

УДК 616-007.61:618.14:615.357:577.171.6:612.63.03  
DOI 10.11603/24116-4944.2019.2.10935

©Д. А. Хасхачих, В. О. Потапов, Г. О. Кукіна

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

## ДИФЕРЕНЦІЙОВАНИЙ ПІДХІД ДО ЛІКУВАННЯ ГІПЕРПЛАЗІЇ ЕНДОМЕТРІЯ БЕЗ АТИПІЇ У ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ

**Мета дослідження** – розробити диференціально-діагностичні критерії застосування гормональної терапії із застосуванням прогестагенів для лікування гіперплазії ендометрія (ГЕ) без атипії у жінок репродуктивного віку з урахуванням клініко-морфологічних та імуногістохімічних даних. Дослідити вплив експресії рецепторів естрогенів, прогестерону та маркера проліферації Ki-67 в гіперплазованому ендометрії без атипії у жінок репродуктивного віку на ефективність проведеної терапії.

**Матеріали та методи.** Було проведено проспективне когортне дослідження у 85 пацієнток репродуктивного віку (25–46 років) з аномальними матковими кровотечами (АМК). Контрольну групу склали 15 пацієнток зі змінами ендометрія секреторного типу. Матеріал для морфологічного та імуногістохімічного дослідження отримували шляхом вишкрібання порожнини матки. Дослідження рецепторів прогестерону проводили імуногістохімічним методом у лабораторії імуногістохімії ДДМА. Всі пацієнтки отримували лікування мікронізованим прогестероном у дозі 100 мг на добу в безперервному режимі протягом 6 місяців. Для визначення ефекту від використання прогестерону проводили дослідження експресії рецепторів до естрогенів, прогестерону та маркера проліферації Ki-67 у гістологічних зразках ендометрія імуногістохімічним методом. Критерієм вилікування вважали: відсутність скарг у пацієнток та відсутність ГЕ за результатами пайпель-біопсії ендометрія після 6 місяців лікування.

**Результати досліджень та їх обговорення.** За результатами дослідження жінок із відсутністю ефекту від проведеної терапії, на відміну від жінок з ефективною проведеною терапією, спостерігали зниження експресії рецепторів до прогестерону (ПР) на 65 %, тоді як експресія рецепторів до естрогенів була вищою за норму на 50–56 % в обох досліджуваних групах. Проліферативний потенціал залозистої тканини при ГЕ в репродуктивному періоді, оцінений за рівнем Ki-67, при ПНГЕ був в 3,2 раза, при КНГЕ – в 4,5 раза вищий від норми, тоді як у стромі при обох типах ГЕ він не відрізнявся від нормальних показників.

**Висновки.** Проведені дослідження показали, що при вирішенні питання про призначення патогенетичної терапії з використанням мікронізованого прогестерону для лікування гіперплазії ендометрія без атипії рекомендовано застосовувати диференціальний підхід, який полягає в тому, що при призначенні терапії треба враховувати рівень експресії прогестеронових рецепторів у тканині ендометрія. Високий рівень експресії буде визначати задовільний ефект від застосування терапії прогестинами. Низький рівень експресії прогестеронових рецепторів буде призводити до нечутливості тканини ендометрія до терапії прогестинами. Ще одним критерієм при призначенні терапії прогестинами є визначення проліферативної активності гіперплазованого епітелія з використанням маркера Ki-67. Він дозволяє зробити висновок, що при різних типах ГЕ є популяції клітин, які володіють різними потенціальними можливостями до проліферації та здатністю до спонтанного регресу. Більшою мірою це стосується клітин залозистого епітелію. Оскільки проліферація залежить від кількості РЕ, можна вважати, що різні види ГЕ, які відрізняються за рівнем проліферативної активності, будуть по-різному реагувати на одні й ті ж гормональні впливи, і отже, підходи до терапії даних станів повинні бути різними. Таким чином, при призначенні патогенетичної терапії із застосуванням прогестинів потрібно виділяти дві групи жінок: із гормонально чутливою формою ГЕ та гормонально нечутливою або гормонально резистентною формою ГЕ без атипії. Для лікування таких жінок потрібно застосовувати інші методи.

**Ключові слова:** гіперплазія ендометрія без атипії; естрогенові рецептори; рецептори прогестерону; маркер Ki-67; терапія прогестинами; резистентність до прогестерону.

### ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ БЕЗ АТИПИИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

**Цель исследования** – разработать дифференциально-диагностические критерии применения гормональной терапии прогестагенами для лечения гиперплазии эндометрия (ГЭ) без атипии у женщин репродуктивного возраста с учетом клинико-морфологических и иммуногистохимических данных. Исследовать влияние экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и маркера пролиферации Ki-67 в гиперплазированном эндометрии без атипии у женщин репродуктивного возраста на эффективность проведенной терапии.

