

Zaporozhan V.N., Bobrova V.N. Характеристика анамнестических, генеалогических и цитогенетических особенностей пациенток с неопластическими процессами матки = Anamnestic, genealogic and cytogenetic characteristics of patients' with neoplastic processes of uterus. Journal of Health Sciences. 2014;04(01):075-088. ISSN 1429-9623 / 2300-665X.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1107. (17.12.2013).

© The Author (s) 2014;

This article is published with open access at License Open Journal Systems of Radom University in Radom, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

УДК 618.145:616-006.6:576.316

UDC 618.145:616-006.6:576.316

ХАРАКТЕРИСТИКА АНАМНЕСТИЧЕСКИХ, ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИХ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПАЦИЕНТОК С НЕОПЛАСТИЧЕСКИМИ ПРОЦЕССАМИ МАТКИ

Anamnestic, genealogic and cytogenetic characteristics of patients' with neoplastic processes of uterus

Запорожан В. Н., Боброва В. Н.
Zaporozhan V.N., Bobrova V.N.

Одесский Национальный Медицинский Университет, 65082, Украина,
Одесса, пер. Валиховский, 2; факс +38(048)723-33-24
Odessa State Medical University, Valekhovsky lane, 2; 65082, Odessa, Ukraine

РЕФЕРАТ. Цель исследования: прогнозирование возникновения неопластических процессов матки у женщин с наличием или без наследственной онкоотягощенности путем исследования хромосомной нестабильности и фрагильных сайтов хромосом в лимфоцитах периферической крови. **Материалы и методы:** 134 пациентки с железисто-кистозной гиперплазией эндометрия, атипической гиперплазией эндометрия (АГЭ), аденокарциномой эндометрия (АЭ), миомой матки (ММ). Для культивирования лимфоцитов периферической крови использовали полумикрометод с применением фолатдефицитной среды для выявления редких фрагильных сайтов хромосом. **Полученные результаты:** Среди экстрагенитальной патологии чаще всего встречалась гипертония (19,7%) и ожирение (10,8 %). Каждая четвертая пациентка имела контакт с химическими мутагенами (25,9%). В родословных пациенток с неопластическими процессами матки достоверно чаще ($p < 0,05$), в сравнении с здоровыми женщинами, встречались рак тела матки (10,3%), рак желудка (10,3%), рак молочных желез (9,7%), рак легких (7,3%), миома матки (30,3%). Наибольшее количество aberrантных метафаз было выявлено у пациенток с диагнозами АГЭ и АЭ с отягощенным семейным онкоанамнезом ($32,7 \pm 13,6\%$ и $33,5 \pm 9,8\%$ соответственно), причем в большинстве случаев за счет анеуплоидии (гипердиплоидии) ($22,9 \pm 8,5\%$ и $23,3 \pm 7,3\%$). Уровень хромосомных aberrаций коррелировал с тяжестью патологического процесса и наследственной онкоотягощенностью. Найдено 29 фрагильных сайтов хромосом (ФСХ), 26 ФСХ относятся к общим фрагильным сайтам, 3 ФСХ являются редкими. ФСХ выявлено во всех исследуемых группах пациенток кроме больных с миомой матки и здоровых женщин. Полученные результаты указывают на корреляцию широты спектра ФСХ с тяжестью патологического процесса. Многие из выявленных ФСХ, совпадают по местонахождению или локализованы возле онкогенов и

протоонкогенов, которые принимают участие в возникновении, прогрессии рака эндометрия или являются обуславливающими его возникновение. **Выводы:** Фрагильные сайты хромосомных регионов 1q2.4-3.1; 2q2.4-3.1; 4q2.5-3.1; 5q2.3-3.2 могут использоваться в качестве прогностических цитогенетических маркеров при неопластических процессах матки. Выявление общих фрагильных сайтов на начальных стадиях развития неоплазий позволит прогнозировать дальнейшее развитие заболевания и своевременно начать лечение.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, аденокарцинома эндометрия, миома матки, хромосомная нестабильность, фрагильные сайты хромосом.

SUMMARY. ANAMNESTIC, GENEALOGIC AND CYTOGENETIC CHARACTERISTICS OF PATIENTS' WITH NEOPLASTIC PROCESSES OF UTERUS.

Zaporozhan V.N., Bobrova V.N.

Odessa State Medical University, Valekhovsky lane, 2; 65082, Odessa, Ukraine

The objective: The objective the research was the prediction of neoplastic processes of the uterus in women with the presence or absence of oncological family history by studying chromosome instability and a fragile sites chromosomes in peripheral blood lymphocytes. **Materials and methods:** 134 patients with simple endometrial hyperplasia, atypical endometrial hyperplasia (AEH), endometrium adenocarcinoma (EA), leiomyoma of uterus (LU) have been examined. Basic technique with the application of folate-deficient medium for culture peripheral blood lymphocytes to detection rare fragile sites chromosome were used. **Results:** Among patients' extragenital pathology the most widespread was hypertension (19.7%) and obesity (10.8%). Every fourth patient had contact with chemical mutagens (25.9%). In patients with pedigrees of neoplastic uterine processes endometrial cancer (10.3%), gastric cancer (10.3%), breast cancer (9.7 %), lung (7.3%), uterine fibroids (30.3%) were met significantly more ($p < 0,05$) in comparison with healthy women. The greatest number of aberrant metaphases was found in patients with diagnoses of AEH and EA with an oncological family history ($32,7 \pm 13,6\%$ and $33,5 \pm 9,8\%$, respectively), and in most cases due to aneuploidy (hyperploidy) ($22,9 \pm 8,5\%$ and $23,3 \pm 7,3\%$). Chromosomal aberrations correlated with the severity of the pathological process and hereditary oncological family history. 29 fragile chromosome sites were found (FHS) 26 of the FHS referred to general a fragile sites, 3 FHS were rare. FHS were found in all groups of patients except of patients with uterine cancer and healthy women. The results indicate a correlation between latitude range FHS with the severity of the pathological process. Many of the identified FHS coincide at the location or localized near oncogenes and proto-oncogenes, which are involved in the occurrence, progression of endometrial cancer or are stipulated by its appearance. **Conclusions:** A fragile chromosome sites 1q2.4-3.1; 2q2.4-3.1; 4q2.5-3.1; 5q2.3-3.2 regions can be used as prognostic cytogenetic markers in neoplastic processes of the uterus. Identifying of common fragile sites in the initial stages of neoplasia development helps predict the further development of the disease and early treatment.

