

GEORGIAN MEDICAL NEWS

ISSN 1512-0112

№ 2 (239) Февраль 2015

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

№ u201301854; Пат. 83954 Україна, № u201303006; Пат. 84896 Україна, МПК № u 201303007) позволяют уменьшить количество ранних послеоперационных осложнений при хирургическом лечении больных с доброкачественными заболеваниями молочных желез.

Использование пластических методик в хирургии доброкачественных заболеваний молочных желез улучшает эстетическую составляющую качества жизни в отдаленный послеоперационный период, что свидетельствует об эффективности указанных вмешательств.

რეზიუმე

სარძევე ჯირკვლების კეთილთვისებიანი დაავადებების ქირურგიული მკურნალობის უშუალო და შორეული შედეგები

ა. იაზიკოვი, ვ. ლეონოვი, ვ. ანდრიუშენკო, ი. ლუკავენკო

სუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, სამედიცინო ინსტიტუტი, ქირურგიის და ბავშვთა ქირურგიის კათედრა უროლოგიის კურსით, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სარძევე ჯირკვლების კეთილთვისებიანი დაავადებების მქონე პაციენტების ქირურგიული მკურნალობის ეფექტურობის შედარებითი ანალიზი სექტორული რეზექციისა და საავტორო მეთოდის გამოყენების შემდეგ.

კლასიკური სექტორული რეზექცია ჩატარდა 45 ქალს, 106 შემთხვევაში ჩატარდა ოპერაცია პლასტიკური ქირურგიის ელემენტებით. მკურნალობის ეფექტურობა ფასდებოდა გართულებების არსებობით ადრეულ ოპერაციის შემდგომ პერიოდში; სიცოცხლის ხარისხი შეისწავლბოდა კითხვარებით The short form medical study (SF-36) და Breast evaluation questionnaire (BEQ) ოპერაციამდე, 3 და 12 თვის შემდეგ ოპერაციიდან. სარძევე ჯირკვლის კლასიკური სექტორული რეზექცია არ აუარესებს პაციენტების თვითშეგრძნებას, თუმცა, ესთეტიკური შედეგები არადამაკმაყოფილებელია.

ავტორების მიერ მოწოდებული ოპერაციული მეთოდები (პატ. 83922, უკრაინა, №u201301853; პატ. 83923, უკრაინა, №u201301854; პატ. 83954, უკრაინა, №u201303006; პატ. 83996, უკრაინა, №u201303007) იძლევა ადრეული ოპერაციის შემდგომი გართულებების რაოდენობის შემცირების საშუალებას; მოდიფიცირებული ოპერაციების შემდეგ აღინიშნება პაციენტების თვითშეგრძნების და სარძევე ჯირკვლების ესთეტიკური მდგომარეობით კმაყოფილების ხარისხის სარწმუნო გაუმჯობესება.

პლასტიკური ქირურგიის მეთოდების გამოყენება სარძევე ჯირკვლების კეთილთვისებიანი დაავადებების ქირურგიულ მკურნალობაში აუმჯობესებს სიცოცხლის ხარისხს შორეულ პოსტოპერაციულ პერიოდში, რაც მეტყველებს ზემოსხენებული ჩარევების ეფექტურობაზე.

РОЛЬ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА C-1562T ГЕНА МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 В РАЗВИТИИ ЛЕЙОМИОМЫ МАТКИ У ЖЕНЩИН С ПАТОЛОГИЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ

Савченко И.Н., Гарбузова В.Ю

Сумский государственный университет, Украина

Сегодня лейомиома матки (ЛМ) остается самой распространенной опухолью патологией женской половой системы. Прогрессирующая ЛМ, часто осложняет течение беременности и родов, снижая сократительную деятельность матки. Течение раннего послеродового периода у женщин с ЛМ в большинстве случаев сопровождается профузными маточными кровотечениями,

позднего - длительной инволюцией. Симптоматическая лейомиома считается предпосылкой женского бесплодия.