**Материалы и методы.** Было проведено проспективное когортное исследование у 85 пациенток репродуктивного возраста (25–46 лет) с аномальными маточными кровотечениями (АМК). Контрольную группу составили 15 пациенток с изменениями эндометрия секреторного типа. Материал для морфологического и иммуногистохимического исследования получали путем выскабливания полости матки. Исследование рецепторов прогестерона проводилось иммуногистохимическим методом в лаборатории иммуногистохимии ДГМА. Все пациентки получали лечение микроинформированным прогестероном в дозе 100 мг в сутки в непрерывном режиме в течение 6 месяцев. Для определения эффекта от использования прогестерона проводилось исследование экспрессии рецепторов к эстрогенам, прогестерону и маркеру пролиферации Ki-67 в гистологических образцах эндометрия иммуногистохимическим методом. Критерием излеченности считали: отсутствие жалоб у пациенток и отсутствие ГЭ по результатам пайпель-биопсии эндометрия после 6 месяцев лечения.

**Результаты исследований и их обсуждение.** По результатам исследования женщин с отсутствием эффекта от проведенной терапии, в отличие от женщин с эффективно проведенной терапией, наблюдалось снижение экспрессии рецепторов к прогестерону (ПР) на 65 %, в то время как экспрессия рецепторов к эстрогенам была выше нормы на 50–56 % в обеих исследуемых группах. Проліферативний потенціал залозистої ткани при ГЕ в репродуктивному періоді, оцінений по

уровню Ki-67, при ПНГЭ был в 3,2 раза, при КНГЭ – в 4,5 раза выше нормы, в то время как в строме при обоих типах ГЭ он не отличался от нормальных показателей.

**Выводы.** Проведенные исследования показали, что при решении вопроса о назначении патогенетической терапии с использованием микронизированного прогестерона для лечения гиперплазии эндометрия без атипии рекомендуется применять дифференциальный подход, который заключается в том, что при назначении терапии необходимо учитывать уровень экспрессии прогестероновых рецепторов в ткани эндометрия. Высокий уровень экспрессии будет определять удовлетворительный эффект от применения терапии прогестинами. Низкий уровень экспрессии прогестероновых рецепторов будет приводить к нечувствительности ткани эндометрия к терапии прогестинами. Еще одним критерием при назначении терапии прогестинами является определение пролиферативной активности гиперплазированного эпителия с использованием маркера Ki-67. Он позволяет сделать вывод, что при различных типах ГЭ выявляются популяции клеток, обладающие различным потенциалом к пролиферации и способностью к спонтанному регрессу. В большей степени это касается клеток железистого эпителия. Поскольку пролиферация зависит от количества РЭ, можно считать, что различные виды ГЭ, отличающиеся по уровню пролиферативной активности, по-разному будут реагировать на одни и те же гормональные воздействия и, следовательно, подходы к терапии данных состояний должны быть разными. Таким образом, при назначении патогенетической терапии с применением прогестинов нужно выделять две группы женщин: с гормонально чувствительной формой ГЭ и гормонально нечувствительной или гормонально резистентной формой ГЭ без атипии. Для лечения таких женщин нужно применять другие методы лечения.

**Ключевые слова:** гиперплазия эндометрия без атипии; эстрогеновые рецепторы; рецепторы прогестерона; маркер Ki-67; терапия прогестинами; резистентность к прогестерону.

### DIFFERENTIATED APPROACH TO TREATMENT OF ENDOMETRIAL HYPERPLASIA WITHOUT ATYPIA IN WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE

**The aim of the study** – to develop differential diagnostic criteria for the use of hormonal therapy with the use of progestogens for the treatment of endometrial hyperplasia (EH) without atypia in women of reproductive age, taking into account clinical and morphological and immunohistochemical data. To investigate the effect of estrogen receptor expression, progesterone and the proliferation marker Ki-67 in hyperplated endometrium without atypia in women of reproductive age on the effectiveness of therapy.

**Materials and Methods.** A prospective cohort study was conducted in 85 patients of reproductive age (25–46 years) with abnormal uterine bleeding (AUB). The control group consisted of 15 patients with changes in endometrial secretory type. Material for morphological and immunohistochemical studies was obtained by scraping the uterine cavity. The study of progesterone receptors was carried out by immunohistochemical method in the laboratory of Dnipropetrovsk Medical Academy immunohistochemistry. All patients received treatment with micronized progesterone at a dose of 100 mg per day continuously for 6 months. To determine the effect of the use of progesterone was investigated the expression of estrogen receptors, progesterone and a marker of proliferation of Ki-67 in histological samples of the endometrium immunohistochemical method. The criterion for cure was: no complaints in patients and no EH on the results of endometrial tube biopsy after 6 months treatment.

**Results and Discussion.** According to the results of the study of women with no effect of therapy, in contrast to women with effective therapy, there was a decrease in the expression of receptors to progesterone by 65 %, while the expression of estrogen receptors was higher than normal by 50–56 % in both subjects groups. The proliferative potential of the glandular tissue in EH in the reproductive period, estimated at Ki-67 level, with PNH was 3.2 times, with AMH – 4.5 times higher than normal, while in the stroma in both types of EH it did not differ from normal performance.