Key words: endometrial hyperplasia, endometrium adenocarcinoma, leiomyoma uterus, chromosome instability, chromosome fragile sites.

ВВЕДЕНИЕ. Хромосомная нестабильность и фрагильность хромосом лимфоцитов периферической крови часто сопровождают онкологические заболевания. Известно, что такие нарушения возникают как следствие развития опухоли в организме. От рака эндометрия каждый год умирает 44 женщины из каждых 100 000 женщин, причиной высокой смертности является диагностика заболевания на поздних стадиях развития, когда лечение оказывается неэффективным. Наиболее распространенный эндометриоидный рак эндометрия (70-80%), для которого характерны мутации генов мис-мач репарации (MSH2, MLH1, PMS1 и др.) и, как следствие – микросателлитная нестабильность [1]. Мутации генов мис-мач репарации лежат в основе патогенеза как наследственных форм рака эндометрия, так и спорадического эстрогензависимого рака эндометрия [2]. Мутации являются результатом сложных взаимодействий между репликацией ДНК, рекомбинацией и случайными ошибками в работе репарационных систем. Поэтому хромосомная нестабильность в известной степени отображает мутагенность факторов внешней среды. Лимфоциты периферической крови способствуют защите организма от вредного воздействия окружающей среды. Хромосомная нестабильность в лимфоцитах периферической крови у раковых больных давно привлекает внимание исследователей. При неопластических процессах матки часто наблюдается хромосомная нестабильность [3]. При цитогенетических исследованиях у онкологических больных кроме исследования клеток опухоли, очень часто отдают предпочтение изучению лимфоцитов периферической крови, поскольку лимфоциты хорошо поддаются кратковременному культивированию.

Хромосомная нестабильность часто сочетается с фрагильными сайтами хромосом у онкологических больных. Фрагильные сайты представляют собой участки ДНК с тандемными нуклеотидными повторами, которые формируют необычные структуры ДНК [4,5]. Фрагильные сайты являются «горячими точками», в которых происходят точечные мутации, амплификации и делеции в процессе канцерогенеза, но генетическое разнообразие фрагильных сайтов пока до конца не ясно. Много онкогенов и опухолевых супрессоров локализовано внутри или возле этих сайтов [6].

Целью исследования является прогнозирование возникновения неопластических процессов матки у женщин с присутствием или отсутствием наследственной онкоотягощенности путем исследования хромосомной нестабильности и фрагильных сайтов хромосом в лимфоцитах периферической крови. В настоящее время практически отсутствуют надежные маркеры, прогнозирующие начало процесса малигнизации эндометрия, поэтому поиск таких маркеров является актуальным. В нашей работе мы попытались при помощи анализа анамнеза, генеалогии и цитогенетики найти ответ на вопросы: на каком этапе развития опухоли возникают хромосомная нестабильность и фрагильность хромосом и какие факторы могут приводить к таким хромосомным аномалиям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Были изучены результаты обследования 134 пациенток с гистологически- подтвержденными диагнозами неопластических процессов матки (железисто-кистозной гиперплазии эндометрия, атипической гиперплазии эндометрия, аденокарциномы эндометрия, миомы матки). В группу контроля вошли 50 практически здоровых женщин, проходящих скрининговое обследование по программе бесплодие. В 1 группу вошли 58 пациенток с сочетанием железисто-кистозной гиперплазии эндометрия с миомой матки (ЖКГЭ+ММ), 2 группа состояла из 30 пациенток с миомой матки без патологических изменений эндометрия (ММ), к 3 группе были отнесены 20 пациенток с диагнозом атипическая гиперплазия эндометрия (АГЭ), 4 группа состояла из 26 пациенток с аденокарциномой эндометрия (АЭ). Каждая диагностическая группа была разделена на две подгруппы в зависимости от наличия или отсутствия в родословных пациенток наследственной онкоотягощенности.

На каждую больную заполнялась клиничко-генеалогическая карта, в которую заносились клиничко-анамнестические данные, а также родословная пациентки (особое внимание обращали на опухолевые и эндокринные заболевания, и на возможный контакт пациентки с мутагенами). Были использованы клиничко-генеалогические критерии, которые позволяют отличить наследственные формы опухолей от спорадических [7].

Забор крови для цитогенетических исследований проводили до оперативных вмешательств и терапии. Для культивирования лимфоцитов периферической крови использовали полумикрометод предложенный Захаровым А. В. с соавт. (1982) [8]. На каждую больную ставили 3 - 4 флакона. Для культивирования лимфоцитов периферической крови использовали среды Игла и 199 (Sigma), среда 199 не содержит фолатов, что является важным для выявления редких фолатчувствительных фрагильных сайтов хромосом. Окрашивание препаратов проводилось по методикам GTG- и GAG-бэндинга.

Хромосомный анализ проводили на системе кариотипирования MetaSystems (Германия) с использованием программы "Ikaros". Было проанализировано не менее 100 метафазных пластинок для каждой пациентки. Анализ хромосом проводили в соответствии с критериями ISCN [9]. Учитывали хроматидные и хромосомные aberrации, кариотипически-аномальные клетки, а также фрагильные сайты хромосом. Цитогенетически фрагильный сайт выявлялся, как пробел или неоднородность в структуре хромосомы.

