференцировкой опухоли, поверхностной миометриальной инвазией, 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 [Yabushita H. et al., 2014]. На нашем клиническом материале максимальная экспрессия AdipoR1 была у больных с I стадией, но с глубокой инвазией опухоли в миометрий. 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. Достаточно часто имеются расхождения по оценке белковой экспрессии, выполненной различными методами (иммуногистохимия и ELISA), один из которых является полуколичественным методом, а другой - количественный.

Что касается данных по уровню растворимого рецептора лептина (sOb-R), то в литературе нет сведений об уровне данного белка при раке эндометрия, однако экспрессия sOb-R изучается во взаимосвязи с оценкой риска развития рака молочной железы, колоректального рака, а так же во взаимосвязи с прогрессированием колоректального рака [Tutino V et al., 2011, Mohammadzahed G. et al. 2014].

**Уровень экспрессии белков 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 IGF-RI в ткани рака представлен в таблице 4

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 MC синдромом, 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 MC и без метаболических нарушений, Me (25%-75%).

Клиническая группа	Параметры			
	IGF-I (нг/мг белка)	IGF-II (нг/мг белка)	IGFBP-3 (нг/мг белка)	IGFBP-4 (нг/мг белка)
Рак эндометрия с MC	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 MC	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:

\* - достоверность различий по сравнению с подгруппой больных раком эндометрия с MC,  $p < 0,05$ .

При изучении ассоциированных с адипокинами и рецепторами адипокинов белками системы IGFs выявлено, что в подгруппах с MC и без метаболических нарушений при практически одинаковом уровне IGFs, уровень IGFBP-4 был существенно выше в подгруппе больных без MC. В настоящее время появились работы, в которых обсуждается IGFs-независимый антиангиогенный и противоопухолевый эффект IGFBP-4 [Moreno M., 2006]. Ранее в работе Чернышовой А.Л. (2009) было показано, что больные без MC имеют лучшие показатели пятилетней безрецидивной и общей выживаемости по сравнению с больными с MC. Возможно, что некоторое ограничение пролиферативных эффектов IGFs за счет высокого уровня IGFBP-4 в ткани рака в комплексе с IGFs-независимым антиангиогенным и противоопухолевым эффектом IGFBP-4 может быть связано с более высокими показателями выживаемости у данной группы больных [Чернышова А.Л., 2009].

Полученные данные были проанализированы во взаимосвязи с уровнем экспрессии IGF-RI, а также уровнем адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов отдельно в подгруппах с MC и без метаболических нарушений (рис. 2 и 3). 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 MC и без MC. Основное различие между группами состояло в том, что в группе без MC не были выявлены корреляционные связи между уровнем лептина и его рецептором в сыворотке крови. В обеих группах не было выявлено взаимосвязей адипокинов сыворотки крови, рецепторов

адипокинов и IGFs и IGFFBPs с рецептором инсулиноподобного фактора роста первого типа (IGF-RI).

