

УДК 618.14-018-02-092-07-085
DOI 10.23648/UMBJ.2018.30.14044

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ЭСТРОГЕНОВЫХ И ПРОГЕСТЕРОНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ЭНДОМЕТРИИ ЖЕНЩИН, ПРИНИМАЮЩИХ ТАМОКСИФЕН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

И.М. Ордянец¹, Е.В. Дмитриева¹, А.А. Куулар¹,
Д.С. Новгинов², Ф.М. Есенева²

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия;

²ГБУЗ «ГКБ им. братьев Бахрушиных ДЗМ», г. Москва, Россия

e-mail: kafedra-aig@mail.ru

Цель работы – улучшение диагностики болезней эндометрия при лечении опухоли молочной железы тамоксифеном в постменопаузе.

Материалы и методы. Обследовано 140 женщин со структурными изменениями эндометрия в постменопаузе, из них 70 пациенток, не принимавших тамоксифен (I группа), и 70 пациенток, принимавших тамоксифен (II группа). В дальнейшем все пациентки были разделены на группы в зависимости от морфологической характеристики эндометрия. Была разработана программа исследования, предусматривающая клинико-статистический анализ, сонографическое исследование органов малого таза, гистероскопию с РДВ слизистой матки, морфологическое исследование эндометрия, исследование уровня экспрессии ER и PR, соотношение их изоформ в эндометрии, статистическую обработку полученных результатов.

Результаты. Железистая гиперплазия эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, характеризуется высокой экспрессией рецепторов к стероидным гормонам как в железах, так и в строме эндометрия (эстрогеновых рецепторов в эпителии желез – $281,0 \pm 9,7$; в строме – $262,3 \pm 8,8$; прогестероновых рецепторов – $289,4 \pm 10,2$ и $259,6 \pm 7,9$ соответственно), в отличие от железисто-кистозной атрофии эндометрия (эстрогеновых рецепторов в эпителии желез – $44,9 \pm 5,3$; в строме – $57,2 \pm 7,1$; прогестероновых рецепторов – $18,5 \pm 4,6$ и $14,2 \pm 3,8$ соответственно). На основании полученных результатов иммуногистохимического исследования ткани эндометрия был проведен ROC-анализ, выявивший пороговые значения уровня экспрессии ER в эпителии и строме – 167,6 и 123,3 соответственно; PR в эпителии и строме был равен 199 и 70 соответственно.

Выводы. Подводя итог, можно заключить, что перспективными для научного поиска молекулярных детерминант пролиферативных процессов эндометрия являются разработанные критерии оценки риска для женщин с опухолями молочной железы, принимающих тамоксифен в постменопаузе, которые позволили повысить точность диагностики болезней эндометрия при лечении и снизить частоту неоправданных оперативных вмешательств в 2 раза.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, тамоксифен, эстрогеновые рецепторы, прогестероновые рецепторы, постменопауза.

Введение. Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (FDA) в 1977 г. впервые рекомендовало тамоксифен для лечения опухолей молочной железы у женщин в постменопаузе. Позднее препарат был зарегистрирован еще в 110 странах. В течение последних 25 лет FDA постоянно уточняло показания к применению тамоксифена. С 1990 г. препарат рекомендован для адьювантной те-

рапии ER+-опухолей молочной железы у женщин в пре- и постменопаузе. Вопросы, касающиеся использования тамоксифена и гинекологических осложнений, стали волновать врачей еще в 1985 г., когда впервые было предположено существование связи между приемом антиэстрогенных препаратов, конкурентно ингибирующих периферические эстрогеновые рецепторы (ER), и возникновением рака эндометрия (РЭ) [1].

Все известные антиэстрогены, являясь частичными агонистами эстрадиола, могут вызывать следующие изменения: увеличение частоты гиперпластических процессов в эндометрии; формирование очагов аденомиоза; увеличение вероятности развития РЭ; увеличение размеров матки за счет миоматозных узлов [2–5].

Неоспоримые преимущества длительно (5 и более лет) применения тамоксифена доказаны в широкомасштабных исследованиях 30 тыс. пациенток: отмечены уменьшение смертности на 26 %, снижение рецидивирования заболевания и частоты возникновения рака в противоположной молочной железе на 47 % [6]. Ряд исследователей отмечали сокращение рецидивов на 27 % и уменьшение риска смертельного исхода у пациенток до 55 лет на 17 %, а после 55 лет – на 36 % [7]. В то же время ретроспективные и наблюдательные исследования доказали, что у женщин в постменопаузе, принимавших антиэстрогенные препараты, риск развития полипов цервикального канала и эндометрия, гиперплазии и рака эндометрия возрастает в два раза [8]. Необходимость ранней диагностики и динамического наблюдения состояния эндометрия у пациенток, принимающих тамоксифен, на сегодняшний день остается предметом обсуждения [9–12].