Статистическая обработка проводилась методами дисперсионного и корреляционного анализа. Определение критериальных значений и основные вычисления проводились при помощи статистических пакетов программы Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Проведен анализ анамнеза пациенток с неопластическими процессами матки и установлено, что в группе женщин с неопластическими процессами матки достоверно повышена ($p < 0,05$) частота встречаемости в анамнезе аборт (39,4 %), патологии молочных желез (22,6 %), патологии шейки матки (23,4 %), патологии яичников (21,3%) сравнительно с группой здоровых женщин. Среди экстрагенитальной патологии чаще всего у пациенток встречалась гипертония (19,7%) и ожирение (10,8 %). Каждая четвертая пациентка имела контакт с химическими мутагенами (25,9%) и принимала гормональные препараты (24,4%) (Рис.1). В родословных пациенток с

неопластическими процессами матки достоверно чаще ($p < 0,05$), в сравнении с здоровыми женщинами встречались: рак тела матки (10,3%), рак желудка (10,3%), рак молочных желез (9,7%), рак легких (7,3%), миома матки (30,3%) (рис.2).

При исследовании украинской популяции (Черновицкая область) оказалось, что вклад генетических факторов в детерминацию склонности к развитию РЭ составляет 11,4% (по данным сегрегационного анализа) [10]. Авторы выделяют несколько наследственных синдромов с участием РЭ: семейный РЭ, семейный рак яичников-эндометрия-молочных желез, синдром Lynch II, семейный рак эндометрия - органов желудочно-кишечного тракта.

Наследственная отягощенность по заболеваниям, приводящим к метаболическому синдрому, предрасполагает к развитию онкологических заболеваний. Пациентки с неопластическими процессами матки значительно чаще ($p < 0,05$), чем здоровые женщины, имеют родственников с гипертонией (28,7%), сердечно-сосудистой патологией (27,6%), сахарным диабетом (16,9%) и ожирением (11,5%) (рис.2). Анализ родословных не является полностью достоверным методом выявления больных с отягощенным семейным онкоанамнезом (ОСО). Многие из пациенток не знают, чем болели их родственники или вообще ничего не знают о своих родственниках. Таких пациенток относят к группе без ОСО. Таким образом, распределение пациенток на основании анализа родословных до некоторой степени условное.

Наибольшее количество aberrантных метафаз было выявлено у пациенток с диагнозами АГЭ и АЭ с ОСО ($32,7 \pm 13,6\%$ и $33,5 \pm 9,8\%$ соответственно), причем в большинстве случаев за счет анеуплоидии (гипердиплоидии) ($22,9 \pm 8,5\%$ и $23,3 \pm 7,3\%$) (табл.1). У пациенток с ММ без ОСО количество aberrантных клеток составило $17,4 \pm 7,3\%$, а с ОСО - $20,45 \pm 6,7\%$ соответственно, причем у пациенток без ОСО aberrации хромосомного типа были в диапазоне $4,8 \pm 0,7\%$, а с ОСО - $2,6 \pm 1,5\%$. У больных с сочетанием ЖКГЭ и ММ без ОСО количество aberrантных клеток составило $6,4 \pm 4,1\%$, а с ОСО - $16,9 \pm 6,2\%$, aberrации хромосомного типа у пациенток с ОСО были $6,0 \pm 2,2\%$, а без ОСО - $2,5 \pm 0,3\%$. Наибольшее количество aberrаций хроматидного типа зафиксировано в группах пациенток с АЭ ($3,34 \pm 0,40\%$ в группе без ОСО и $3,2 \pm 1,4\%$ в группе с ОСО). У больных в группах с ЖКГЭ+ММ, АГЭ и ММ с ОСО были найдены полиплоидные клетки (5,25%, 4,54% и 4,5% соответственно), а в группе больных с ММ клетки с преждевременным разделением хромосом (ПРЦ) (1,13%). Во всех подгруппах пациенток с неопластическими процессами матки и ОСО найдена хромосомная нестабильность.

В исследованиях, проведенных Полищук и др. было выявлено повышение среднего уровня структурных aberrаций хромосом в лимфоцитах периферической крови у больных раком тела матки 1-11 стадии до $5,8 \pm 0,49\%$; aberrации были представлены парными и одиночными ацентрическими фрагментами, разрывами хромосом по центромере и единичными кольцевыми хромосомами [11]. Теми же авторами была обследована больная, у которой рак эндометрия возник на фоне синдрома СПКЯ. Уровень aberrаций хромосом в лимфоцитах периферической крови у неё был повышен до 22%. При цитогенетическом исследовании лимфоцитов периферической крови её сестры, также страдающей СПКЯ, но без рака эндометрия, уровень хромосомных aberrаций был повышен до 10% .

Ранее нами было проведено исследование хромосомных aberrаций у пациентов с раком эндометрия, частота хромосомных aberrаций составила $20,5 \pm 2,0\%$ (без учета онкоотягощенности) [12]. Среди aberrаций хроматидного типа в группе пациенток с АЭ чаще всего встречались хроматидные разрывы и ахроматиновые пробелы. У некоторых пациенток были найдены кольцевые хромосомы. Aberrации хромосомного типа включали в себя дицентрики, парные ацентрические фрагменты и делеции. Клетки с аномалиями кариотипа в группе больных с АЭ включали анеуплоидные и тетраплоидные клетки. Анеуплоидные клетки были представлены метафазами с кариотипом от 45 до 48 хромосом и часто имели в своем составе сверхчисленные маркерные хромосомы. Также встречались клетки с аномалиями кариотипа и с aberrациями хромосом одновременно. Частота анеуплоидных клеток в подгруппах пациенток с ОСО была достоверно выше ($10,1 \pm 3,4\% - 23,3 \pm 7,3\%$), чем без такового ($2,7 \pm 0,4\% - 12,7 \pm 4,5\%$) ($p < 0,05$). В группе пациенток без ОСО чаще всего встречались ахроматиновые пробелы, потери отдельных хромосом и сверхчисленные маркерные хромосомы. Тогда как в группе пациенток с ОСО частой находкой были единичные делеции и хромосомные обмены, а также полиплоидные клетки (ПК) в большом количестве. При анализе ПРЦ и ПК в разных группах пациенток оказалось, что ПРЦ наблюдается не во всех группах пациенток, а только в группах с ММ и ЖКГЭ+ММ с семейной онкоотягощенностью. Возможно, ПРЦ каким-то образом связано с ММ с семейной онкоотягощенностью.