**Conclusions.** Studies have shown that in addressing the question of the appointment of pathogenetic therapy using micronized progesterone for the treatment of endometrial hyperplasia without atypia, it is recommended to use a differential approach, which is that the treatment should take into account the level of expression of progesterone receptors in the tissue. A high level of expression will determine the satisfactory effect of progestin therapy. Low expression of progesterone receptors will make the endometrial tissue insensitive to progestin therapy. Another criterion for the appointment of progestin therapy is the determination of the proliferative activity of hyperplasia epithelium using the Ki-67 marker. He concludes that, with different types of EH, there are populations of cells that have different potentials for proliferation and the ability to spontaneously regress. This is more true of glandular epithelial cells. Since proliferation depends on the amount of PE, it can be assumed that different types of EH, differing in the level of proliferative activity, will respond differently to the same hormonal influences and, therefore, approaches to the treatment of these conditions should be different. Thus, when prescribing pathogenetic therapy using progestins, it is necessary to distinguish two groups of women: with a hormone-sensitive form of EH and a hormone-insensitive or hormone-resistant form of EH without atypia. Other treatments must be used to treat such women.

**Key words:** endometrial hyperplasia without atypia; estrogen receptors; progesterone receptors; marker Ki-67; progestin therapy; progesterone resistance.

**ВСТУП.** Гіперплазія ендометрія без атипії являє собою досить поширену патологію і спостерігається у 15 % жінок репродуктивного віку з аномальними матковими кровотечами, а питома вага при рецидивних маткових кровотечах може сягати 65 % [1]. На сьогодні відзначається неухильний ріст захворюваності, великий відсоток рецидивів (25–64,7 %), навіть на фоні проведення патогенетично зумовленої гормональної терапії гіперплазії ендометрія [2]. Використання прогестинів є перевіреним патогенетично зумовленим і достатньо ефективним

методом лікування гіперплазії ендометрія без атипії. Прогестини зазвичай використовують для лікування молодих пацієнок, які страждають від аномальних маткових кровотеч, пов'язаних із гіперплазією ендометрія. Проте існує приблизно від 8 до 30 % пацієнтів із резистентністю до такої терапії та нез'ясованим механізмом її реалізації. Така резистентність до прогестерону є головною перешкодою для успішного консервативного лікування у жінок і залишається головною клінічною проблемою [4, 5]. Дослідження показують, що не тільки кількість

статевих гормонів у сироватці крові, яка постійно коливається впродовж доби, а більшою мірою рецептори до них, передусім до прогестерону (ПР) та естрогену (ЕС), відіграють значну роль у гіперплазованому ендометрії [6]. Найчастіше гіперплазія виникає в епітеліальних клітинах ендометріальних залоз, і велика кількість даних свідчить про те, що відсутність або зменшення експресії ПР може призвести до неспроможності лікування препаратами прогестерону та до аномальної прогестеронопосередкованої сигналізації в клітинах ендометрія [5–8]. Вищезазначене зумовлює необхідність розробки нових або вдосконалення існуючих підходів до діагностично-лікувальних критеріїв даного захворювання з урахуванням сучасних даних про етіопатогенетичні механізми його виникнення, новітніх технологій морфо- й імуногістохімічних досліджень маркерів клітин у тканинах гіперплазованого ендометрія [9].

Найголовніше в проблемі лікування ГЕ – переконливі дані про наявність спонтанної регресії ГЕ, яка доходить до 20–70 % [4]. Не викликає сумнівів те, що лікувальна тактика при ГЕ повинна залежати від патоморфологічної характеристики ендометрія, віку пацієнтки, патогенезу захворювання, супутніх гінекологічних та екстрагенітальних захворювань. З огляду на відсутність загальноприйнятих рекомендацій щодо ведення пацієнток з ГЕ, в кожному випадку рішення про тактику лікування гінеколог приймає, виходячи з особистого досвіду і даних літератури. Прикладом є дослідження Gallos зі співавт., які провели опитування серед гінекологів Великобританії щодо тактики ведення хворих із простою й атиповою ГЕ (328 респондентів) [11]. Результати опитування наведено в таблиці 1.

З наведених даних чітко видно, що більшість лікарів (близько 85 %) обирають консервативний метод лікування із застосуванням гормональної терапії.

Впровадження нової класифікації ВООЗ (2014) гіперплазії ендометрія (без атипії та з атипією) та поява ряду міжнародних консенсусів в останні роки щодо ведення жінок з ГЕ дали підставу для рекомендацій консервативного лікування протягом 3–6 місяців (прогестагени у безперервному режимі перорально або використання внутрішньоматкової системи з левоноргестрелом) лише гіперпроліферативних процесів ендометрія без атипії та радикального оперативного лікування всіх жінок із ГЕ з атипією. Водночас ще не узгоджено стратегію ведення жінок, у яких гормональне лікування гіперплазії ендометрія без атипії не дало регресії патології, виникли пізні її рецидиви або прогресування захворювання [5, 6, 12]. На практиці такі випадки переводять у ранг оперативного лікування, незважаючи на вік жінки, що підвищує хірургічну агресію у значній кількості жінок без наукового обґрунту-

вання. Так само немає чітких критеріїв, які б вказували на можливість спонтанної регресії цього захворювання.