В настоящее время перспективным научным направлением остается поиск причин неэффективности гормонотерапии, среди которых рассматриваются различные варианты формирования резистентности к тамоксифену. Изучается структура рецепторов эстрогенов, а также факторы, сопряженные с их активацией [13–15].

Противоречивость исследований по данной проблеме, сложившаяся порочная практика назначения гистероскопии и раздельного диагностического выскабливания (РДВ) слизистой матки с целью диагностики структурных изменений эндометрия у женщин, принимающих тамоксифен при лечении опухоли молочной железы в постменопаузе, обуславливают необходимость дальнейших научных изысканий. Изучение молекулярных детерминант пролиферативных процессов эндометрия требует выработки научно обос-

нованных критериев, повышающих точность и снижающих частоту неоправданных оперативных вмешательств [16].

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

Материалы и методы. Обследовано 140 женщин со структурными изменениями эндометрия в постменопаузе, из них 70 пациенток, не принимавших тамоксифен (I группа), и 70 пациенток, принимавших тамоксифен (II группа). В дальнейшем все пациентки были разделены на группы в зависимости от морфологической характеристики эндометрия.

В соответствии с целью и задачами был исследован уровень экспрессии ER и PR, соотношение их изоформ в эндометрии всех 140 женщин.

Для иммуногистохимического (ИГХ) исследования из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3 мкм, которые монтировали на высокоадгезивные стекла (Polysine Slides, «Menzel GmbH & Co KG», Федеративная Республика Германия). В качестве первичных антител использовали моноклональные кроличьи антитела против anti-PR (1E2); anti-ER (SP1) (Ventana). Депарафинирование, регидратацию, демаскировку антигена, окраску производили при помощи специализированной автоматизированной системы Ventana BenchMark® ULTRA (США). Оценку ИГХ-реакции производили полуколичественным методом, используя стандартный подход – подсчет числа клеток, экспрессирующих маркер на 100 клеток в десяти полях зрения. Результаты ИГХ-реакции для ER и PR оценивали в баллах по шкале Allred (сумма баллов количества иммуноокрашенных клеток и интенсивности окрашивания).

Для того чтобы оценить прогностическую эффективность метода ИГХ, нами был произведен ROC-анализ (Receiver Operating Characteristic curve – операционные характеристические кривые наблюдателя).

Результаты и обсуждение. При железисто-кистозной атрофии эндометрия у женщин с опухолью молочной железы, принимавших

тамоксифен в постменопаузе, выявлен слабый равномерный уровень экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону в эпителии желез. Доля ядер, экспрессирующих ER в железистом эпителии, составила 88,6 % (44,9±5,3), в клетках стромы – 29,3 % (57,2±7,1), а доля ядер, экспрессирующих PR в железистом эпителии, составила 81,2 % (18,5±4,6), в клетках

стромы – 17,4 % (14,2±3,8). В то время как при гиперпластических процессах эндометрия доля ядер, экспрессирующих ER в железистом эпителии, составила 83,8 % (281,0±9,7), в клетках стромы – 59,3 (262,3±8,8), а доля ядер, экспрессирующих PR в эпителии желез, составила 66,9 % (289,4±10,2), в клетках стромы – 52,7 % (259,6±7,9) (табл. 1).

Таблица 1

Экспрессия рецепторов к стероидным гормонам

Морфологическая картина	I группа					II группа				
	N	Рецепторы к ER (H-score, баллы)		Рецепторы к PR (H-score, баллы)		N	Рецепторы к ER (H-score, баллы)		Рецепторы к PR (H-score, баллы)	
		Эпителий желез	Строма	Эпителий желез	Строма		Эпителий желез	Строма	Эпителий желез	Строма
ЖКАЭ	-	-	-	-	-	229	44,9±5,3	57,2±7,1	18,5±4,6	14,2±3,8
ЖГЭ	48	282,0±6,1	261,5±4,3	261,8±4,5	252,9±3,3	114	281±9,7*	262,3±8,8*	289,4±0,2	259,6±7,9
ПЭ	222	231,7±4,2	230,4±2,8	210,5±8,2	212,2±6,7	227	277,4±10,6	256,6±9,4	272,7±10,1	194,8±8,3

Примечание. * – статистически значимые различия между пациентками, принимавшими и не принимавшими тамоксифен (p<0,05).