Лейомиома матки - доброкачественная опухоль независимого моноклонального происхождения, образуется из мезенхимы полового бугорка, окру-

жающего зачатки мюллеровых протоков. Клетки-предшественницы лейомиомы расположены вблизи сосудов миометрия. Регуляция роста ЛМ основана на равновесии процессов пролиферации и апоптоза, причем прогрессирующий рост опухоли может быть следствием как недостаточного апоптоза, так и усиленной пролиферации [1-3].

По клинко-морфологической картине ЛМ делятся на простые и пролиферирующие. Последние отличаются субмукозной или интрамуральной локализацией, быстрым ростом, частым сочетанием с гиперпластическими процессами эндометрия и яичников, а также непластическими изменениями шейки матки. Гистологически характеризуются множественными зонами роста, и слабой продукцией компонентов внеклеточного матрикса [4,6].

Значимым фактором в формировании, прогрессировании или стабильности течения миомы является наследственный полиморфизм. При этом, для каждой опухоли характерен свой генетический механизм, включающий множество генов, в том числе и гены межклеточных взаимодействий, среди них - металоматриксные протеиназы (ММР).

ММР - многочисленная группа ферментов, обеспечивающих обмен белков межклеточного матрикса и способных разрушать все виды его компонентов, осуществляя ремоделирование внеклеточного микроокружения. Одним из основных представителей металоматриксных протеиназ класса желатиназы является ММР-9 или желатиназа В. Активируясь некоторыми гормонами, цитокинами, онкогенами, факторами роста, она расщепляет коллаген, входящий в структуры базальных мембран сосудов лимфатической и кровеносной систем. Активность фермента напрямую зависит от структуры гена, кодирующего этот белок.

Целью исследования явилось изучить ассоциацию аллельных вариантов гена ММР-9 по полиморфизму С-1562Т с лейомиомой матки у женщин, имеющих патологию шейки матки различной степени тяжести.

Материал и методы. Проведено полное клинко-лабораторное обследование 108 женщин в возрасте от 26 до 60 лет (средний возраст $47,82 \pm 6,6$ года), которым поставлен диагноз лейомиомы матки. Группу контроля составили 84 женщины в менопаузе (средний возраст $69,75 \pm 8,4$ лет), что исключало возможность развития данной патологии, увеличивая достоверность контроля. Во время гинекологического обследования у пациенток обеих групп собран гинекологический анамнез, проведен осмотр шейки матки, выполнены цитологическое исследование, простая и расширенная кольпоскопия, бимануальное влагалищное исследование.

Наличие или отсутствие лейомиомы матки у женщин устанавливались на основании анализа анамнестических и клинических данных результатов гинекологического осмотра и ультразвукового исследования. При изучении данных кольпоскопии руководствовались международной классификацией кольпоскопических терминов, принятой на VII Всемирном конгрессе по патологии шейки матки и кольпоскопии (Рим, 1990) и кольпоскопической классификацией патологических процессов шейки матки предложенной Коханевич Е.В. (1997 год) [5].

Анализ данных гинекологического анамнеза и осмотра установил, что ложная эрозия шейки матки была диагностирована у 52,7% женщин основной и 54,8% - контрольной группы. В случаях выявления кольпоскопических признаков дисплазии шейки матки, проводилось морфологическое исследование целенаправленного биопсийного материала. По результатам гистологического исследования биоптата диатермоэксцизия шейки матки выполнена 21,3% женщин основной и 45,2% - контрольной групп.

Больные ЛМ и женщины контрольной группы в зависимости от тяжести выявленной патологии влагалищной части шейки матки были разделены на подгруппы: а) с наличием ложной эрозии (эктопии цилиндрического эпителия) влагалищной части шейки матки; б) с наличием дисплазии эпителия шейки матки в анамнезе, что требовало проведения конусовидной диатермоэксцизии.