Вищезазначене зумовлює необхідність розробки диференційованого підходу лікування даного захворювання з урахуванням сучасних даних про етіопатогенетичні механізми його виникнення, новітніх технологій морфо- та імуногістохімічних досліджень маркерів проліферативної активності в тканині гіперплазованого ендометрія.

**МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ** – розробити диференціально-діагностичні критерії застосування гормональної терапії із застосуванням прогестагенів для лікування ГЕ без атипії у жінок репродуктивного віку з урахуванням клініко-морфологічних та імуногістохімічних даних. Дослідити вплив експресії рецепторів естрогенів, прогестерону та маркера проліферації Ki-67 в гіперплазованому ендометрії без атипії у жінок репродуктивного віку на ефективність проведеної терапії.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.** Дослідження проводили в гінекологічному відділенні на базі перинатального центру міської клінічної лікарні м. Дніпро в 2017–2019 роках. Дослідження погоджено на засіданні комісії з біоетики ДДМА № 1 від 16.01.17 р. Всі жінки, які брали участь у дослідженні, отримали необхідну інформацію про мету та можливі наслідки дослідження та дали письмову поінформовану згоду.

Критеріями для включення в імуногістохімічне і морфометричне дослідження були: наявність у вишкрібі з порожнини матки під час гістологічного дослідження ендометрія з явищами простої або комплексної гіперплазії без атипії при достатній кількості матеріалу в вишкрібі. Морфометричне дослідження проводили з метою об'єктивізації гістологічних типів ГЕ й оцінки достовірності їх морфологічних відмінностей.

Проспективне дослідження було проведено у 85 пацієнток репродуктивного віку (25–46 років) з аномальними матковими кровотечами (АМК). Матеріал для морфологічного та імуногістохімічного дослідження отримували шляхом вишкрібання порожнини матки. Дослідження рецепторів прогестерону проводили імуногістохімічним методом у лабораторії імуногістохімії ДДМА. Для цього біоматеріал зішкрібів порожнини матки фіксували в 10 % розчині забуферованого формаліну протягом 12–24 год і після стандартної обробки заливали в парафін. Імуногістохімічне дослідження рецепторів прогестерону проводили стрептавідин-біотин-пероксидазним методом на серійних парафінових зрізах товщиною 5 мкм за допомогою моноклональних антитіл (фірма «ДАКО») з попереднім високотемпературним демаскуванням антигенів у тканинах шляхом кип'ятіння в 0,01 М цитратному буфері під тиском у скороварці. Далі зрізи інкубували з нормальною, не імуною сироваткою, первинними (специфічними)

Таблиця 1. Вибір тактики ведення ГЕ та ГЕ з атипією гінекологами Великобританії

Тактика лікування	ГЕ, %	ГЕ з атипією, %
Спостереження	6,7	0
Пероральні прогестагени	33,2	4,9
ЛНГ-ВМС «Мірена»	52,1	10,1
Інгібітори ароматази	0	0
А-Гн РГ	0,3	0,3
Гістеректомія	5,2	83,2
Інші втручання	2,4	1,5

антитілами, вторинними біотинілірованими антитілами і зі стрептавідин-біотин-пероксидазним комплексом. Виявлення пероксидази проводили за допомогою діамінобензидину (фірма «ДАКО»). Прояв реакції контролювали під мікроскопом протягом 3 хв із наступним промиванням у дистильованій воді, дозабарвленням гематоксилином Майєра, дегідратацією зрізів і зануренням у канадський бальзам [10].

Позитивним результатом вважали специфічне забарвлення ядер у коричневий колір. Кількісну оцінку ступеня експресії рецепторів прогестерону проводили за системою Histochemical score (H-score) [11].

Систему підрахунку проводили за інтенсивністю імуногістохімічного забарвлення, що оцінюється за 3-бальною шкалою, і відсотком забарвлених клітин. Підрахунок проводили у трьох когортах по 100 клітин у різних полях зору об'єктивом  $\times 40$ . Інтенсивність забарвлення оцінювали таким чином:

0 – немає фарбування, 1 – слабе фарбування, 2 – помірне і 3 – сильне фарбування.

Формула підрахунку:

$$H\ score = \sum P_i \times i, \text{ де:}$$

$P_i$  – відсоток клітин, забарвлених із різною інтенсивністю;

$i$  – інтенсивність фарбування, виражена в балах від 0 до 3.

Про ступінь експресії рецепторів судили за результатом H-score: 0–100 – низька, 101 і більше – висока [10–12].

Основну групу було поділено на дві підгрупи: із низькою та високою експресією прогестеронових рецепторів. Всі жінки отримували терапію шляхом призначення мікронізованого прогестерону в сублінгвальної формі у дозі 50 мг двічі на добу в безперервному режимі впродовж 6 місяців. Контрольна група – 15 жінок із ГЕ без атипії – не отримувала терапію в силу різноманітних причин.

