



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.13.1.007>
УДК 618.14-007.61:577.152.199.2



Лызикова Ю.А. ✉, Смирнова М.В., Кругликова А.В.

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Экспрессия генов гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 у пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Лызикова Ю.А. – разработка концепции исследования, написание текста статьи; Смирнова М.В. – сбор данных для исследования, статистическая обработка полученных данных; Кругликова А.В. – анализ литературных источников, клинических данных пациенток.

Благодарности: авторы благодарят руководство Гомельского областного исполнительного комитета за возможность выполнения исследования за счет средств инновационного фонда (№ госрегистрации 20201765 от 05.11.2020).

Подана: 21.12.2022

Принята: 30.01.2023

Контакты: Lyzikovaylia@yandex.by

Резюме

Цель. Определить экспрессию генов гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 в эндометрии у пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия и группы сравнения.

Материалы и методы. Всем пациенткам проводили морфологическое исследование эндометрия. После получения результатов пациентки разделены на группы. Проанализированы клинические проявления, структура соматической патологии у пациенток обеих групп, все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании. В биоптате эндометрия изучена экспрессия генов гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2.

Результаты. Обследованы 108 пациенток репродуктивного возраста, основную группу составили 68 (62,04%) женщин с гиперпластическими процессами эндометрия, а 40 (53,33%) женщин с нормальным эндометрием составили группу сравнения. При анализе клинических проявлений, соматической патологии значимых различий между пациентками не выявлено. У пациенток основной группы отмечена тенденция к более высокой частоте ожирения 1-й степени – 14 (20,59%), у пациенток группы сравнения – 3 (7,50%) ($z=3,25$, $p=0,07$). Экспрессия гена гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 значимо ниже у пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия ($z=2,12$, $p=0,03$; $z=2,14$, $p=0,03$ соответственно).

Заключение. Экспрессия гена гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 значимо ниже у пациенток основной группы. Система гемоксигеназ участвует в защите клеток от повреждений, поэтому снижение экспрессии ферментов ассоциировано с накоплением свободного гема с последующим повреждением клеток и тканей. Изучение экспрессии гена гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 актуально как с позиций изучения патогенеза гиперпластических процессов эндометрия, так и маркера прогрессирования заболевания.

Ключевые слова: гиперпластические процессы эндометрия, гемоксигеназа-1, гемоксигеназа-2, экспрессия генов

Yuliya A. Lyzikova ✉, Marina V. Smirnova, Anna V. Kruglikova
Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Expression of Hemoxxygenase-1 and Hemoxxygenase-2 Genes in Patients with Endometrial Hyperplastic Processes

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: developing the research concept, writing the text – Yuliya A. Lyzikova; collection of data for the study, statistical processing of the data obtained – Marina V. Smirnova; analysis of literary sources, clinical data of the patients – Anna V. Kruglikova.

Acknowledgements: the authors thank the management of the Gomel Regional Executive Committee for the opportunity to carry out the study at the expense of the innovation fund (state registration number 20201765 of 05.11.2020).

Submitted: 21.12.2022

Accepted: 30.01.2023

Contacts: Lyzikovaylia@yandex.by

Abstract

The purpose of the study. To determine the expression of hemoxxygenase-1 and hemoxxygenase-2 genes in the endometrium in patients with endometrial hyperplastic processes and comparison groups.

Research methods. All patients underwent morphological examination of the endometrium, after receiving the results, the patients were divided into groups. The clinical manifestations and the structure of somatic pathology in patients of both groups were analyzed, all patients signed an informed consent to participate in the study. The expression of hemoxxygenase-1 and hemoxxygenase-2 genes was studied in the endometrial biopsy.

Results. 108 patients of reproductive age were examined, the main group consisted of 68 (62.04%) patients with endometrial hyperplastic processes, 40 (53.33%) women with normal endometrium made up the comparison group. The analysis of clinical manifestations, somatic pathology revealed no significant differences between the patients. In patients of the main group, there was a tendency to a higher incidence of obesity of the 1st degree – 14 (20.59%), in patients of the comparison group – 3 (7.50%) ($z=3.25$, $p=0.07$). The expression of hemoxxygenase 1 and hemoxxygenase 2 genes is significantly lower in patients with endometrial hyperplastic processes ($z=2.12$, $p=0.03$; $z=2.14$, $p=0.03$).

Conclusion. The expression of hemoxxygenase-1 and hemoxxygenase-2 genes is significantly lower in patients of the main group. The hemoxxygenase system is involved in protecting cells from damage, therefore, a decrease in enzyme expression is associated with the accumulation of free heme with subsequent damage to cells and tissues. The study of hemoxxygenase-1 and hemoxxygenase-2 gene expression is relevant both from the standpoint of studying the pathogenesis of endometrial hyperplastic processes and a marker of disease progression.