Исследование проводили с соблюдением основных положений Конвенции Совета Европы по правам человека и биомедицине, Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения научных медицинских исследований с участием человека (1964, с последующими дополнениями, включая версию 2000) и Приказа МОЗ Украины № 690 от 23.09.2009. Все пациенты подписали информированное соглашение на участие в исследованиях с забором венозной крови на генетический анализ.

Определение С-1562Т полиморфизма (rs 3918242) гена ММР-9 проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции с последующим анализом длины рестрикционных фрагментов при их выделении с помощью электрофореза в 2,5% агарозном геле.

Для генотипирования венозную кровь забирали в стерильных условиях в моноветы объемом 2,7 мл с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты («Sarstent», Германия). Кровь замораживали и хранили при температуре - 20° С. ДНК из нее выделяли, используя наборы «Изоген» (Россия). Амплификацию участка гена, содержащего сайт С-1562Т проводили

с помощью пары специфических праймеров: прямого (sense) 5 'GCCTGGCACATAGTAGGCC 3' и обратного (antisense) 5 'CTTCCTAGCCAGCCGGCATC 3' Для амплификации брали 50-100 нг ДНК и добавляли к смеси, содержащей 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 ммоль сульфата магния, 250 мкм смеси четырех нуклеотидтрифосфатов, по 15 рМ каждого из праймеров и 1,0 ЕД Таq-полимеразы; объем довели до 25 мкл добавлением деионизированной воды. Программа амплификации: денатурация - 94°C (50 с), гибридизация праймеров 62,5°C (45 с), элонгация 72°C (1 мин.). Всего 30 циклов.

Для рестрикционного анализа 6 мкл продукта амплификации инкубировали при 37 ° С в течение 18 часов с 3 ЕД рестриктазы PaeI (SphI) в буфере Tango следующего состава: 3,3 ммоль трис-ацетата (рН 7,9), 10 мМ ацетата магния, 66 мМ ацетата калия, 0,1 мг / мл альбумина. Наличие в -1562С-й позиции гена MMP-9 цитозина препятствует рестрикции, а при его замене на тимин рестриктаза расщепляет амплифицированный участок (длина 436 пар азотистых оснований) на два фрагмента - 242 и 194 пары оснований. Амплификат полученного фрагмента гена MMP-9 после рестрикции разделяли в 2,5% агарозном геле, содержащем бромистый этидий. Горизонтальный электрофорез (0,1А; 140 V) проводили в течение 35 мин.

Статистический анализ проводили с использованием программы SPSS-17. При этом достоверность различий определяли по χ^2 -критерию. Значение $p < 0,05$ считали достоверным.

Результаты и их обсуждение. Генотипирование пациенток с лейомиомой и женщин контрольной группы по полиморфизму С-1562Т гена MMP-9 позволило сравнить их между соответствующими подгруппами, созданными с учетом наличия или отсутствия такой патологии шейки матки как эктопия цилиндрического эпителия и диспластические изменения эпителия влагалищной части шейки матки в анамнезе, по поводу которых выполнялась конусовидная диатермоэксцизия.

Распределение пациентов по наличию или отсутствию в анамнезе эрозии шейки матки (таблица 1), указывает на отсутствие достоверной разницы в распределении частот аллельных вариантов С-1562Т полиморфизма гена MMP-9 между больными ЛМ и пациентками контрольной группы среди женщин, у которых диагностирована эктопия цилиндрического эпителия ($p=0,521$) и пациенток без этой патологии шейки матки ($p=0,487$).

Разделения частот аллельных вариантов полиморфизма С-1562Т гена MMP-9 в группах сравнения при наличии диспластических изменений эпителия влагалищной части шейки матки различной степени, по поводу которых была выполнена конусовидная диатермоэксцизия, представлены в таблице 2.

Связи между данным SNP и наличием или отсутствием в анамнезе дисплазии шейки матки у женщин контрольной и основной групп не выявлено ($p=0,280$, $p=0,703$).