Ефективність терапії оцінювали за морфологічним критерієм через 6 місяців, шляхом проведення офісної гістероскопії з біопсією ендометрія. Задовільним вважали результат лікування, при якому спостерігали відновлення фізіологічної трофіки ендометрія, відсутність рецидивів та прогресування гіперпластичного процесу.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програмного забезпечення Office 365 A1 for faculty №1003BFFD8C8E8B0D. Використано

параметричний аналіз. Обчислювали значення середнього арифметичного ( $M$ ) і середню помилку середнього арифметичного ( $m$ ). Вірогідність розходжень оцінювали за допомогою  $t$  коефіцієнта Стьюдента. Для порівняння якісних ознак застосовували критерій  $\chi^2$  (хі-квадрат Пірсона). Розходження вважали статистично достовірними при  $p < 0,05$  (95 % рівень значущості).

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.**

При морфометричному дослідженні встановлено, що ГЕ характеризувалася незначним збільшенням відносного обсягу залоз порівняно з незмінним ендометрієм, який відповідає середній стадії фази секреції.

З метою оцінки рецепторного статусу вивчено рівень експресії РЕ і РП в залозах і стромі ендометрія. Дослідження експресії РЕ і РП показало (табл. 2), що експресія рецепторів у тканині ендометрія є гормонозалежним процесом у всіх випадках ГЕ. У залозах спостерігали більш значну експресію РЕ і РП, виявлену в ядрах клітин. При цьому привертало увагу те, що порівняно зі стромою, у залозах була більш значна різниця індексів імунореактивності порівняно з нормою і контролем.

У більшості випадків експресія РЕ і РП у залозистому епітелії корелювала з експресією рецепторів у клітинах стромі. Високий вміст РЕ і РП як у залозистому епітелії, так і в стромі спостерігали у 23 % пацієнток із ПНГЕ і у 40,4 % пацієнток із КНГЕ (табл. 2). Низькі значення імуногістохімічного індексу до РЕ і РП в залозистому і стромальному компоненті при ПНГЕ у групах ПНГЕ мали місце у 29,4 % хворих, при КНГЕ – у 41,3 % пацієнток. У 27,1 % пацієнток із ПНГЕ і 32,7 % хворих із КНГЕ низький рецепторний рівень стромі поєднувався з високим вмістом РЕ і РП в епітелії залоз. Як правило, і при простій, і при комплексній гіперплазії ендометрія в залозистому епітелії високому вмісту РЕ відповідав високий рівень рецепторів РП. При ПНГЕ експресія рецепторів стероїдних гормонів залежала від морфологічних і функціональних властивостей залозистого епітелію. При наявності великої кількості кістознозмінених залоз із сплосченим індивідуальним епітелієм рівень рецепторів був нижчий, ніж у ділянках ендометрія з морфологічно нормальною будовою залозистого компонента. Таким чином, привертало увагу мозаїчність експресії рецепторів до стероїдних гормонів як клітинами епітелію залоз, так і клітинами стромі. Значення імуногістохімічного індексу, що відображають РЕ при ПНГЕ, склали  $4,0 \pm 0,4$  – для залозистого епітелію, що було в 1,5 раза менше від значень у групі КНГЕ, і в 3,7 раза менше від контрольної групи. У клітинах стромі IRS

Таблиця 2. Результати дослідження експресії рецепторів статевих гормонів (РЕ, РП) у жінок репродуктивного віку ( $M \pm m$ )

Експресія рецепторів, IRS, %		Групи		Групи		Контроль, n=15
		ГЕ (n=43)		ГЕ (n=42)		
		ПНГЕ, n=27	КНГЕ, n=16	ПНГЕ, n=26	КНГЕ, n=16	
РЕ	Залози	$4,0 \pm 0,4^1$	$5,1 \pm 0,3^1$	$6,1 \pm 0,7^1$	$7,7 \pm 0,7^1$	$15,2 \pm 1,2$
	Строма	$3,6 \pm 0,7^1$	$3,3 \pm 0,6^1$	$5,1 \pm 0,9^1$	$8,2 \pm 0,4^1$	$60,8 \pm 1,6$
РП	Залози	$75,6 \pm 6,4^1$	$89,9 \pm 7,6^1$	$73,6 \pm 5,4$	$91,1 \pm 6,7^1$	$25,2 \pm 1,3$
	строма	$120,4 \pm 11,5^1$	$123,4 \pm 9,2^1$	$115,6 \pm 8,5^1$	$119,7 \pm 8,2$	$155,3 \pm 16,5$

Примітка: 1 – відмінність достовірною ( $p < 0,05$ ) порівняно з контрольною групою.