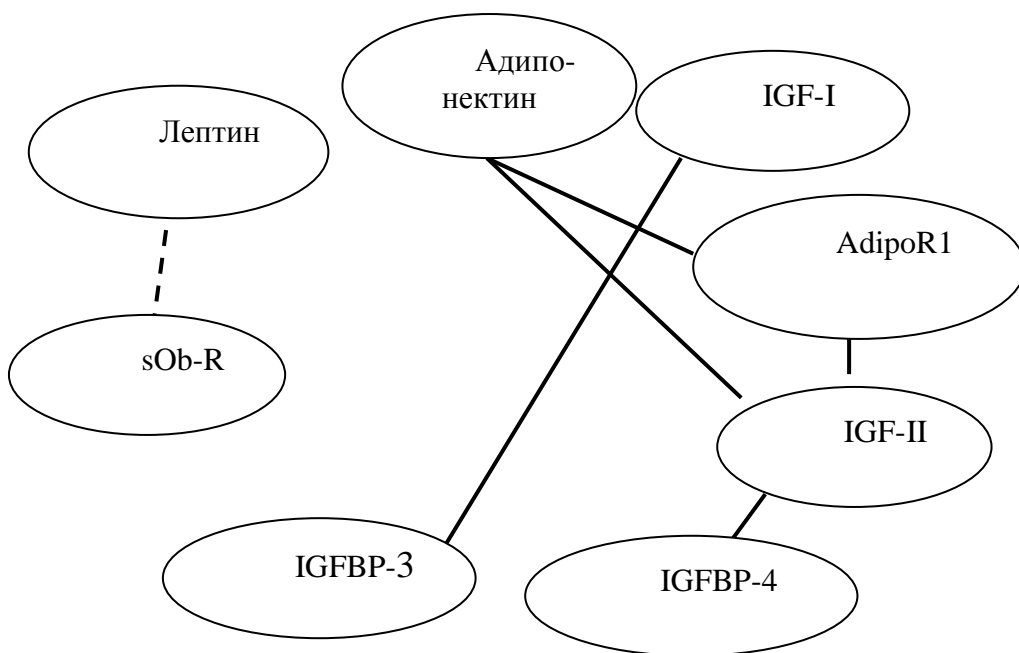


Рисунок 2 - Спектр корреляционных взаимосвязей экспрессии компонентов системы инсулиноподобных факторов роста, содержания адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия с МС: ——— положительные связи, - - - - - отрицательные связи.

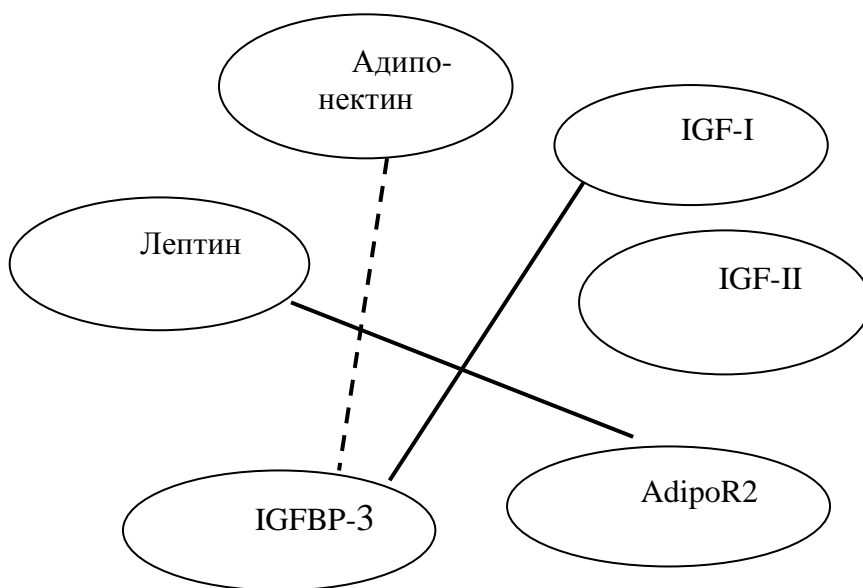


Рисунок 3 - Спектр корреляционных взаимосвязей экспрессии компонентов системы инсулиноподобных факторов роста, содержания адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов у больных раком эндометрия без МС: ——— положительные связи, -----отрицательные связи.

Полученные результаты позволяют предположить новые механизмы вовлеченности белков системы IGFs в патогенез злокачественных новообразований, ассоциированных с МС посредством адипокинов через свои тканевые рецепторы.

### **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.**

Среди факторов которые при раке эндометрия изучаются в качестве этиопатогенетических наиболее часто обсуждаются эстрогены, ростовые и транскрипционные факторы [Бочкарева Н.В. и др., 2006, Спирина Л.В. и др., 2012]. 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 [Кузнецов В.В. и др., 2004].