Keywords: endometrial hyperplastic processes, hemoxxygenase-1, hemoxxygenase-2, gene expression

■ ВВЕДЕНИЕ

Гемоксигеназа является ферментом, который регулирует скорость разложения гема на железо, монооксид углерода и биливердин [1, с. 893]. На сегодняшний день описаны три изоформы фермента: гемоксигеназа-1, которая индуцируется в ответ на окислительный стресс и является адаптивным ответом клетки на действие активных форм; гемоксигеназа-2, которая экспрессируется постоянно, и недавно обнаруженная гемоксигеназа-3, вероятно, участвующая в связывании гема [2, с. 1327]. Этот фермент играет важную роль в поддержании клеточного гомеостаза и действует как антиоксидант, регулятор апоптоза и воспаления. Кроме того, высвобождаемый монооксид углерода работает как сигнальная молекула, выполняет нейроэндокринную функцию, действует в качестве сосудорасширяющего средства и ингибирует сократительную способность мышечных клеток [1, 2].

Нарушение в системе гемоксигеназ играет важную роль в развитии осложнений беременности: низкая экспрессия фермента связана с ее неблагоприятным исходом как у людей, так и в модулируемых опытах на животных. Снижение активности гемоксигеназ значимо чаще встречается у пациенток с преэклампсией [3, с. 3–5]. Снижение активности ферментов является также фактором риска фетоплацентарной недостаточности, внутриматочной гипоксии, задержки роста и окислительного стресса плода. Так, в исследовании A. Ferencz и соавторов показано, что в пуповинной крови доношенных новорожденных с задержкой роста экспрессия гена гемоксигеназы снижена [4, с. 12].

Изменение активности гемоксигеназ может быть ассоциировано также с развитием гинекологической патологии. Установлено, что в нормальной эндометрии гемоксигеназа экспрессируется на всех стадиях менструального цикла. При проведении иммуногистохимического исследования выявлено, что распределение экспрессии двух изоформ имеет следующие закономерности: гемоксигеназа-1 определяется в эпителиальных клетках и макрофагах эндометрия, гемоксигеназа-2 – в эндотелиальных клетках и гладкомышечных клетках кровеносных сосудов эндометрия [5, с. 5034].

При сравнении эндометрия здоровых женщин и пациенток с эндометриозом установлено, что в эктопическом эндометрии экспрессия гемоксигеназ ниже, чем в слизистой матки [1, с. 895]. Изменения активности системы гемоксигеназ связано с более высоким риском развития эндометриоза, привычного невынашивания, а также артериальной гипертензии [6, с. 695].

Учитывая установленное значение системы гемоксигеназ в развитии больших акушерских синдромов, эндометриоза, исследование экспрессии генов фермента в эндометрии пациенток с пролиферативными процессами эндометрия представляется актуальным.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить экспрессию гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 в эндометрии у пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия и пациенток группы сравнения.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 108 пациенток репродуктивного возраста, основную группу составили 68 (62,04%) женщин с гиперпластическими процессами эндометрия, 40 (53,33%) женщин с нормальным эндометрием составили группу сравнения. Пациентки были разделены на группы после получения результатов гистологического исследования. Из исследования исключены пациентки с атипической гиперплазией эндометрия.

У всех пациенток изучена экспрессия генов гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 в эндометрии. Для определения уровня экспрессии использовали готовую ПЦР-смесь ArtMix Color (ООО «АртБиоТех», Республика Беларусь). Амплификацию выполняли в режиме реального времени согласно программе, указанной в инструкции к соответствующему набору с использованием амплификатора времени Gentier96E (Xian Tianlong Science and Technology Co). В реакции использовали 2 мкл кДНК. Для анализа уровня экспрессии генов обработку данных выполняли на основании следующего алгоритма: среди анализируемых образцов выбирали контроль, экспрессию генов которого принимали за 1, для всех образцов рассчитывали среднее арифметическое значение, показатель соотношения к контрольному образцу, экспоненциальную амплификацию и эффективность реакции. Значение показателя эффективности амплификации в данном исследовании равно 1,85. Если экспрессия гена (S) более 1, это значит, что уровень экспрессии изучаемого гена в образце в S раз больше по отношению к образцу-нормализатору, и, наоборот, если S менее 1, то уровень экспрессии изучаемого гена образца в S раз меньше, чем в образце-нормализаторе.

Оценка нормальности распределения признаков проводилась с использованием критерия Шапиро – Уилка. Оценка нормальности распределения количественных признаков показала, что распределение показателей отличалось от нормального ($p < 0,001$). В связи с этим сравнительный анализ между группами проводился с использованием методов непараметрической статистики.