РЕ в групі ПНГЕ дорівнював  $3,6 \pm 0,7$ , що було в 1,4 раза менше від значень у групі КНГЕ, і в 16,7 раза менше від контролю ( $p < 0,05$ ). Значення індексу імунореактивності в групі ПНГЕ до РП склали  $75,6 \pm 6,4$  для епітелію залоз (в 3,1 раза більше контролю) та  $120,4 \pm 7,5$  для стромального компонента (на  $(23,5 \pm 1,5)$  % менше від показника контрольної групи) ( $p < 0,05$ ). Достовірної відмінності груп ПНГЕ і КНГЕ за величиною індексу імунореактивності до РП при ПНГЕ не виявлено ( $p > 0,05$ ). Рівень експресії РЕ і РП при КНГЕ в епітелії залоз був достовірно вищий порівняно з нормальним ендометрієм і ПНГЕ ( $p < 0,05$ ). Найвищі показники РЕ і РП були в ділянках вираженої багат шаровості епітелію. Значення імуногістохімічного індексу, що відображають вміст РЕ при КНГЕ в групі ПНГЕ, склали  $5,1 \pm 0,3$  – для епітелію залоз, тоді як у групі КНГЕ цей показник був на  $32,2$  % вищий, а в контрольній групі – в 2,9 раза вищий. Для клітин стромі при КНГЕ величина індексу РЕ становила  $3,3 \pm 0,6$ , що було в 2,4 раза нижче за показник групи ПНГЕ і в 20,1 раза менше від показника контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Значення індексу імунореактивності в групі ПНГЕ до РП при КНГЕ склали  $89,9 \pm 7,6$  для залозистого епітелію (в 3,5 раза більше від контрольної групи) і  $123,4 \pm 9,2$  для стромального компонента (на  $25,1$  % менше від значень контрольної групи) ( $p < 0,05$ ). Достовірної відмінності від групи ПНГЕ за величиною індексу імунореактивності до РП при КНГЕ не виявлено ( $p > 0,05$ ). Рівень експресії РА при різних видах ГЕ як в епітелії залоз, так і в стромальному компоненті достовірно відрізнявся і від нормального ендометрія, і від контрольної групи ( $p < 0,05$ ).

Для оцінки проліферативного потенціалу стромі і залоз ендометрія в репродуктивному періоді жінок із НГЕ дослідили експресію маркера проліферації Ki-67 (табл. 3). Внутрішньозалозисту і стромальну експресію Ki-67 було виявлено у всіх випадках ГЕ. При ГЕ експресія білка Ki-67, так як і експресія рецепторів стероїдних гормонів, залежала від морфологічних і функціональних властивостей залозистого епітелію. При наявності великої кількості кістознозмінених залоз зі сплосченим індіферентним епітелієм рівень експресії був нижчий,

ніж у ділянках ендометрія з морфологічно нормальною будовою залозистого компонента. Розширені залози при ПНГЕ мали по кілька позитивних клітин, а більш дрібні демонстрували місцеву високу експресію маркера. Таким чином, привертала увагу мозаїчність експресії Ki-67 клітинами епітелію залоз.

При ПНГЕ у групі індекс Ki-67 у залозах склав  $(9,8 \pm 2,6)$  %, що було в 1,25 раза більше від значень групи КНГЕ, у 3,5 раза більше від значення в групі контролю ( $p < 0,05$ ). При КНГЕ у групі розподіл Ki-67-позитивних залозистих клітин був рівномірнішим. Індекс Ki-67 у залозистому компоненті складав у середньому  $(12,7 \pm 1,8)$  % і перевищував показники групи ГЕ в 1,6 раза, а показники контрольної групи ще більше, ніж при ПНГЕ, – в 4,5 раза ( $p < 0,05$ ).

ПНГЕ та КНГЕ показали порівнянні результати рівня індексу Ki-67-позитивних клітин стромі, який склав  $(11,9 \pm 1,4)$  і  $(12,2 \pm 1,6)$  % відповідно ( $p > 0,05$ ). Дані показники не мали достовірних відмінностей із групою контролю, в якій даний показник склав  $11,6 \pm 0,7$  ( $p > 0,05$ ).

Проліферативний потенціал залозистої тканини при ГЕ в репродуктивному періоді, оцінений за рівнем Ki-67, при ПНГЕ був в 3,2 раза, при КНГЕ – в 4,5 раза вищий від норми, тоді як у стромі при обох типах ГЕ він не відрізнявся від нормальних показників.

У таблиці 4 наведено дані дослідження експресії рецепторів за показником H-score у жінок із морфологічно підтвердженою ГЕ до та після терапії мікронізованим прогестероном впродовж 6 місяців. Ступінь експресії статевих гормонів відповідав високим показникам H-score. Так, середнє значення ЕР склали  $179,2 \pm 6,5$  ( $p > 0,05$ ), а середнє значення ПР –  $159,45 \pm 4,9$  ( $p > 0,05$ ).

Привертає увагу збільшення експресії ЕР в 1,7–4 рази як у залозах, так і в стромі порівняно з контрольною групою, що зумовлювало його проліферативну активність із формуванням ГЕ ( $p < 0,001$ ). Кількість ПР була меншою в основній групі, в залозах на  $17$  % та в стромі на  $28$  % порівняно з контролем. Під впливом гормонального лікування через 6 місяців відбулося зменшення експресії ЕР у залозах практично в 3 рази та на  $28$  % у стромі. Разом

Таблиця 3. Експресія маркера проліферації Ki-67 в ендометрії жінок репродуктивного періоду (М±m)

Ki-67 IRS, %	Групи ГЕ		Контр. група (n=15)
	ПНГЕ (n=43)	КНГЕ (n =42)	
Залози	$7,8 \pm 1,8^1$	$8,1 \pm 2,1^1$	$3,1 \pm 0,3$
Строма	$10,5 \pm 1,9$	$13,1 \pm 2,7$	$11,6 \pm 0,7$

Примітка. <sup>1</sup> – відмінність достовірна ( $p < 0,05$ ) порівняно з контрольною групою.