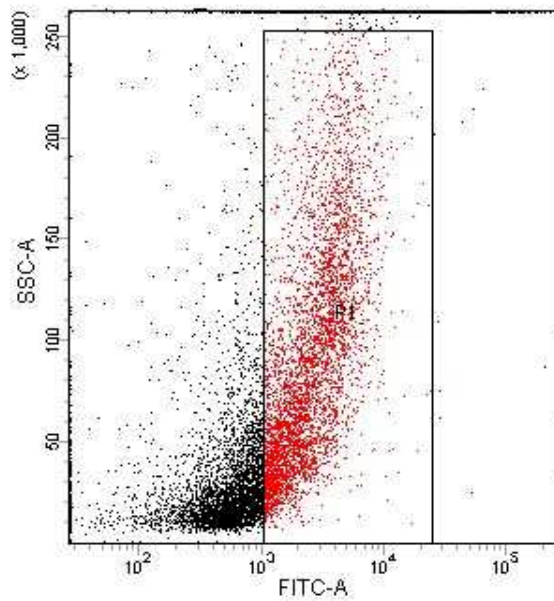
Ремоделирование актинового цитоскелета при участии актинсвязывающих белков с формирование ламелиподий является центральным событием, обеспечивающим клеточную локомоцию. Регуляция экспрессии актинсвязывающих белков осуществляется в том числе через IGF-RI и TGF $\beta$ -RI. Типичные данные по экспрессии TGF бета-IR, p45 Ser  $\beta$ -катенина, Arp3 и гельзолина при гиперплазии и раке эндометрия представлены на рисунке 4. Уровень экспрессии кофилина-1 и тимозина $\beta$ -4 в ткани эндометрия представлены на рисунке 5. TGF- $\beta$ , как известно, подавляет рост в нетрансформированных клетках, но способствует пролиферации и опухолевой прогрессии раковых клеток; это явление известно как TGF- $\beta$  парадокс [Morrison C.D. et al., 2013]. Роль TGF- $\beta$  в патогенезе гиперпластических процессов и рака эндометрия изучена недостаточно. По-видимому, высокие уровни TGF-beta-RI 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 нормальной ткани яичника, доброкачественные опухоли, пограничные опухоли, высокодифференцированные карциномы яичника [J. Zhou et al., 2012]. В исследовании Gun B.D. и соавт. (2012) была выявлена высокая экспрессия фасцина в пролиферирующей эндометрии по сравнению с аденокарциномами эндометрия [Gun B.D. et al., 2012]. Arp3 и фасцин принимают участие в формировании пучков актиновых филаментов и ламелиподий, необходимых для движения большинства типов клеток. Нами было выявлен высокий уровень белка Arp3 в образцах гиперплазии эндометрия по сравнению с тканями рака. Известно что, нетрансформированные эпителиальные клетки могут быть подвижны в эпителиальном слое [Waterman-Storer et al., 2000, Maree A.F., 2006, C. M.]. По-видимому, снижение уровня кофилина-1, тимозина  $\beta$ -4 и повышение экспрессии Arp3 при гиперплазии эндометрия необходимо для формирования цитоскелета, что дает механическую поддержку клеток и усиливает клеточную подвижность в процессе пролиферации.

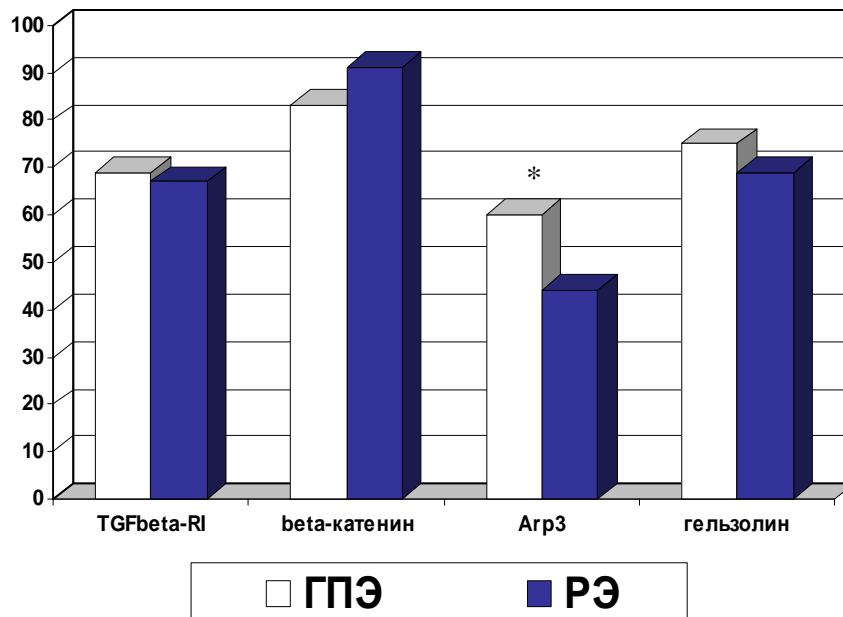
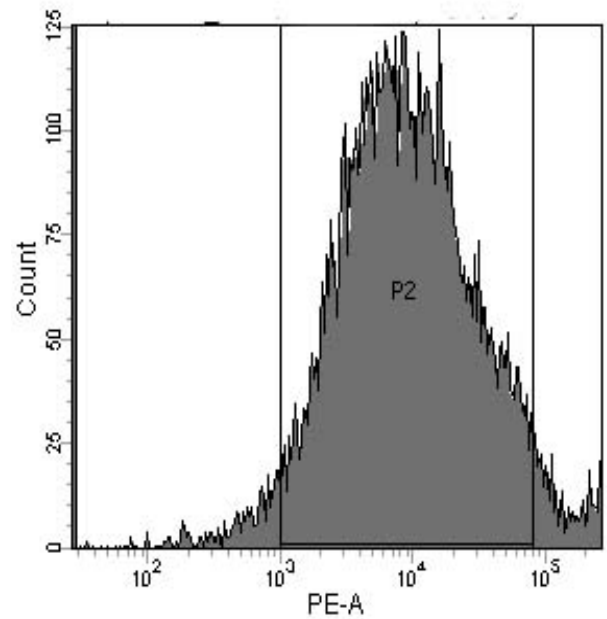
Данные об экспрессии TGF-beta-RI и IGF-RI во взаимосвязи с опухолевой инвазией представлены в таблице 6, данные по экспрессии других изученных белков - в таблице 7.