Больше всего хромосомных aberrаций найдено у пациенток с АЭ. Хромосомы 21, 22, 4, 5 чаще других принимали участие в хромосомных перестройках и анеуплоидии, также ХН коснулась 1, 2, 18, 19, X – хромосом. Хромосомы 21 и 22 чаще всего были потеряны или представлены дополнительными копиями, хромосомам 4 и 5 были присущи aberrации хроматидного типа (хроматидные разрывы и ахроматиновые пробелы). Хромосомы 1, 2 и X также имели хроматидные разрывы и ахроматиновые пробелы, а 18 и 19 хромосомы или были потеряны, или были представлены в клетках дополнительной копией. Перестройки в хромосомах 1, 2, 4, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 21, моносомию по 21-й хромосоме, тетраплоидию чаще всего находят в опухолевых клетках эндометрия [13].

У пациенток с ММ были выявлены другие хромосомные aberrации. При анализе отдельных хромосомных aberrаций в группе пациенток с ОСО, были выявлены такие аномалии: $delX(q2.2-q2.8)$, $12p-$; $6p-$, а также моносомии и трисомии по таким хромосомам: 3, 12, 14, 15, 18, 22. В группе пациенток без ОСО найдены такие aberrации: $2q+;5q-$; $7p-$; моносомии и трисомии по хромосомам 3, 4, 5, 7, 8, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 22. Большинство найденных aberrаций хромосом в лимфоцитах периферической крови у больных ММ коррелирует с такими aberrациями, которые были найдены в опухолях [14].

Найдено 29 фрагильных сайтов хромосом (ФСХ), 26 ФСХ относятся к общим фрагильным сайтам (индуцируются мутагенами), 3 ФСХ являются редкими (индуцируются дефицитом фолатов). ФСХ выявлено во всех исследуемых группах пациенток кроме больных с ММ и здоровых женщин. Не всегда удавалось точно определить расположение фрагильного сайта, поэтому такие регионы хромосомной ломкости, как $1q2.5-3.1$, $2q2.2-2.3$, $2p1.5-2.2$, $4q2.8-3.1$, $7q3.1-3.2$, $10q2.5-2.6$, $13q2.1-2.2$ могут содержать несколько фрагильных сайтов (рис. 3).

Чаще всего в большом количестве встречались такие ФСХ: 1p3.3-3.4, 1q2.4-3.1, 2q2.4-3.1, 2q3.3-3.5, 4q1.5, 5q1.4, 5q2.3-3.1, 10q2.5. У пациенток с АГЭ наблюдалось увеличение количества и спектра ФСХ. Некоторые ломкие сайты выявлялись в большом количестве во всех группах пациенток с диагнозами АГЭ и АЕЭ: 1q2.4-3.1; 2q2.4-3.1; 4q2.5-3.1; 5q2.3-3.2. Наиболее широкий спектр и большое количество ФСХ найдено у пациенток с диагнозом АЭ. Ранее нами были представлены результаты исследования хрупких сайтов хромосом у больных с раком эндометрия [15]. Исследования ФСХ в группах пациенток с различными формами гиперплазии и рака эндометрия позволяет понять, на каком этапе развития заболевания появляются ФСХ.

Полученные результаты указывают на корреляцию широты спектра ФСХ с тяжестью протекания патологического процесса. При анализе спектра и частоты встречаемости ФСХ у больных неопластическими процессами матки, наиболее часто наблюдалась хрупкость в регионах 2q2.4-3.1 (14,85%), 1q2.4-3.1 (7,74%), 4q2.5-3.1 (6,98%), 5q2.3-3.2 (6,98%), 1p3.2-3.4 (6,2%), 3q2.4-3.1 (6,17%) (рис.3).

Многие из выявленных ФСХ, совпадают или локализованы возле онкогенов и протоонкогенов, которые принимают участие в возникновении, прогрессии рака эндометрия или являются обуславливающими его возникновение (табл.2). Неоднородные молекулярные и хромосомные изменения под влиянием различных факторов (химические и физические канцерогены, онкогенные вирусы) наиболее часто возникают в общих и редких ломких локусах хромосом, что проявляется большим количеством структурных нарушений в последних. Именно в ломких участках хромосом локализуется большинство онкогенов, экспрессируемых в различных опухолях. Последовательности ДНК- и РНК-содержащих вирусов также интегрируются в геном клеток чаще всего во хрупкие регионы [7].

Мутации в генах репарации PMS1, MSH6/GTBP, MSH2, COCA, LCFS2, BRCA2, BRCA3 выявляются при наследственных синдромах Tuir-Morre, Lynch, Cowden, раке молочных желез. В регионах расположения этих генов были найдены хрупкие сайты хромосом у некоторых больных неопластическими процессами матки. Гены, которые экспрессируются в опухоли при РЭ находятся в найденных ФСХ (GNRHR2, COX-1, COX-2, hCDC4, HER2/neu). В регионах ФСХ также находятся много генов, которые принимают участие в онкогенезе при РЭ: гены ферментов детоксикации (GSTM1), гены контроля клеточного цикла (RAD1, циклин G1), гены межклеточного взаимодействия (кадгерин), гены рецепторов эстрогенов (ER1). Также в этих регионах находятся онкогены и опухолевые супрессоры, которые принимают участие в онкогенезе неопластических процессов (TNFRSF1B, NRAS, TNFAIP6, RASSF6, RET).