Таблиця 4. Експресія рецепторів естрогенів та прогестерону у жінок з ГЕ без атипії до та після лікування мікронізованим прогестероном, H-score, М±m

Показник	ЕР залози	ЕР строма	ПР залози	ПР строма
Контроль	$54,36 \pm 0,13$	$91,4 \pm 8,6$	$174 \pm 10,1$	$240,5 \pm 13,6$
ГЕ до лікування	$203,7 \pm 14,44^*$	$155 \pm 16,82^*$	$145,1 \pm 6,22^*$	$173,8 \pm 15,50^*$
ГЕ після лікування	$73,67 \pm 16,89^*$	$113,83 \pm 20,48^*$	$195,17 \pm 15,13$	$210,17 \pm 15,72^*$

Примітка. \* – показник статистично достовірно відрізняється від норми ( $p < 0,05$ ).

з тим, на фоні гормонального лікування збільшилася експресія PR як у залозах, так і в стромі в 1,3 раза ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, дослідження проліферативної активності гіперплазованого ендометрія з використанням високочутливого імуногістохімічного методу визначення такого маркера, як Ki-67, дозволяє зробити висновок, що при різних типах GE є популяції клітин із неоднаковими біологічними властивостями, які володіють різними потенціальними можливостями до проліферації. Більшою мірою це стосується клітин залозистого епітелію. Оскільки проліферація залежить від кількості PE, можна вважати, що різні види GE, які відрізняються за рівнем проліферативної активності, будуть по-різному реагувати на одні й ті ж гормональні впливи, і отже, підходи до терапії даних станів повинні бути різними.

**ВИСНОВКИ.** Проведені дослідження показали, що при вирішенні питання про призначення патогенетичної терапії з використанням мікронізованого прогестерону для лікування гіперплазії ендометрія без атипії рекомендовано застосовувати диференціальний підхід, який полягає в тому, що при призначенні терапії треба враховувати рівень експресії прогестеронових рецепторів у тканині ендометрія. Високий рівень експресії буде означати задовільний ефект від застосування терапії прогестинами. Низький рівень експресії прогестеронових рецепторів буде призводити до нечутливості тканини

ендометрія до терапії прогестинами. Ще одним критерієм при призначенні терапії прогестинами є визначення проліферативної активності гіперплазованого епітелію з використанням маркера Ki-67. Він дозволяє зробити висновок, що при різних типах GE є популяції клітин, які володіють різними потенціальними можливостями до проліферації та здатністю до спонтанного регресу. Більшою мірою це стосується клітин залозистого епітелію. Оскільки проліферація залежить від кількості PE, можна вважати, що різні види GE, які відрізняються за рівнем проліферативної активності, по-різному будуть реагувати на одні й ті ж гормональні впливи і, отже, підходи до терапії даних станів повинні бути різними. Таким чином, при призначенні патогенетичної терапії із застосуванням прогестинів потрібно виділяти дві групи жінок: із гормонально чутливою формою GE та гормонально нечутливою або гормонально резистентною формою GE без атипії. Для лікування таких жінок потрібно застосовувати інші методи.

**ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.** Подальші дослідження молекулярно-рецепторних механізмів проліферативної активності ендометрія у жінок репродуктивного віку дозволять з'ясувати альтернативні механізми стимуляції проліферації при гормонально резистентних формах GE, виробити стратегію терапії даної патології та знизити кількість оперативних втручань.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Григоренко А. Н. Гиперплазия эндометрия: вопросов больше, чем ответов / А. Н. Григоренко, А. Б. Гордийчук // Репродуктивна гінекологія. – 2017. – № 3 (35). – С. 31–43.
2. Татарчук Т. Ф. Медикаментозна терапія гіперпроліферативних процесів ендометрія / Т. Ф. Татарчук, О. В. Бурлака, К. О. Корінна // Ліки та життя. – 2015. – № 1. – С. 100–101.
3. Endometrial intraepithelial neoplasia. Committee Opinion No. 631. American College of Obstetricians and Gynecologists // *Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 125. – P. 1272–1278.
4. Clark T. J. The management of endometrial hyperplasia: An evaluation of current practice / T. J. Clark, D. Neelakantan, J. K. Gupta // *Eur. J. of Obstet. Gynecol. and Rep. Bio.* – 2006. – Vol. 125. – P. 259–264.
5. Dolapcioglu K. The efficacy of intrauterine versus oral progestin for the treatment of endometrial hyperplasia. A prospective randomized comparative study / K. Dolapcioglu, A. Boz, A. Baloglu // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 40 (1). – P. 122–126.
6. Shao R. Progesterone receptor isoforms A and B: new insights into the mechanism of progesterone resistance for the treatment of endometrial carcinoma / R. Shao // *E-cancermedicalscience.* – 2013. – Vol. 7. – P. 381.
7. Effect of levonorgestrel IUD and oral medroxyprogesterone acetate on glandular and stromal progesterone receptors (PRA

and PRB), and estrogen receptors (ER- alfa and ER-beta) in human endometrial hyperplasia / A. B. Vereide, T. Kaino, G. Sager [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2006. – Vol. 101, No. 2. – P. 214–223.