A

А



Б



В

Рис. 4 - Высокая экспрессия p45 Ser  $\beta$ -катенина в ткани ПЭ, 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-p45 Ser  $\beta$ -catenin PE. 96% цитокератин 18 -позитивных клеток экспрессировали p45 Ser  $\beta$ -катенин. В: Процент цитокератин 18-позитивных клеток, окрашенных антителами TGF $\beta$ -1R+FITC, anti-p45 Ser  $\beta$ -catenin, anti-Arp3+FITC и anti-gelsolin+FITC. \* - достоверность различий по сравнению с экспрессией белка в опухолевой ткани,  $p < 0,05$ . Примечание: ПЭ – рак эндометрия, ГПЭ – гиперпластические процессы эндометрия.

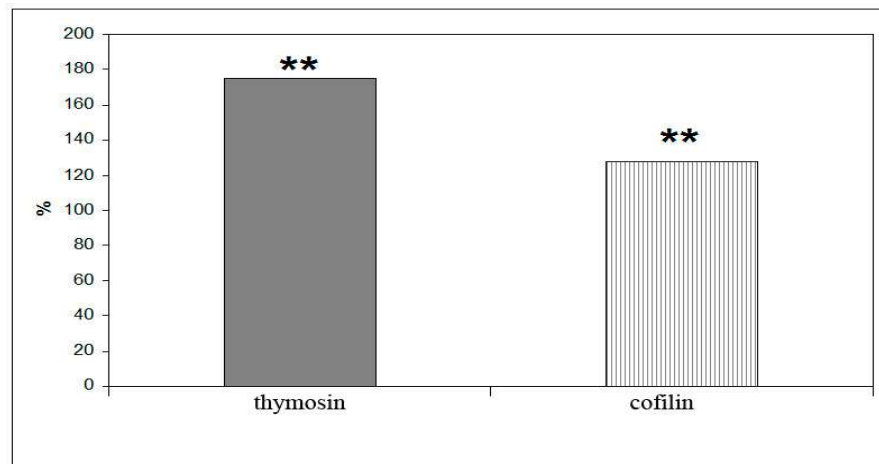
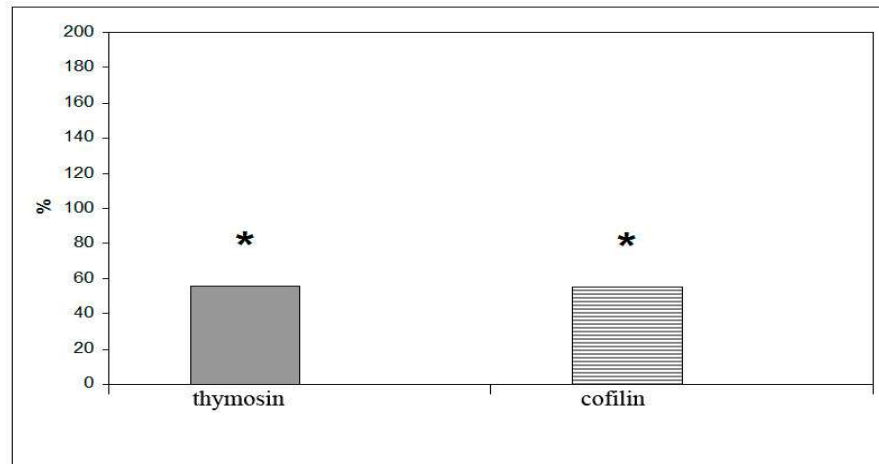
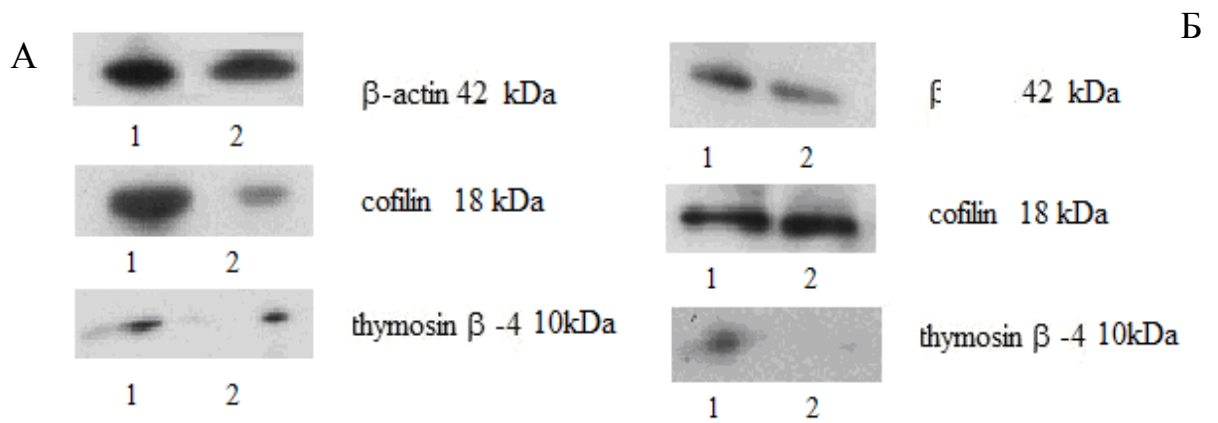