В качестве центральной тенденции все количественные показатели представлены в виде медианы (Me), в качестве квартильной оценки – нижний (0,25) и верхний квартили (0,75). Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета Statistica 10.0. Определение статистической значимости различий для анализируемых групп проверяли по критерию Манна – Уитни. При анализе качественных признаков в группах сравнения использован непараметрический критерий Фишера. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пациентки обеих групп были сопоставимы по возрасту: в основной группе возраст пациенток составил 43,00 (37,25; 46,11), в группе сравнения – 43,50 (40,75; 47,20) года ($p > 0,05$). При сравнении индекса массы тела не выявлено различий между группами, в основной группе он составил 25,98 (22,10; 30,90), в группе сравнения – 24,45 (22,90; 28,39) ($z = 5,34$, $p = 0,706$).

У пациенток основной группы отмечена тенденция к более высокой частоте ожирения 1-й степени – 14 (20,59%), у пациенток группы сравнения – 3 (7,50%) ($z = 3,25$, $p = 0,07$). Ожирение 2-й степени встречалось у 5 (7,35%) пациенток основной группы и 3 (7,50%) – группы сравнения. В основной группе ожирение 3-й степени было у 2 (2,94%) пациенток, в группе сравнения – у 2 (5,00%). Избыточная масса тела



Таблица 1
Частота ожирения и избыточной массы тела у обследованных пациенток
Table 1
The frequency of obesity and overweight in the examined patients

Ожирение	Основная группа (n=68)		Группа сравнения (n=40)		χ^2	p
	n	%	n	%		
Избыточная масса тела	16	23,54	8	20	0,18	0,811
Ожирение 1-й степени	14	20,59	3	7,50	3,25	0,070
Ожирение 2-й степени	5	7,35	3	7,50	0,10	0,977
Ожирение 3-й степени	2	2,94	2	5	0,30	0,584

Таблица 2
Структура патологии эндометрия у пациенток основной группы
Table 2
The structure of endometrial pathology in patients of the study group

Патология эндометрия	Основная группа (n=68)	
	n	%
Гиперплазия эндометрия без атипии	25	36,76
Полип эндометрия	10	14,71
Гиперплазия эндометрия + полип	24	35,29
Хронический эндометрит + гиперплазия эндометрия	5	7,35
Хронический эндометрит + полип эндометрия	3	4,41
Субмукозная миома + полип эндометрия	1	1,47

была у 16 (23,54%) пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия и у 8 (20,00%) пациенток группы сравнения (табл. 1).

У всех пациенток основной группы были выявлены гиперпластические процессы эндометрия, структура выявленной патологии представлена в табл. 2.

При анализе морфологических заключений установлено, что у 8 (11,76%) пациенток пролиферативные процессы эндометрия сочетались с признаками хронического эндометрита: лимфоцитарной инфильтрацией, фиброзом стромы. По результатам морфологического исследования эндометрия группы сравнения установлено, что у большинства (13 (65,00%)) пациенток эндометрий соответствовал фазе секреции, у 7 (35,00%) – фазе пролиферации. У всех пациенток группы сравнения эндометрий был нормального гистологического строения. Показанием к отдельному диагностическому выскабливанию цервикального канала и полости матки в группе сравнения были: патология эндометрия по данным ультразвукового исследования, выполненного амбулаторно, – у 19 (47,50%) пациенток; предоперационная подготовка – у 16 (40,00%), в 5 (12,00%) случаях – полип цервикального канала.

Среди пациенток основной группы у 61 (89,71%) были жалобы различного характера, у 7 (10,29%) – заболевание не сопровождалось жалобами. В группе сравнения жалобы были у 32 (80,00%) пациенток. При анализе жалоб значимых различий не выявлено. В табл. 3 представлены жалобы пациенток обеих групп.

При анализе структуры жалоб пациенток обеих групп установлено, что наиболее часто пациенток беспокоят обильные менструации, однако обильность менструации

Таблица 3
Жалобы пациенток обеих групп
Table 3
Complains from patients of both groups

Жалобы	Основная группа (n=68)		Группа сравнения (n=40)		χ^2	p
	n	%	n	%		
Боли внизу живота	2	2,94	3	7,50	1,19	0,538
Нерегулярные менструации	10	14,71	5	12,50	0,10	0,748
Межменструальные выделения	9	13,24	4	10,00	0,20	0,617
Обильные менструации	40	58,82	20	50,00	0,79	0,489
Жалоб нет	7	10,29	8	20,00	1,98	0,189

Таблица 4
Соматическая патология пациенток обеих групп
Table 4
Somatic pathology of patients of both groups

Соматическая патология	Основная группа (n=68)		Группа сравнения (n=40)		χ^2	p
	n	%	n	%		
Гастрит	2	2,94	1	2,50	0,02	0,892
Анемия	5	7,35	3	7,50	0,00	0,977
Артериальная гипертензия	4	5,88	2	5,00	0,04	0,847
ЖКБ	1	1,47	–	–	0,59	0,441
Простудные заболевания	10	14,71	8	20,00	0,51	0,475
Псориаз	1	1,47	1	2,50	0,15	0,700
Сахарный диабет 2-го типа	–	–	1	2,50	0,72	0,191
Соматическая патология отсутствует	45	66,18	24	60,00	0,41	0,521

является субъективным показателем и не всегда соответствует патологии эндометрия.