У пациенток с неопластическими процессами матки наблюдаются заболевания, обуславливающие развитие метаболического синдрома, это сахарный диабет, гипертония, ожирение, заболевания сердечно-сосудистой системы, а также СПКЯ. Многие из известных генов, которые отвечают за развитие этих заболеваний также находятся в регионах ФСХ: это гены, которые отвечают за развитие наследственных форм ожирения (HCHOLA3, CLF, APOA2, PCSK1, LEP, GYS2), синдрома поликистозных яичников (HSD3B2, FST), диабета (SLC2A1(GLUT1), SORBS1, IRS2, HNF4A, GPD2, DDM8, PNHG4), гипертонии

(GCCR, AGTR1, НУТ4, СУР8, селектин Е), сердечно-сосудистой патологии (SORT1, TNFSF4, CHDS3)(табл.2).

Виявлены ФСХ, которые могут служить предвестниками развития онкопатологии: 1q2.4-3.1; 2q2.4-3.1; 4q2.5-3.1; 5q2.3-3.2. В этих регионах находятся гены, которые принимают участие в развитии разных форм неопластических процессов матки и экстрагенитальной патологии.

Мутации генов мис-мач репарации лежат в основе патогенеза как наследственного, так и спорадического эстрогензависимого рака эндометрия. Следствием таких нарушений является микросателлитная нестабильность. Существует много не прямых доказательств непосредственной связи микросателлитной нестабильности и фрагильных сайтов хромосом. Возможно, что тандемные ди- и тринуклеотидные повторы, называемые микросателлитной нестабильностью, формируют трехмерные структуры в хромосоме, которые называют фрагильными сайтами хромосом. Скорее всего, микросателлитная нестабильность ДНК каким-то образом индуцирует фрагильность хромосом. Наличие микросателлитной нестабильности и фрагильности не значит, что у такого человека обязательно должно развиваться онкологическое заболевание, однако вероятность развития онкопатологии у такого человека выше, чем у всех остальных. Наследственная онкоотягощенность повышает риск заболевания раком, но много зависит от факторов окружающей среды. При наличии ФСХ у пациенток с семейной онкоотягощенностью мы можем предположить наличие микросателлитной нестабильности и использовать ФСХ в качестве прогностических маркеров рака эндометрия.

В нашей работе мы сделали попытку объединить цитогенетические исследования с анализом анамнестических и генеалогических данных, которые были получены при помощи опросного метода. Цитогенетические аномалии у пациентов с неопластическими процессами матки можно разделить на две группы: хромосомная нестабильность и фрагильные сайты хромосом. Хромосомная нестабильность лимфоцитов периферической крови появляются при самых разнообразных заболеваниях и не является специфической для онкологических больных. Фрагильные сайты хромосом еще только начинают изучать и о них известно не так много. Известно, что кроме онкологических заболеваний, фрагильные сайты появляются при некоторых неврологических заболеваниях(синдром FRA-X и др.). Виявление общих фрагильных сайтов, которые индуцируются мутагенами, на начальных стадиях развития неоплазий позволит прогнозировать дальнейшее развитие заболевания и своевременно начать лечение.

Цитогенетический метод исследования фрагильных сайтов хромосом отличается от молекулярно-генетических методов тем, что позволяет анализировать целый спектр различных фрагильных сайтов. Комплексное цитогенетическое исследование, которое включает как определение хромосомной нестабильности, так и фрагильных сайтов хромосом, позволяет выделить группы високого риска развития онкопатологии.

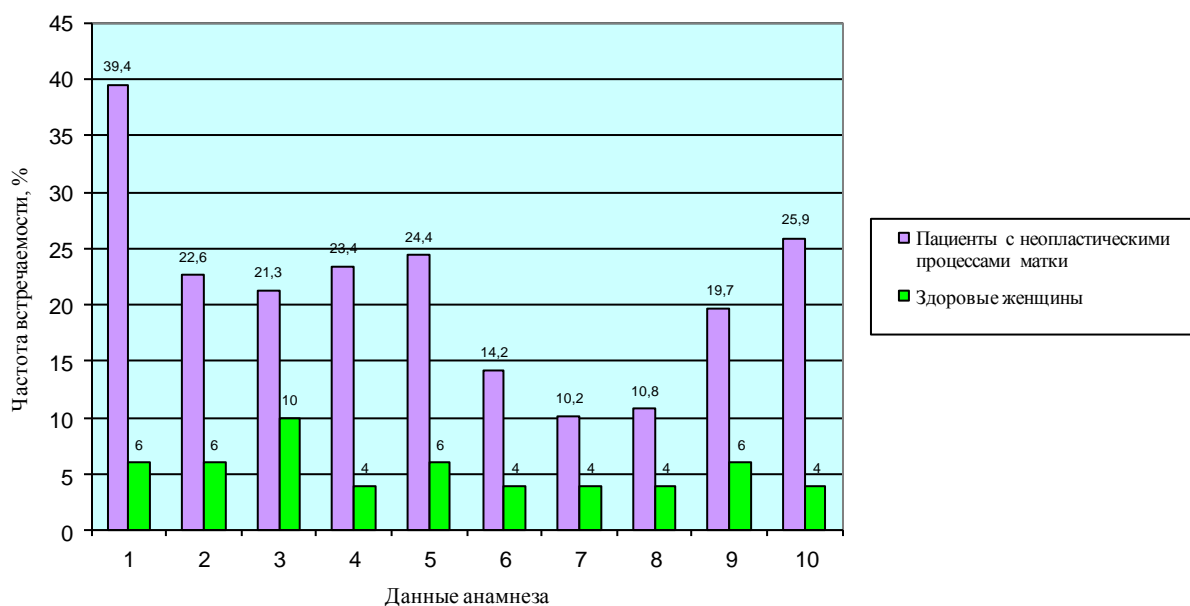
ВЫВОДЫ:

1. Среди экстрагенитальной патологии чаще всего у пациенток встречалась гипертония (19,7%) и ожирение (10,8 %). Каждая четвертая пациентка имела контакт с химическими мутагенами (25,9%).
2. В родословных пациенток с неопластическими процессами матки достоверно чаще ($p < 0,05$), по сравнению с здоровыми женщинами встречались: рак тела матки (10,3%), рак желудочно-кишечного тракта (24,1%), рак молочных желез (9,7%), рак легких (7,3%), миома матки (30,3%). Пациентки с неопластическими процессами матки имеют родственников с заболеваниями «метаболического синдрома»: гипертонию (28,7%), сердечно-сосудистую патологию (27,6%), сахарный диабет (16,9%), ожирение (11,5%).
3. Наибольшее количество aberrантных метафаз было выявлено у пациенток с диагнозами АГЭ и АЭ с отягощенным семейным онкоанамнезом ($32,7 \pm 13,6\%$ и $33,5 \pm 9,8\%$ соответственно), причем в большинстве случаев за счет анеуплоидии (гипердиплоидии) ($22,9 \pm 8,5\%$ и $23,3 \pm 7,3\%$), выявлены полиплоидные клетки и клетки с преждевременным разделением центромер.
4. Выявлено 29 фрагильных сайтов хромосом, 26 из них относят к общим фрагильным сайтам, 3 – редких фрагильных сайта. В контрольной группе и группе пациенток с миомой матки фрагильных сайтов не было найдено.
5. Фрагильные сайты хромосомных регионов 1q2.4-3.1; 2q2.4-3.1; 4q2.5-3.1; 5q2.3-3.2 могут быть использованы в качестве прогностических цитогенетических маркеров при неопластических процессах матки.

REFERENCES

1. Banno K., Kisu I., Yanokura M., et al. Epigenetics and genetics in endometrial cancer: new carcinogenic mechanisms and relationship with clinical practice // Epigenomics. - 2012. - Vol.4.- N 2.- P.147 - 162.
2. Peterson L. M., Kipp B. R., Halling K. C. et al. Molecular Characterization of Endometrial Cancer: A Correlative Study Assessing Microsatellite Instability, MLH1 Hypermethylation, DNA Mismatch Repair Protein Expression, and PTEN, PIK3CA, KRAS, and BRAF Mutation Analysis// Int J Gynecol Pathol.- 2012.- Vol. 10. - P.1001-1009.
3. Gemoll T., Habermann J.K., Lahmann J. et al. Protein profiling of genomic instability in endometrial cancer// Cell Mol. Life Sci. - 2012.-Vol.69. – N 2.-P. 325 - 333.
4. Debatisse M., Le Tallec B., Letessier A. et al. Common fragile sites: mechanisms of instability revisited // Trends Genet. - 2012. – Vol. 28. - N1. - P. 22 - 32.
5. Bartova E. , Galiova G., Legartova S. et al. Genome instability in the context of chromatin structure and fragile sites // Crit Rev Eukaryot Gene Expr.- 2010.-Vol.20. – N 3. - P.181 - 94.
6. Saxena A.K. Are fragile sites "hot-spots": a causative factor in tumor biology// J.Exp.Ther.Oncol.-2012.- Vol.10.- N 1. - P. 19 - 29.
7. Zaporozhan V.N., Kordyum V.A., Bazhora Y.I. et al. Genetic medicine.-Odessa: Odessa State Medical University, 2008. – 431 p. (Rus.)
8. Zakharov A.F., Benyush V.A., Kuleshov N.P., Baranovskaya L.I. Human chromosomes. Atlas.- Moscow: Medicine, 1982. – 263 p.(Rus.)
9. Mitelman F. ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. - Basel: Karger, 2005.- P. 1 - 115.