Рисунок 5 - Экспрессия кофилина и тимозина в гиперплазированной, неизменной и опухолевой тканях эндометрия: А - Вестерн блоттинг кофилина и тимозина в опухолевой и гиперплазированных тканях; Б - Вестерн блоттинг кофилина и тимозина в опухолевой и неизменных тканях; В - Содержание кофилина и тимозина 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, \*\* - по сравнению с нетрансформированной тканью



Уровень экспрессии обоих видов рецепторов ассоциировался с глубиной инвазии опухоли в миометрий, а TGF $\beta$ -RI – и с наличием цервикальной инвазии. Хотя многие сигнальный путь вовлечены в регулирование миграции клеток и инвазию, TGF $\beta$ , как известно, является основным модулятором миграции опухолевых клеток и инвазии. Полученные данные, об экспрессии TGF-beta-RI в ассоциации с инвазией рака эндометрия соответствуют данным Lei X. et al. (2009), которые демонстрирует важную роль неповрежденного TGF-beta сигнального пути формировании метастатического фенотипа рака эндометрия [Lei X. et al, 2009]. Хорошо известна роль TGF $\beta$  в ремоделировании актиновых филаментов через TGF-beta-RI благодаря его влиянию на фосфорилирование кофилина [Vardouli L. et al., 2005]. В нашем исследовании уровень кофилина был значительно выше у больных раком эндометрия с глубокой инвазией по сравнению с пациентами с поверхностной инвазией и без инвазии в миометрий. Эти результаты свидетельствуют, что, по-видимому, об участии кофилина-1 в прогрессии рака эндометрия.

Таблица 6 - Уровень экспрессии рецепторов ростовых факторов в ткани рака эндометрия с различной глубиной миометриальной инвазии и с отсутствием и наличием цервикальной инвазии.

Параметры, n	Процент цитокератин-18-позитивных клеток, окрашенных TGF $\beta$ -FITC и IGF-RI PE, %	
	TGF $\beta$ -RI	IGF-RI
Глубина инвазии опухоли 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)	94,5 (93,0-96,0)
	<b>P<sub>1,3</sub>&lt;0,05</b> <b>P<sub>2,3</sub>&lt;0,05</b>	<b>P<sub>1,3</sub>&lt;0,05</b>
Наличие цервикальной инвазии:		
Нет	67,0 (39,0-77,2)	86,0(71,1-89,0)
Да	88,1 (77,7-92,2)	92,5 (88,0-95,8)
	<b>P&lt;0,05</b>	

Примечание:

P<sub>1,3</sub><0,05 – достоверность различий между группами без инвазии и с инвазией более половины миометрия; P<sub>2,3</sub><0,05 – достоверность различий между группами с инвазией до и более половины миометрия.

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 [Noske A. et al., 2005, Liu J. et al., 2007. Litwin et al., 2009]. Мы также обнаружили, что высокие уровни G-актин-связывающего белка тимозина  $\beta$ -4 были связаны с увеличением глубины инвазии опухоли в миометрий и наличием цервикальной инвазии. Многие

солидные опухоли, в том числе колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого обладают сверхэкспрессией тимозина  $\beta$ -4, и эта гиперэкспрессия ассоциировалась с опухолевой прогрессией [Ji P. et al., 2003, Huang H.C. et al., 2007].

В нашем исследовании связи между экспрессией Arp3 в опухолях эндометрия с инвазией не было выявлено. В карциномах желудка, уровни экспрессии Arp2 и Arp3 коррелировали с размером опухоли, глубиной инвазии и сосудистой эмболией опухоли [Zheng H.C. et al., 2008]. 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 миометриальной и лимфоваскулярной инвазией [Gun B.D. et al., 2012].