Полиморфизм транзиции цитозина на тимин (С-1562Т) находится в промоторной области гена MMP-9. Точечная мутация, заключается в замене одного пуринового основания - цитозин (С) на другой – тимин (Т) и влияет на уровень транскрипции данного гена. Промотор с тимином имеет большую транскрипционную активность, чем вариант промотора с цитозином. Т-аллель обеспечивает повышенный синтез белка MMP-9 клетками организма, его накопление в соответствующих тканях вызывает усиленный эффект процессов, в которых участвует данный фермент. Поэтому количество и активность MMP-9 часто служит прогностическим маркером течения опухолевой и неопластической патологии женской репродуктивной системы, используется для коррекции лечебной тактики у таких пациенток.

Результаты проведенных нами исследований свидетельствуют об отсутствии достоверных различий в распределении генотипов по полиморфизму С-1562Т гена MMP-9 между пациентками с ЛМ и женщинами контрольной группы. Анализ данных о связи С-1562Т полиморфизма гена MMP-9 с патологией шейки матки

Таблица 1. Распределение частоты лиц с различными генотипами по С-1562Т полиморфизму гена MMP-9 в контрольной группе и у больных с ЛМ в зависимости от наличия эктопии шейки матки в анамнезе

Генотип	Наличие эктопии		Отсутствие эктопии	
	Контроль, n (%)	ЛМ, n (%)	Контроль, n (%)	ЛМ, n (%)
С/С	31 (67,4)	33 (57,9)	23 (60,5)	32 (62,7)
С/Т	14 (30,4)	21 (36,8)	14 (36,8)	15 (29,4)
Т/Т	1 (2,2)	3 (5,3)	1 (2,6)	4 (7,8)
	$\chi^2=1,303$; $p=0,521$		$\chi^2=1,439$; $p=0,487$	

примечание: n - количество больных; p - значимость различий в распределении генотипов между контролем и ЛМ

Таблица 2. Распределение частоты лиц с различными генотипами по С-1562Т полиморфизму гена ММР-9 в контрольной группе и у больных с ЛМ в зависимости от наличия дисплазии шейки матки в анамнезе

Генотип	Наличие дисплазии		Отсутствие дисплазии	
	Контроль, n (%)	ЛМ, n (%)	Контроль, n (%)	ЛМ, n (%)
С/С	25 (65,8)	17 (73,9)	29 (63,0)	48 (56,5)
С/Т	13 (34,2)	5 (21,7)	15 (32,6)	31 (36,5)
Т/Т	0 (0)	1 (4,3)	2 (4,3)	6 (7,1)
	$\chi^2=2,545; p=0,280$		$\chi^2=0,705; p=0,703$	

примечание: n - количество больных; p - значимость различий в распределении генотипов между контролем и ЛМ

обнаружил отсутствие ассоциации исследуемого генетического маркера с ложной эрозией шейки матки, которая проявлялась эктопией цилиндрического эпителия из цервикального канала на влагалищную часть шейки и дисплазией многослойного плоского неороговевшего эпителия шейки матки у пациенток с лейомиомой и женщин без опухоли.

В группе контроля соотношение гомозигот с генотипом ТТ было почти одинаковым среди пациенток с эрозией шейки матки и без нее. Не отличалось оно и в соответствующих подгруппах женщин с ЛМ. Между женщинами основной группы гомозиготы по минорному аллелю Т встречались чаще среди пациенток без дисплазии шейки матки. Среди пациенток контрольной группы, которым выполнена диатермоэксцизия в анамнезе по поводу диспластических изменений эпителия шейки матки, ни одного носителя полиморфного аллеля ММР-9 (-1562Т) не обнаружено.

По сей день данных литературы об ассоциации полиморфизма С-1562Т гена ММР-9 с патологией шейки матки у женщин с ЛМ в других популяциях нами не обнаружено. Известно, что повышенная экспрессия ММР класса желатиназы (ММР-2, ММР-9) является прогностическим фактором многих видов рака различных органов половой системы, в том числе и шейки матки. Данные о влиянии ММР на возникновение, прогрессирование и неблагоприятный прогноз этих патологий достаточно противоречивы.