8. Morphological features of uterine polyps in females of reproductive age / N. Ye. Gorban, T. D. Zadorozhna, I. B. Vovk, I. V. Zhulkevych // *Вісник наукових досліджень.* – 2019. – № 2. – С. 47–52.

9. Peculiarities of uterine cavity biocenosis in patients with different types of endometrial hyperproliferative pathology / N. Y. Horban, I. B. Vovk, T. O. Lysiana [et al.] // *Journal of Medicine and Life.* – 2019. – Vol. 12 (3). – P. 266–270.

10. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / под ред. С. В. Петрова, Н. Т. Райхлина. – Казань, 2004. – 456 с.

11. Хариет Э. Р. Иммуноцитохимия: электронная микроскопия / Э. Р. Хариет, К. С. Гаттер // Молекулярная клиническая диагностика. Методы : пер. с англ. / под ред. С. Херрингтон, Дж. Макги. – М. : Мир, 1999. – 558 с.

12. Хасхачих Д. А. Вплив рівня експресії рецепторів статевих гормонів на ефективність гормонального лікування гіперплазії ендометрія без атипії / Д. А. Хасхачих, В. О. Потапов // *36. наук. пр. Асоціації акушерів гінекологів України.* – Рівне : ПП Естеро, 2018. – С. 203–208.

### REFERENCES

1. Grygorenko, A.N., & Gordiychuk, A.B. (2017). Giperplaziya endometriya: voprosov bolshe, chem otvetov [Endometrial hyperplasia: there are more questions than answers]. *Reproduktyvna hinekolohiia – Reproductive Gynecology*, 3 (35), 31-43 [in Russian].
2. Tatarchuk, T.F., Burlaka, O.V., & Korinna, K.O. (2015). Medykamentozna terapiia hiperproliferativnykh protsesiv

endometriia [Drug therapy of endometrial hyperproliferative processes]. *Liky ta zhyttia – Medicine and Life*, 1, 100-101 [in Ukrainian].

3. American College of Obstetricians and Gynecologists (2015). Committee Opinion No. 631. Endometrial intraepithelial neoplasia. *Obstet. Gynecol.*, 125, 1272-1278.

4. Clark, T.J., Neelakantan, D., & Gupta, J K. (2006). The

management of endometrial hyperplasia: An evaluation of current practice. *Eur. J. of Obstet. Gynecol. and Rep. Bio.*, 125, 259-264.

5. Dolapcioglu, K., Boz, A., & Baloglu, A. (2013). The efficacy of intrauterine versus oral progestin for the treatment of endometrial hyperplasia. A prospective randomized comparative study. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.*, 40 (1), 122-126.

6. Shao, R. (2013). Progesterone receptor isoforms A and B: new insights into the mechanism of progesterone resistance for the treatment of endometrial carcinoma. *Ecancermedicalscience*, 7, 381.

7. Vereide, A.B., Kaino, T., Sager, G., Arnes, M., & Ørbo, A. (2006). Effect of levonorgestrel IUD and oral medroxyprogesterone acetate on glandular and stromal progesterone receptors (PRA and PRB), and estrogen receptors (ER- alfa and ER-beta) in human endometrial hyperplasia. *Gynecol. Oncol.*, 101, 2, 214-223.

8. Gorban, N.Ye., Zadorozhna, T.D., Vovk, I.B., & Zhulkevych, I.V. (2019). Morphological features of uterine polyps in females of reproductive age. *Visnyk naukovykh doslidzhen – Bulletin of Scientific Research*, 2, 47-52.

9. Horban, N.Y., Vovk, I.B., Lysiana, T.O., Ponomariova, I.H., & Zhulkevych, I.V. (2019). Peculiarities of uterine cavity biocenosis in patients with different types of endometrial hyperproliferative pathology. *Journal of Medicine and Life*, 12 (3), 266-270.

10. Petrova, S.V., & Raykhina, N.T. (Ed.2004). *Rukovodstvo po immunogistokhimicheskoy diagnostike opukholey cheloveka [Guidance on the immunohistochemical diagnosis of human tumors]*. Kazan [in Russian].

11. Khariyet, E.R., & Gatter, K.S. (1999). *Immunotsitokhimiya: elektronnaya mikroskopiya. Molekulyarnaya klinicheskaya diagnostika. Metody [Immunocytochemistry: electron microscopy. Molecular clinical diagnosis. Methods]*. S. Kherrington, Dzh. Makgi eds., transl. from engl. Moscow: Mir [in Russian].

12. Khaskhachykh, D.A., & Potapov, V.O. (2018). Vplyv rivnia ekspresii retseptoriv statevykh hormoniv na efektyvnist hormonalnoho likuvannia hiperplazii endometriia bez atypii [The increase in expression of receptors for hormones to the effectiveness of hormonal expression of endometriosis without atypical]. *Zb. nauk. pr. Asotsiatsii akusheriv hinekolohiv Ukrainy – Coll. of sciences of the Association of Obstetricians and Gynecologists of Ukraine*. Rivne: PP Estero [in Ukrainian].

Отримано 21.11.2019