Таблица 7 - Уровень экспрессии p45 Ser  $\beta$ -катенина, Arp3, гельзолина, кофилина-1, тимозина $\beta$ -4 в ткани больных раком эндометрия с различной глубиной опухолевой инвазии.

	Процент цитокератин-18-позитивных клеток, окрашенных p45 Ser $\beta$ -катенин PE, Arp3+FITC и гельзолин			Уровень кофилина и тимозина в процентах к нетрансформированной ткани эндометрия, %	
	p45 Ser $\beta$ -катенин	Arp3	гельзолин	Кофилин	Тимозин
Глубина инвазии опухоли в миометрий:					
Без инвазии	89,2 (80,0-91,0)	34,0 (23,0-45,9)	61,5 (54,0-65,0)	130 (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) <b>P<sub>1,3</sub>&lt;0,05</b> <b>P<sub>2,3</sub>&lt;0,05</b>	199 (155-260) <b>P<sub>1,3</sub>&lt;0,05</b> <b>P<sub>1,2</sub>&lt;0,05</b>
Наличие цервикальной инвазии:					
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) <b>P&lt;0,05</b>

Примечание:

P<sub>1,3</sub><0,05 – достоверность различий между группами без инвазии и с инвазией более половины миометрия; P<sub>2,3</sub><0,05 – достоверность различий между группами с инвазией до и более половины миометрия, P<sub>1,2</sub><0,05 – достоверность различий между группами без инвазии и с инвазией до половины миометрия.

Поскольку многие сигнальные пути были вовлечены в регулирование миграции клеток и инвазию, нами была изучена также экспрессия p45 Ser  $\beta$ -катенина в тканях эндометрия. Был выявлен высокий уровень экспрессии p45 Ser  $\beta$ -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 и  $\beta$ -катенина и инвазией.

#### **Взаимосвязи экспрессии IGF-RI, TGF-бета-RI, p45 Ser- $\beta$ -катенина с экспрессией актинсвязывающих белка в ткани гиперплазии и рака эндометрия.**

Были проанализированы взаимосвязи между экспрессией IGF-RI, TGF-beta-RI, p45 Ser- $\beta$ -катенин и актинсвязывающими белками. В группе больных с гиперплазией эндометрия выявлены множественные корреляционные взаимосвязи между изученными белками: между экспрессией p45 Ser- $\beta$ -катенина и TGF-beta-RI ( $r = 0,65$ ,  $p < 0,05$ ), Arp3 ( $r = 0,71$ ,  $p < 0,05$ ), гельзолина ( $r = 0,81$ ,  $p < 0,05$ ). Аналогичные положительные корреляционные взаимосвязи выявлены между экспрессией IGF-RI и TGF-beta-RI, p45 Ser- $\beta$ -катенина и гельзолина. В группе больных раком эндометрия выявлены корреляции между экспрессией p45 Ser- $\beta$ -катенина и TGF-beta-RI ( $r = 0,53$ ,  $p < 0,05$ ), Arp3 ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ) и IGF-RI. Таким образом, выявлены множественные корреляционные взаимосвязи между экспрессией рецепторов ростовых факторов, p45 Ser- $\beta$ -катенином и экспрессии основных актинсвязывающих белков как при гиперплазии, так и при раке эндометрия.

#### **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. Выявлены статистически значимые отрицательные корреляционные зависимости экспрессии Arp3 от экспрессии AdipoR2 ( $r = -0,707$ ,  $p < 0,05$ ), экспрессии гельзолина от экспрессии AdipoR2 ( $r = -0,595$ ,  $p < 0,05$ ) и зависимость экспрессии тимозина  $\beta$ -4 от уровня адипонектина в сыворотке крови ( $r = -0,515$ ,  $p < 0,05$ ).

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 [Gao J. et al., 2013, Tae C.H. et al., 2014].

#### **Прогностическая значимость адипокинов сыворотки крови и рецепторов адипокинов в ткани рака у больных раком эндометрия с МС.**

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 [Асадчикова О.Н., 2013]. 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 [Peiro G. et al., 2003]. 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. По данным Yabushita H. et al. (2014) при однофакторном анализе AdipoR1 явился значимым прогностическим фактором, и его слабая экспрессия ассоциировалась с плохим прогнозом [Yabushita H. Et al., 2014]. Но необходимо 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 (рис.6.).