Так, Argüello-Ramírez J. в своих исследованиях, сравнивая секрецию некоторых ММР у женщин с доброкачественными и предраковыми процессами шейки матки, обнаружил высокий уровень ММР-9 в опухолевых имплантатах, однако не установил связи повышенной секреции этого белка с прогрессированием рака шейки матки и плохим прогнозом для пациентки. Судя по полученным результатам, он предположил, что таким маркером может быть ММР-3 [7]. К подобным выводам пришла и Rauvala M., сравнив экспрессию ММР-2 и ММР-9 в первичных опухолях шейки матки с клиническими вариантами рака и такими факторами риска как ранний половой дебют и активное сексуальное поведение женщин. Ассоциация повышенной

секреции ММР-2 с раком шейки матки была обнаружена у сексуально активных женщин с ранним началом половой жизни. Однако связи ММР-9 с раком шейки матки у женщин с подобными факторами не обнаружено [12]. Исследования Като Y. свидетельствуют, что на вероятность развития рака шейки матки в большей степени влияет уровень экспрессии мРНК ММР-2, чем ММР-9 [9]. Известно, что повышенная экспрессия ММР-9 провоцирует опухолевый ангиогенез, быструю пролиферацию раковых клеток, инвазию и метастазирование рака шейки матки [8, 10, 11]. Именно глубина инвазии является важным фактором в прогнозировании и дальнейшем лечении пациенток. Таким образом, данные многочисленных исследований дают возможность сделать вывод о том, что ММР-9 является значимым биологическим маркером определения тяжести течения рака шейки матки и может использоваться с целью улучшения диагностических и терапевтических показателей при этой патологии.

Выводы. Результаты выполненных нами исследований показали, что не существует связи между полиморфизмом С-1562Т гена ММР-9 и развитием лейомиомы матки, течение которой сопровождается патологией шейки матки различной степени тяжести, а именно - доброкачественной эктопией цилиндрического эпителия и предопухолевыми диспластическими изменениями эпителия шейки матки, по поводу которых выполнялась конусовидная диатермоэксцизия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурлев В.А., Павлович С.В., Волков Н.И. Миома матки: роль пролиферативной активности, апоптоза и стероидов в регуляции роста. Новые технологии в гинекологии. М: Пантори. 2003:137.
2. Бурлев В.А. Локальный и системный ангиогенез у больных с миомой матки. Проблемы репродуктологии. 2007;1:26–33.
3. Вихляева Е.М. Диагностика и лечение лейомиомы матки. М.,2004.
4. Зайрагьянц О.В. Сидорова И.С., Леваков С.А., Левин Е.М., Опаленов К.В. Особенности морфогенеза и ангиогенеза лейомиомы матки. Архив патологии. 2005;67(3):29–31.

5. ПРИКАЗ МОЗ Украины № 676 от 31.12.2004 «Про утверждение клинических протоколов акушерской и гинекологической помощи».
6. Сидорова И.С., Зайратьянц О.В., Леваков С.А. Диагностическая медицинская морфометрия. 2002;192–199.
7. Argüello-Ramírez J. Pérez-Cárdenas E., Delgado-Chávez R., Solorza-Luna G. Matrix metalloproteinases-2, -3, and -9 secreted by explants of benign and malignant lesions of the uterine cervix. Int J Gynecol Cancer. 2004;14(2)333–40.
8. Jiang Z.Q., Zhu F.C., Qu J.Y., Zheng X. Relationship between expression of matrix metalloproteinase (MMP-9) and tumor angiogenesis, cancer cell proliferation, invasion, and metastasis in invasive carcinoma of cervix. Ai Zheng. 2003;22(2);178–84.
9. Kato Y., Yamashita T., Ishikawa M. Relationship between expression of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 and invasion ability of cervical cancer cells. Oncol Rep. 2002;9(3);565–9.
10. Libra M., Scalisi A., Vella N., Clementi S. Uterine cervical carcinoma: Role of matrix metalloproteinases (Review). Int J of Oncology. 2009;34;897–903.
11. Luo C.F., Zhu R.Q., Wang H., Lu Y.L. Expression of COX-2 and MMP-9 in cervical carcinoma and their clinical significance. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. 2007;29(7);526–30.
12. Rauvala M., Aglund K., Puistola U., Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinases-2 and -9 in cervical cancer: different roles in tumor progression. Int J Gynecol Cancer. 2006;16(3);1297–302.