На наличие соматической патологии указали 23 (33,82%) пациентки с гиперпластическими процессами эндометрия и 16 (40,00%) пациенток группы сравнения ($\chi^2=0,41$, $p=0,521$). Значимых различий в структуре соматической патологии при сравнении двух групп не выявлено (табл. 4).

Экспрессия гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 оценена у пациенток обеих групп, результаты исследования представлены в табл. 5.

Таким образом, экспрессия гена гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 была значительно ниже у пациенток основной группы, что указывает на нарушение метаболизма

Таблица 5
Экспрессия генов гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 в эндометрии у пациенток обеих групп
Table 5
The expression of hemoxygenase genes in endometrium of patients of both groups

Гены	Основная группа (n=68)		Группа сравнения (n=40)		z	p
	Me	25; 75	Me	25; 75		
Гемоксигеназа-1	27,68	26,56; 29,20	29,58	27,12; 31,48	2,12	0,03
Гемоксигеназа-2	26,73	26,73; 30,4	30,12	27,02; 32,10	2,14	0,03

гема в эндометрии у пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия и его значимость в развитии патологии эндометрия.

■ ВЫВОДЫ

1. У пациенток основной группы отмечена тенденция к более высокой частоте ожирения 1-й степени – у 14 (20,59%) женщин, у пациенток группы сравнения – 3 (7,50%) ($z=3,25$, $p=0,07$).
2. Не выявлено значимых различий по клиническим проявлениям, соматической патологии у пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия и пациенток с нормальным эндометрием.
3. При проведении морфологического исследования установлено, что у 8 (11,76%) пациенток пролиферативные процессы эндометрия сочетались с признаками хронического эндометрита. Изучение иммуногистохимических маркеров воспаления в данной группе позволит определить роль хронического эндометрита в развитии пролиферативных процессов эндометрия.
4. Среди пациенток с нормальным эндометрием в 47,50% случаев при проведении рутинного ультразвукового исследования выявлена патология эндометрия, что указывает на необходимость совершенствования подходов к диагностике гиперпластических процессов эндометрия.
5. В основной группе экспрессия гена гемоксигеназы-1 составила 27,6 (26,56; 29,20), в группе сравнения – 29,58 (27,12; 31,48) ($p=0,03$).
6. У пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия экспрессия гена гемоксигеназы-2 составила 26,73 (26,73; 30,4), в группе сравнения – 30,12 (27,02; 32,10) ($p=0,03$).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспрессия гена гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 значимо ниже у пациенток основной группы. Система гемоксигеназ участвует в защите клеток от повреждений, поэтому снижение экспрессии ферментов ассоциировано с накоплением свободного гема с последующим повреждением клеток и тканей. Изучение экспрессии гена гемоксигеназы-1 и гемоксигеназы-2 актуально как с позиций изучения патогенеза гиперпластических процессов эндометрия, так и маркера прогрессирования заболевания.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Iwahara Y., Nagai A., Yoshiki N. Expression of heme oxygenase in the eutopic and ectopic endometrium in patients with adenomyosis. *Gynecol Endocrinol.* 2012;28(11):892–896. DOI: 10.3109/09513590.2012.683064.
2. Casanas-Roux F., Langendonck A., Dolmans M. Expression of inducible heme oxygenase in human endometrium. *Fertility And Sterility.* 2002;78(6):1327–1328. DOI: 10.1016/S0015-0282(02)04395-9.
3. Gallardo V., González M., Toledo F. Role of heme oxygenase 1 and human chorionic gonadotropin in pregnancy associated diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease.* 2020;1866(2):1–8. DOI: 10.1016/j.bbdis.2019.07.016.
4. Ferencz Á., Orvos H., Hermesz E. Major differences in the levels of redox status and antioxidant defence markers in the erythrocytes of pre- and full-term neonates with intrauterine growth restriction. *Reprod Toxicol.* 2015;53:10–14. DOI: 10.1016/j.reprotox.2015.02.008.
5. Yoshiki N., Kubota T., Aso T. Identification of Heme Oxygenase in Human Endometrium. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2001;86(10):5033–5038 DOI: 10.1210/jcem.86.10.7943.
6. Milewski Ł., Ścieżyńska A., Ponińska J. Endometriosis Is Associated with Functional Polymorphism in the Promoter of Heme Oxygenase 1 (HMOX1) Gene. *Cells.* 2021;10(3):695. DOI: 10.3390/cells10030695.