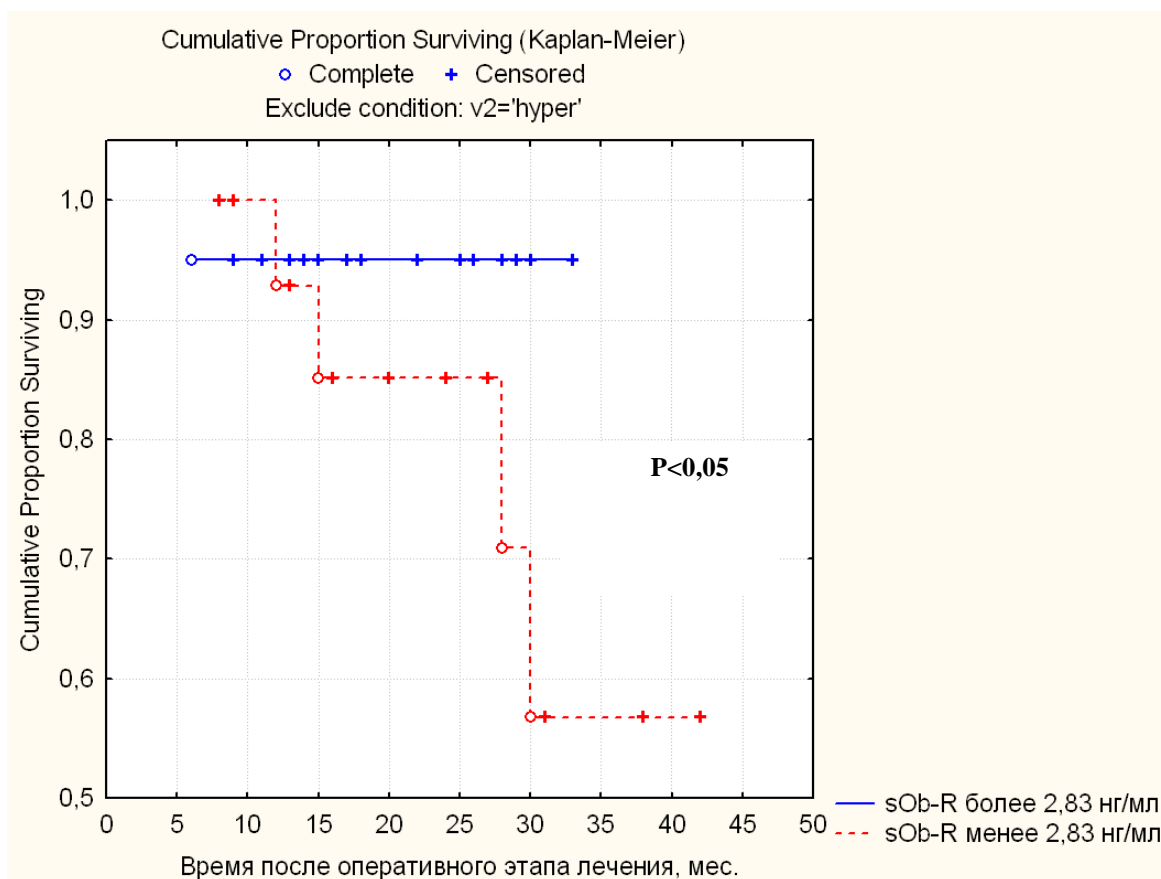


Рисунок 6 – Безрецидивная выживаемость больных раком эндометрия с МС в зависимости от уровня sOb-R в сыворотке крови: сплошная линия – sOb-R более 2,83 нг/мл, пунктирная линия – sOb-R менее 2,83 нг/мл. По оси абсцисс – время наблюдения (мес), по оси ординат – кумулятивная выживаемость, рассчитанная по методу Каплана –

Мейера. Значимость различий (p) в выживаемости между группами оценена по критерию Гехана – Вилкоксона.

Трехлетняя безрецидивная выживаемость больных раком эндометрия с МС с уровнем sOb-R более 2,83 нг/мл составила 95,2±1,9%, а при sOb-R ≤ 2,83 нг/мл – 58,0±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 [Mochammedzadeh G. et al., 2014]. Колоректальный рак также как и рак эндометрия относится к ассоциированным с МС злокачественным новообразованиям. Поэтому полученные нами данные, по-видимому, достаточны в плане изучения молекулярных факторов прогноза рака эндометрия.

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 рецепторов адипонектина AdipoR1 и AdipoR2 не зависел от наличия у больных раком эндометрия МС, но зависел у больных раком эндометрия 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-beta-RI у больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия был высок и достоверно не различался. Нами выявлено снижение уровня кофилина-1, тимозинаβ-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 данных рецепторов ростовых факторов существенно увеличивался. Экспрессия кофилина-1 и тимозина β-4 также зависела от глубины миометриальной инвазии. Экспрессия TGF-beta-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. Выявлены отрицательные корреляционные взаимосвязи между экспрессией важнейших актинсвязывающих белков и экспрессией рецептора адипонектина AdipoR2 и уровнем адипонектина в сыворотке крови. Полученные данные могут являться одним из механизмов влияния МС на процесс опухолевой инвазии.