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

Прогностическая ценность площади под кривой была наибольшей для показателей уровня экспрессии рецепторов к эстрогену в железистом эпителии: AUC=0,928±0,100. Чувствительность метода составила 87,37 %, специфичность – 86,21 %, пороговое значение cut off равно 167,6. Площадь под кривой для показателей ER в эндометриальной строме – AUC=0,857±0,100. Чувствительность и специфичность данного метода в области порогового значения составила 85,4 и 72,41 % соответственно, пороговое значение cut off равно 123,3.

Площадь под ROC-кривой экспрессии рецепторов к прогестерону в железистом эпителии составила AUC=0,902±0,100. Пороговое значение в точке cut off – 199,00 (H-score, баллы). Чувствительность и специфичность метода составили 82,93 и 93,1 % соответственно.

Площадь под ROC-кривой показателей уровня экспрессии PR в эндометриальной строме – AUC=0,901±0,100, точка cut off равна 70. Чувствительность и специфичность метода составили 85,37 и 86,21 % соответственно.

Полученные нами результаты иммуногистохимии согласуются с данными исследований других авторов [13], которые отмечали, что действие тамоксифена развивается в двух направлениях. В качестве первого рассматривали классический геномный путь активации, который осуществляется посредством взаимодействия эстрадиола с активационным центром AF-2 (activating functions – AF-2) рецептора. На эту же мишень воздействует и тамоксифен, являясь конкурентным антагонистом эстрадиола. На основании полученных нами результатов можно предположить, что железисто-кистозная атрофия эндометрия (41,4 %) обусловлена данным путем активации.

Реализация неклассического геномного пути активации рецепторов эстрогенов-альфа (ER α) происходит под воздействием ряда ростовых факторов (IGF-1, EGFR, Her-2/neu,

TGF- β), способных активировать домен AF-1 ER α , который не блокируется тамоксифеном, что может быть связано с развитием гиперпластических процессов эндометрия (58,6 %).

Заключение. Морфологическими особенностями эндометрия женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, являются простая железистая гиперплазия эндометрия без атипии (20 %), полипоз эндометрия (38,6 %) и железисто-кистозная атрофия эндометрия (41,4 %). При простой железистой гиперплазии эндометрия без атипии и полипозе эндометрия отмечена умеренная экспрессия рецепторов к эстрогенам и прогестерону, в то время как при железисто-кистозной атрофии эндометрия выявлена низкая экспрессия рецепторов.

Для повышения точности диагностики гиперпластических процессов эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимавших тамоксифен в постменопаузе, морфологическое исследование необходимо дополнять иммуногистохимическим методом определения эстрогеновых и прогестероно-

вых рецепторов. Разработанный комплекс диагностических мероприятий, включающий на первом этапе обследования ультразвуковое исследование органов малого таза, аспирационную биопсию эндометрия под контролем офисной гистероскопии, а на втором – морфогистохимическое исследование рецептивности тканей эндометрия, эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, позволит улучшить дифференциальную диагностику заболеваний эндометрия и снизить число неоправданных оперативных вмешательств.

Таким образом, выбор лечебной тактики при гиперпластических процессах эндометрия следует осуществлять с учетом иммуногистохимической характеристики рецепторного статуса эндометрия (эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эпителии и строме). На наш взгляд, перспективными для дальнейшего научного поиска направлениями являются разработка других критериев риска и прогноз развития структурных изменений эндометрия у женщин с опухолями молочной железы, принимающих антиэстрогенные препараты.