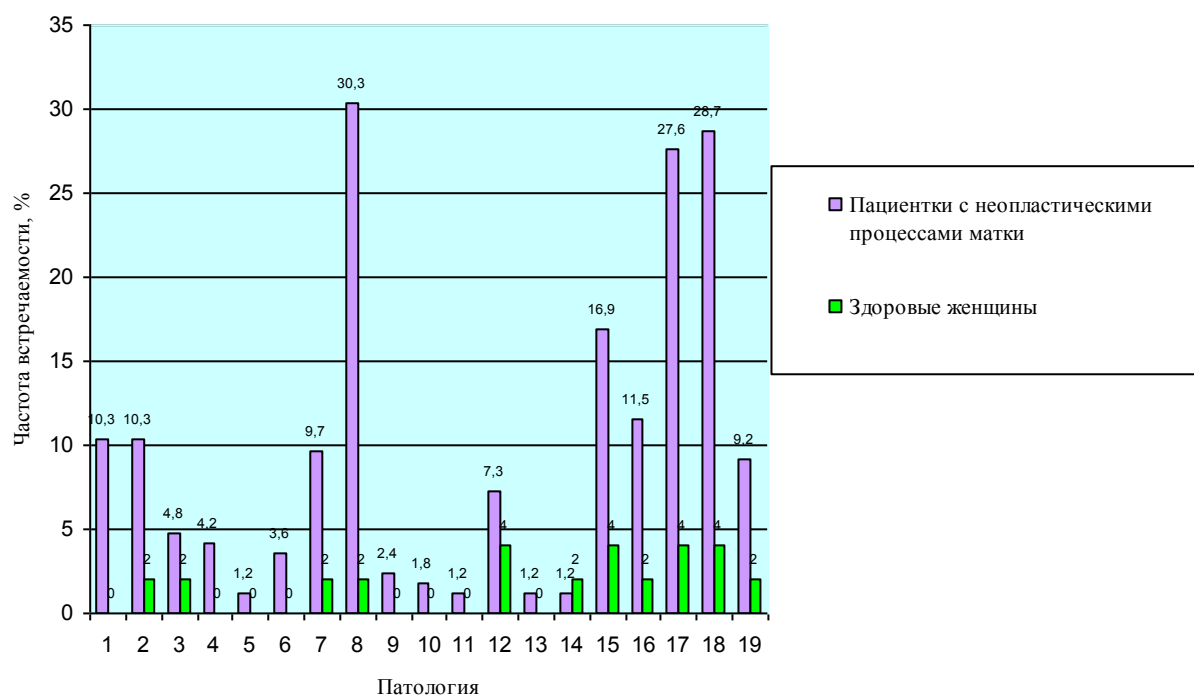
10. Zaporozhan V. N., Pishak V. P., Peresunko O. P. Genetics of the tumours of the female reproductive organs.- Odessa: Odessa State Medical University, 2004. – 331 p. (Ukr.)
11. Polishchuk L. Z., Nesina I. P. Structural chromosome aberrations in lymphocytes peripheral blood in patients with precancer and cancer of endometrium //Cytology and genetics.- 1995.-Vol. 29.- N 3. - P. 17 - 24 (Rus.)
12. Dubinina V. G., Bobrova V. N., Bubnov V.V. The spontaneous instability chromosomes in lymphocytes peripheral blood in patients with cancer of endometrium //Medico-social problems of a family.- 2006.-Vol.11, №4. - P. 9 -15 (Rus.)
13. Levan K., Partheen K., Osterberg L., Helou K., Horvath G. Chromosomal alterations in 98 endometrioid adenocarcinomas analyzed with comparative genomic hybridization //Cytogenet.Genome Res.-2006.- Vol.115. – N 1. - P.16-22.
14. Hodqe J. C., Morton C. C. Genetic heterogeneity among uterine leiomyomata: insights into malignant progression //Hum.Mol.Genet.-2007.- Vol.16.- N 1.- P. 7 - 13.
15. Dubinina V. G., Bobrova V. N., Bubnov V.V. Fragile sites of chromosomes in lymphocytes peripheral blood in patients with cancer of endometrium // Odessa Medical Journal. - 2005. - № 4. - P. 56 - 60 (Rus.)



- | | |
|-----------------------------------|--------------------------------|
| 1- Искусственные аборты(3-12); | 2- Патология молочных желез; |
| 3- Патология яичников; | 4- Патология шейки матки; |
| 5- Прием гормональных препаратов; | 6- Патология щитовидной железы |
| 7- Сахарный диабет; | 8- Ожирение |
| 9- Гипертония; | 10- Контакт с мутагенами |

Рис. 1. Особенности анамнеза у пациенток с неопластическими процессами матки

(Характеристика анамнестических, генеалогических и цитогенетических особенностей пациенток с неопластическими процессами матки Запорожан В.Н., Боброва В.Н.)



- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------|
| 1 - Рак тела матки; | 2 - Рак желудка; |
| 3 - Рак печени; | 4 - Рак кишечника; |
| 5 - Рак пищевода; | 6 - Рак поджелудочной железы; |
| 7 - Рак молочных желез; | 8 - Миома матки; |
| 9 - Рак предстательной железы; | 10 - Рак мозга; |
| 11 - Лейкозы; | 12 - Рак легких; |
| 13 - Рак челюсти; | 14 - Рак почек; |
| 15 - Сахарный диабет; | 16 - Ожирение; |
| 17 - Сердечно-сосудистая патология; | 18 - Гипертоническая болезнь; |
| 19 - Патология щитовидной железы. | |

Рис. 2. Частота встречаемости заболеваний в родословных пациенток с неопластическими процессами матки и здоровых женщин (Характеристика анамнестических, генеалогических и цитогенетических особенностей пациенток с неопластическими процессами матки Запорожан В.Н., Боброва В.Н.)



Рис. 3. Спектр и частота встречаемости фрагильных сайтов хромосом у больных неопластическими процессами матки.
 (Характеристика анамнестических, генеалогических и цитогенетических особенностей пациенток с неопластическими процессами матки Запорожан В.Н., Боброва В.Н.)

Таблица 1

Цитогенетические нарушения в лимфоцитах периферической крови у больных с
неопластическими процессами матки

Номер группы	Группа (число пациенток)	ОСО	Аберрантные клетки, %	Частота аберраций хромосомного типа, %	Частота аберраций хроматидного типа, %	Частота анеуплоидии (гипердиплоидии), %
1.	Здоровые(50)	-	1,8±0,4	0,8±0,2	0,20±0,05	0,8±0,15
2.	ЖКГЭ+ММ (17) ⁵	+	16,9± 6,2	6,0±2,2	0,69±0,05	10,1±3,4
3.	ЖКГЭ+ММ (41)	-	6,4±4,1	2,5±0,3	0,12±0,02	2,7±0,4
4.	ММ(15) ²	+	20,4±6,7	2,6±1,5	2,01±0,80	15,7±4,2
5.	ММ(10) ⁶	-	17,4±7,3	4,8±0,7	1,10±0,05	11,4±2,3
6.	АГЭ(7) ¹	+	32,7±13,6	7,4±3,0	2,40±1,30	22,9±8,5
7.	АГЭ(13) ⁷	-	16,1±5,5	3,7±0,5	0,86±0,10	11,5±3,1
8.	АЭ(13) ^{2,3,4}	+	33,5± 9,8	7,1±2,8	3,20±1,40	23,3±7,3
9.	АЭ(13) ⁸	-	20,4±7,1	4,5±0,5	3,34±0,40	12,7±4,5