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

## **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 44,9 (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 $\beta$ -4 и повышенные экспрессии Arp3 при гиперплазии эндометрия в сравнении с их экспрессией в ткани рака эндометрия. Уровень экспрессии IGF-RI, TGF $\beta$ -RI, кофилина-1 и тимозина  $\beta$ -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  $\beta$ -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.

#### **ПЕРЕЧЕНЬ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Шаншашвили Е. В. Клинические и иммуногистохимические аспекты рака тела матки [текст] / Коломиец Л. А., Чернышова А. Л., Бочкарева Н. В., Родичева Н. С // Шестидесять лет онкологической службе республики Тыва / Министерство здравоохранения республики Тыва, ГУЗ "Республиканский онкологический

- диспансер", НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН, ГРУЗ "Научно-практический медицинский центр" Министерства здравоохранения республики Тыва. - Кызыл, 2010. - С. 91-92
2. Шаншашвили Е. В. Клинико-гормональные особенности пролиферативных процессов эндометрия на фоне метаболического синдрома [текст] /Чернышова А. Л., Коломиец Л. А., Бочкарева Н. В. // Шестьдесят лет онкологической службе республики Тыва / Министерство здравоохранения республики Тыва, ГУЗ "Республиканский онкологический диспансер", НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН, ГРУЗ "Научно-практический медицинский центр" Министерства здравоохранения республики Тыва. - Кызыл, 2010. - С. 93-95.
  3. Шаншашвили Е. В. Клинические и иммуногистохимические аспекты рака тела матки [текст] / Коломиец Л. А., Чернышова А. Л., Бочкарева Н. В., Родичева Н. С. // Актуальные вопросы клинической онкологии : сборник научных трудов, посвященный 65-летию Санкт-Петербургского Государственного учреждения здравоохранения "Городской клинический онкологический диспансер" и 20-летию Санкт-Петербургской общественной организации "Ассоциация помощи онкологическим больным "Антирак"". - СПб. : Аграф +, 2011. - С. 143
  4. Шаншашвили Е. В. Клинико-гормональные особенности пролиферативных процессов эндометрия на фоне метаболического синдрома [текст] /Чернышова А. Л., Коломиец Л. А., Бочкарева Н. В. // Актуальные вопросы клинической онкологии : сборник научных трудов, посвященный 65-летию Санкт-Петербургского Государственного учреждения здравоохранения "Городской клинический онкологический диспансер" и 20-летию Санкт-Петербургской общественной организации "Ассоциация помощи онкологическим больным "Антирак"". - СПб. : Аграф +, 2011. - С. 280-281
  5. Шаншашвили Е. В. Рак эндометрия на фоне метаболического синдрома: связь с системой инсулиноподобных факторов роста [текст] /Юнусова Н. В., Коломиец Л. А., Кондакова И. В., Чернышова А. Л., Недосеков В. В. // Злокачественные опухоли = The journal malignant tumors : международный ежеквартальный научно-практический журнал по онкологии: русскоязычное издание. - 2013. - N 2. - С. 126-127. - Материалы 17 Российского онкологического конгресса. Москва, 12-14 ноября 2013.
  6. Шаншашвили Е. В. Патогенетическое обоснование необходимости коррекции метаболического синдрома у больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия [текст] / Чернышова А. Л., Коломиец Л. А., Юнусова Н. В., Кондакова И. В., Буланова А. А // Российский биотерапевтический журнал : теоретический и научно-практический журнал. - 2013. - Том 12, N 1. - С. 3-10.
  7. Шаншашвили, Е. В. Рецепторы ростовых факторов и адипокинов в патогенезе и прогнозе рака эндометрия на фоне метаболического синдрома [текст] / Юнусова Н. В., Кондакова, И. В., Коломиец Л. А., Чернышова, А. Л. // Сибирский онкологический журнал : научно-практическое издание. - 2013. - N 1(61). - С. 41-45.
  8. Шаншашвили Е. В. Особенности гормонально-энергетического обмена у больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия на фоне метаболического синдрома [текст] / Чернышова А. Л., Коломиец Л. А., Юнусова Н. В., Шаншашвили Е.В.// Сибирский онкологический журнал: научно-практическое издание. - 2015. - N 1. - С. 5-11.

## 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

НbA1 – 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-κаррaB, 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