Литература

1. Killackey M.A. Endometrial adenocarcinoma in breast cancer patients receiving antiestrogens. *Cancer Treat Rep.* 1985; 69: 237–238.
2. Демакова Н.А., Алтухова О.Б., Пахомов С.П., Орлова В.С. Молекулярно-генетические механизмы развития гиперпластических процессов эндометрия. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Сер. Медицина. Фармация.* 2014; 4: 177–182.
3. Chia K., Wolff A.C. With maturity comes confidence: EBCTCG tamoxifen update. *Lancet.* 2011; 378 (9793): 747–749.
4. Jindal A., Mohi M.K., Kaur M., Kaur B., Singla R., Singh S. Endometrial evaluation by ultrasonography, hysteroscopy and histopathology in cases of breast carcinoma on Tamoxifen therapy. *Journal of mid-life health.* 2015; 6 (2): 59–65.
5. Hu R., Hilakivi-Clarke L., Clarke R. Molecular mechanisms of tamoxifen-associated endometrial cancer. *Oncology Letters.* 2015; 9 (4): 1495–1501.
6. Мамиконян И.О. Тактика ведения больных с патологией эндометрия на фоне адъювантной терапии рака молочной железы в постменопаузе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2015. 19.
7. Паталяк С.В. Эффективность гормонотерапии у пациенток с люминальным типом рака молочной железы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск; 2014. 18.
8. Слонимская Е.М., Вторушин С.В., Бабышкина Н.Н., Паталяк С.В. Роль морфологических и генетических особенностей строения рецепторов эстрогенов альфа в развитии резистентности к эндокринотерапии тамоксифеном у пациенток с люминальным раком молочной железы. *Сибирский онкологический журнал.* 2014; 3: 40–44.
9. Dees E.C., Carey L.A. Improving Endocrine Therapy for Breast Cancer: It's Not That Simple. *Journal of Clinical Oncology.* 2013; 31 (2): 171–173.
10. Obiorah I., Jordan V.C. Progress in endocrine approaches to the treatment and prevention of breast cancer. *Maturitas.* 2011; 70 (4): 315–321.

11. Sestak I., Cuzick J. Preventive therapy for breast cancer. *Current Oncology Reports*. 2012; 14 (6): 568–573.
12. Lindahl G., Saarinen N., Abrahamsson A., Dabrosin C. Tamoxifen, flaxseed and the lignan enterolactone increase stroma- and cancer cell-derived IL-1Ra and decrease tumor angiogenesis in estrogen-dependent breast cancer. *Cancer Res*. 2011; 71 (1): 51–60.
13. Dalbert D.B., Rodríguez de la Peña M.M., Figuered A., Mural J., Bartt O., Subiela R., Rossi C., Bazán G. Tamoxifen and endometrial disease in patients with breast cancer. *Medicina (B Aires)*. 2013; 72 (2): 97–103.
14. Jordan V.C. Linking estrogen-induced apoptosis with decreases in mortality following long-term adjuvant tamoxifen therapy. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 2014; 106 (2): 296–301.
15. Shoda T., Kato M., Harada R., Fujisato T., Okuhira K., Demizu Y., Inoue H., Naito M. Synthesis and evaluation of tamoxifen derivatives with a long alkyl side chain as selective estrogen receptor down-regulators. *Bioorganic and Medical Chemistry*. 2015; 23 (13): 3091–3096.
16. Thanapparasr D. Targeted endometrial cancer therapy as a future prospect. *Womens Health (Lond)*. 2013; 9 (2): 189–199.

POSTMENOPAUSAL ESTROGEN AND PROGESTERONE EXPRESSION LEVEL IN ENDOMETRIUM OF FEMALES UNDER TAMOXIFEN

I.M. Ordiyants¹, E.V. Dmitrieva¹, A.A. Kuular¹, D.S. Novginov², F.M. Eseneeva²

¹Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), Moscow, Russia;

²City Clinical Hospital named after Brothers Bakhrushins, Moscow, Russia

e-mail: kafedra-aig@mail.ru

The aim of the work is to improve the diagnosis of endometrial diseases while treating breast cancer with tamoxifen in postmenopausal women.

Materials and Methods. We examined 140 postmenopausal women with structural changes in the endometrium; 70 patients were taking tamoxifen (group I) and 70 were not taking tamoxifen (group II). Subsequently, all the patients were divided into groups depending on the morphological characteristics of the endometrium. A research program has been developed that provides for clinical and statistical analysis, sonographic examination of pelvic organs, uterus hysteroscopy, endometrium morphological examination, examination of ER and PR expression level, the ratio of their isoforms in the endometrium, and statistical processing of the results obtained.

Results. Glandular endometrial hyperplasia in women with mammary tumors taking tamoxifen in postmenopause is characterized by high expression of receptors for steroid hormones in both glands and endometrial stroma (281.0±9.7 estrogen receptors in the gland epithelium, 262.3±8.8 estrogen receptors in the stroma; 289.4±10.2 progesterone receptors in the gland epithelium and 259.6±7.9 progesterone receptors in the stroma), in contrast to the glandular cystic atrophy of the endometrium (44.9±5.3 estrogen receptors in the gland epithelium, 57.2±7.1 estrogen receptors in the stroma; 18.5±4.6 progesterone receptors in the gland epithelium and 14.2±3.8 progesterone receptors in the stroma). Based on the results of immunohistochemical examination of endometrial tissue, the authors conducted ROC-analysis, revealing threshold values of ER expression level in epithelium and stroma (167.6 and 123.3, respectively); PR in the epithelium and stroma was equal to 199 and 70, respectively.