¹различия между группами ЖКГЭ+ММ(17) и АГЭ(7) достоверны $p < 0,05$

²различия между группами ЖКГЭ+ММ(17) и АЭ(13) достоверны $p < 0,01$

³различия между группами ММ(15) и АЭ(13) достоверны $p < 0,01$

⁴различия между группами ЖКГЭ+ММ(17) и АЭ(13) достоверны $p < 0,05$

⁵различия между группами Здоровые(50) и ЖКГЭ+ММ (17) достоверны $p < 0,05$

⁶различия между группами Здоровые(50) и ММ(10) достоверны $p < 0,05$

⁷различия между группами Здоровые(50) и АГЭ(13) достоверны $p < 0,05$

⁸различия между группами Здоровые(50) и АЭ(13) достоверны $p < 0,05$

Таблица 2*

Фрагильные сайты, встречающиеся у больных неопластическими процессами матки, и гены из этих регионов

№	Ломкий хромосомный регион	Известные участвующие в развитии неопластических процессов матки гены-кандидаты, в развитии	Функция гена
1.	1p2.1	SORT1	Ген липопротеина низкой плотности, ассоциирован с инфарктом миокарда, коронарной недостаточностью
2.	1q1.4	GNRHR2	Ген рецептора гонадотропина, экспрессируется в опухоли при раке эндометрия
3.	1q2.2	APOA2	Ген семейной гиперхолестеролемии, ассоциирован с ожирением, атеросклерозом
4.	1q2.5-4.1	COX2 Селектин E TNFSF4	Ген циклооксигеназы-2, экспрессируется в опухоли при раке эндометрия Ассоциирован с регуляцией кровяного давления, атеросклерозом, нефропатией Ген фактора некроза опухоли, ассоциирован с инфарктом миокарда
5.	1p3.3-3.4	SLC2A1(GLUT1) TNFRSF1B HCHOLA3	Ген переносчика глюкозы 1, ассоциирован с сахарным диабетом Ген рецептора фактора некроза опухолей, опухолевый супрессор Ген гиперхолестеролемии, ассоциирован с ожирением, атеросклерозом
6.	1p1.2	HSD3B2 NRAS GSTM1	Ген 3β-гидроксистероид дегидрогеназы, экспрессируется при СПКЯ Ген контроля клеточного роста и дифференциации, опухолевый супрессор Ген ферментов второй фазы детоксикации
7.	1q1.1		
8.	2q3.3-3.5		
9.	2q2.2-2.3	TNFAIP6	Ген фактора некроза опухолей, опухолевый супрессор
10.	2q2.4-3.1	PMS1 COX-1 GPD2	Ген мис-мач репарации, экспрессируется при наследственном раке прямой кишки Ген циклооксигеназы 1, экспрессируется в опухоли при раке прямой кишки и эндометрия Ген глицеролфосфатдегидрогеназы, ассоциирован с диабетом 2 типа
11.	2p1.5-2.2	MSH6/GTBP CYP1B1 COCA MSH2	Ген мис-мач репарации, экспрессируется при раке прямой кишки и раке эндометрия Ген цитохромаксидазы 450, ассоциирован с раком эндометрия Ген, ассоциирован с синдромом Линча Ген мис-мач репарации, экспрессируется при синдроме Туиг-Морге
12.	3q2.6-27	AGTR1	Ген рецептора ангиотензина, ассоциирован с гипертонией
13.	4q1.5	RASSF6	Опухолевый супрессор
14.	4q2.5-3.1	hCDC4	Ген циклин-зависимой киназы-2, экспрессируется в опухоли при раке эндометрия
15.	5q2.1	PCSK1 RAD1 FST	Ассоциирован с ожирением Ген ДНК-репарирующей экзонуклеазы, контроль клеточного цикла Ген фоллистатина, ассоциирован с СПКЯ
16.	5q2.3-3.2	GCCR CCNG1	Ген глюкокортикоидного рецептора, ассоциирован с гипертонией Ген циклина G1, контроль клеточного цикла
17.	5p1.4	ER1 Гены белков семейства кадгеринов	Ген эстрогенового рецептора-1, ассоциирован с эстрогензависимым раком эндометрия Межклеточные взаимодействия, ассоциирован с раком эндометрия
18.	6q2.6	DDM8	Ассоциирован с инсулинзависимым диабетом
19.	7q3.1-3.2	LEP PBHG4	Ассоциирован с ожирением Ассоциирован с диабетом 2 типа
20.	9q1.1	FHCA	Ген гиперхоланемии, ассоциирован с ожирением
21.	10q1.1	RET	Онкоген
22.	10q2.5-2.6	PTEN CYP17A1 SORBS1	Регулирует деление клеток, их жизнеспособность, апоптоз и миграцию, ассоциирован с раком эндометрия, синдромом Cowden Ген цитохрома P450, ассоциирован с СПКЯ Ассоциирован с диабетом 2 типа
23.	12q1.1	GYS2 HYT4	Ген гликогенсинтетазы, ассоциирован с ожирением Экспрессируется при гипертонии
24.	13q1.3	BRCA2	Ген наследственного рака груди 2 типа
25.	13q2.1-2.2	CLF BRCA3	Ген холестеролснижающего фактора, ассоциирован с ожирением, атеросклерозом Ген наследственного рака груди 3 типа
26.	13q3.2	IRS2	Ген субстрата инсулинового рецептора, ассоциирован с диабетом
27.	17q2.2	ERBB2(HER2/neu)	Регуляция клеточного роста и дифференциации, экспрессируется в опухоли при раке эндометрия
28.	18q1.1	LCFS2 CDH2	Экспрессируется при синдроме Линч 2 Ген кадгерина, ассоциирован с раком эндометрия
29.	20p1.1	HNF4A CYP8	Ген нуклеарного фактора гепатоцитов, ассоциирован с инсулиннезависимым диабетом Ген простагландин-12-синтетазы, ассоциирован с гипертонией
30.	Xq2.3-2.4	CHDS3	Ассоциирован с коронарной недостаточностью

в таблице использована информация электронных баз данных OMIM(Online Mendelian Inheritance on Men).