SUMMARY

ROLE OF SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM C-1562T OF THE MATRIX METALLOPROTEINASE-9 GENE IN THE DEVELOPMENT OF LEIOMYOMA IN WOMEN WITH CERVICAL PATHOLOGY

Savchenko I., Garbuzova V.

Sumy State University, Ukraine

108 women diagnosed with leiomyoma and 84 women without this disease (control group) were examined during the research. Was conducted a comparative analysis of the genotypes distribution between women with cervical pathology of different complexity. The results of the research showed, that there is no connection between the C-1562T polymorphism of the MMP-9 gene and the progression of leiomyoma the course of which is accompanied by false erosion of the cervix (ectopias epithelium) ($p>0,521$). There is also was not found any connection between the SNP in women with leiomyoma, who undergo conical electrocauterizing excision treatment because of the dysplastic epithelial changes that are considered to be precancerous ($p>0,280$).

Keywords: matrix metalloproteinase-9, single nucleotide polymorphism, leiomyoma, ectopia, dysplasia.

РЕЗЮМЕ

РОЛЬ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА C-1562T ГЕНА МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 В РАЗВИТИИ ЛЕЙОМИОМЫ МАТКИ У ЖЕНЩИН С ПАТОЛОГИЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ

Савченко И.Н., Гарбузова В.Ю.

Сумский государственный университет, Украина

Обследовано 108 женщин с лейомиомой (ЛМ) матки и 84 женщины без данной патологии (контрольная группа). Проведен сравнительный анализ распределения генотипов среди женщин с патологией шейки матки различной степени тяжести. Результаты выполненных исследований показали, что не существует связи между полиморфизмом C-1562T гена MMP-9 и развитием лейомиомы матки, течение которой сопровождается ложной эрозией шейки матки (эктопия цилиндрического эпителия) ($p>0,521$). Не выявлено ассоциации между данным SNP у женщин с ЛМ, которым была выполнена конусовидная диатермоэксцизия шейки матки по поводу диспластических изменений эпителия ($p>0,280$).

რეზიუმე

მატრიქსული მეტალოპროტეინაზის-9 გენის C-1562T პოლიმორფიზმის როლი ლეიომიომის განვითარებაში ქალებში საშვილოსნოს ყელის პათოლოგიით

ბ. სავჩენკო, ვ. გარბუზოვა

სუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, უკრაინა

გამოკვლეულია 108 ქალი საშვილოსნოს ლეიომიომით (ლმ) და 84 ქალი აღნიშნული პათოლოგიის გარეშე (საკონტროლო ჯგუფი). ჩატარდა გენოტიპების განაწილების შედარებითი ანალიზი ქალებში საშვილოსნოს ყელის სხვადასხვა ხარისხის სიმძიმის პათოლოგიით. კვლევის შედეგებმა გამოავლინა, რომ MMP-9 გენის C-1562T პოლიმორფიზმისა და ცრუ ეროზიით მიმდინარე საშვილოსნოს ლმ-ის განვითარებას შორის არ არსებობს არავითარი კავშირი. ასევე არ გამოვლინდა კავშირი SNP-ის მონაცემებს და იმ ქალების ლმ-ს შორის, რომლებსაც ჩატარდა საშვილოსნოს ყელის კონუსისებური დიატერმოექსციზია ეპითელიუმის დისპლასტიკური ცვლილებების გამო.