Conclusion. The developed risk assessment criteria for women with breast cancer taking tamoxifen in postmenopause are rather promising, as they allowed us to increase the diagnostic accuracy of endometrial diseases and twice to reduce the frequency of unjustified surgery.

Keywords: endometrial hyperplasia, tamoxifen, estrogen receptors, progesterone receptors, postmenopause.

References

1. Killackey M.A. Endometrial adenocarcinoma in breast cancer patients receiving antiestrogens. *Cancer Treat. Rep.* 1985; 69: 237–238.
2. Demakova N.A., Altukhova O.B., Pakhomov S.P., Orlova V.S. Molekulyarno-geneticheskie mekhanizmy razvitiya giperplasticheskikh protsessov endometriya [Molecular and genetic mechanisms of endometrial hyperplastic processes]. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Ser. Meditsina. Farmatsiya.* 2014; 4: 177–182 (in Russian).
3. Chia K., Wolff A.C. With maturity comes confidence: EBCTCG tamoxifen update. *Lancet.* 2011; 378 (9793): 747–749.
4. Jindal A., Mohi M.K., Kaur M., Kaur B., Singla R., Singh S. Endometrial evaluation by ultrasonography, hysteroscopy and histopathology in cases of breast carcinoma on Tamoxifen therapy. *Journal of Mid-Life Health.* 2015; 6 (2): 59–65.
5. Hu R., Hilakivi-Clarke L., Clarke R. Molecular mechanisms of tamoxifen-associated endometrial cancer. *Oncology Letters.* 2015; 9 (4): 1495–1501.
6. Mamikonyan I.O. *Taktika vedeniya bol'nyh s patologiy endometriya na fone adyuvantnoy terapii raka molochnoy zhelezy v postmenopauze* [Management of patients with endometrial pathology during adjuvant therapy for breast cancer in postmenopausal women]: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moscow; 2015. 19 (in Russian).
7. Patalyak S.V. *Effektivnost' gormonoterapii u patsientok s lyuminal'nym tipom rakom molochnoy zhelezy* [Effectiveness of hormone therapy in patients with luminal breast cancer]: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Tomsk; 2014. 18 (in Russian).
8. Slonimskaya E.M., Vtorushin S.V., Babyshkina N.N., Patalyak S.V. Rol' morfoloicheskikh i geneticheskikh osobennostey stroeniya retseptorov estrogenov al'fa v razviti rezistentnosti k endokrinoterapii tamoksifenom u patsientok s lyuminantnym rakom molochnoy zhelezy [Morphological and genetic characteristics of estrogen alpha receptor structure in the development of resistance to endocrine therapy with tamoxifen in patients with luminal breast cancer]. *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal.* 2014; 3: 40–44 (in Russian).
9. Dees E.C., Carey L.A. Improving Endocrine Therapy for Breast Cancer: It's Not That Simple. *Journal of Clinical Oncology.* 2013; 31 (2): 171–173.
10. Obiorah I., Jordan V.C. Progress in endocrine approaches to the treatment and prevention of breast cancer. *Maturitas.* 2011; 70 (4): 315–321.
11. Sestak I., Cuzick J. Preventive therapy for breast cancer. *Current Oncology Reports.* 2012; 14 (6): 568–573.
12. Lindahl G., Saarinen N., Abrahamsson A., Dabrosin C. Tamoxifen, flaxseed and the lignan enterolactone increase stroma- and cancer cell-derived IL-1Ra and decrease tumor angiogenesis in estrogen-dependent breast cancer. *Cancer Res.* 2011; 71 (1): 51–60.
13. Dalbert D.B., Rodríguez de la Peña M.M., Figuered A., Mural J., Bartt O., Subiela R., Rossi C., Bazán G. Tamoxifen and endometrial disease in patients with breast cancer. *Medicina (B Aires).* 2013; 72 (2): 97–103.
14. Jordan V.C. Linking estrogen-induced apoptosis with decreases in mortality following long-term adjuvant tamoxifen therapy. *JNCI Journal of the Nationale Cancer Institute.* 2014; 106 (2): 296–301.
15. Shoda T., Kato M., Harada R., Fujisato T., Okuhira K., Demizu Y., Inoue H., Naito M. Synthesis and evaluation of tamoxifen derivatives with a long alkyl side chain as selective estrogen receptor down-regulators. *Bioorganic and Medical Chemistry.* 2015; 23 (13): 3091–3096.
16. Thanappapasr D. Targeted endometrial cancer therapy as a future prospect. *Womens Health (Lond).* 2013; 9 (2): 189–199.