

©І. Ю. Кузьміна, О. О. Кузьміна

Харківський національний медичний університет

ВАЖЛИВІСТЬ ВИЗНАЧЕННЯ БІОМОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ У ПАТОГЕНЕЗІ РОЗВИТКУ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЯ У ПЕРИМЕНОПАУЗАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ

Мета дослідження – вивчити біомолекулярні маркери при гіперплазії ендометрія (ГПЕ) в жінок у періоді перименопаузи і відповідність ступеня їх активності морфологічним змінам слизової оболонки матки.

Матеріали та методи. Досліджені 70 жінок із ГПЕ, що склали основну групу, з яких у 38 (54,5 %) хворих виявлені морфологічні ознаки простої форми типової гіперплазії ендометрія (ПГЕ), у 32 (45,5 %) – складної гіперплазії (СГЕ). 20 жінок склали контрольну групу. У 50 пацієнток з різними типами ГПЕ були проведені імуногістохімічні дослідження з визначенням маркера апоптозу – білка р53, маркерів проліферативної активності – протеїну Ki-67, білка р27 і рецепторів стероїдних гормонів – естрогену і прогестерону.

Результати дослідження та їх обговорення. Показники експресії проонкогенного білка Ki-67 свідчать про високу проліферативну активність клітин ендометрія в жінок 2 групи із СГЕ ($p < 0,05$), в той час як при ПГЕ цей показник був значно меншим та практично не відрізнявся від контрольної групи. Експресія антионкогенів білка р53 у залозах і клітинах стромы при СГЕ була значно нижче показників у біоптатах ендометрія у пацієнток з ПГЕ. Аналіз вмісту білків, що регулюють клітинний цикл, вказує на зниження вмісту інгібітору циклу р27. При ГПЕ відбувалося достовірне підвищення маркера проліферації Ki-67: при ПГЕ з 4,3 до 9,2 % (клітини епітелію), при СГЕ в біоптатах ендометрія з 11,1 до 23,4 %, а також зниження маркера апоптозу р53 з 10,7 до 4,3 % та з 13,4 до 5,8 % відповідно ($p < 0,05$). Також спостерігалась різна імуногістохімічна реакція естрогенових та прогестеронових рецепторів залежно від типу ГПЕ. Був запропонований алгоритм обстеження пацієнток із гіперпластичними процесами в перименопаузі, в основі якого лежить верифікація морфологічного діагнозу з використанням імуногістохімічних критеріїв.

Висновок. Диференційований підхід до діагностики ГПЕ оснований на імуногістохімічному визначенні біомолекулярних маркерів (Ki-67, р27, р53), що дозволяє не тільки прогнозувати перебіг гіперпластичного процесу, а й оцінити ефективність проведеного лікування.

Ключові слова: гіперплазія ендометрія; проліферація; біомолекулярні маркери; апоптоз; імуногістохімічні критерії.

ВАЖНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОМОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ В ПЕРИМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Цель исследования – изучить биомолекулярные маркеры при гиперплазии эндометрия (ГПЭ) у женщин в периоде перименопаузы и соответствие степени их активности морфологическим изменениям слизистой оболочки матки.

Материалы и методы. Обследованы 70 женщин с ГПЭ, составивших основную группу, из которых у 38 (54,5 %) больных выявлены морфологические признаки простой формы типичной гиперплазии эндометрия (ПГЭ), у 32 (45,5 %) – сложной гиперплазии (СГЭ). 20 женщин составили контрольную группу. У 50 пациенток с различными типами ГПЭ были проведены иммуногистохимические исследования по определению маркера апоптоза – белка р53, маркеров пролиферативной активности – протеина Ki-67, белка р27 и рецепторов стероидных гормонов – эстрогена и прогестерона.

Результаты исследования и их обсуждение. Показатели экспрессии проонкогенного белка Ki-67 свидетельствуют о высокой пролиферативной активности клеток эндометрия у женщин 2 группы с СГЭ ($p < 0,05$), в то время как при ПГЭ этот показатель был значительно меньше и практически не отличался от контрольной группы. Экспрессия антионкогенного белка р53 в железах и клетках стромы при СГЭ была значительно ниже показателей в биоптатах эндометрия у пациенток с ПГЭ. Анализ содержания белков, регулирующих клеточный цикл, указывает на снижение содержания ингибитора цикла р27. При ГПЭ происходило достоверное повышение маркера пролиферации Ki-67: при ПГЭ с 4,3 до 9,2 % (клетки эпителия), при СГЭ в биоптатах эндометрия с 11,1 до 23,4 %, а также снижение маркера апоптоза р53 с 10,7 до 4,3 % и с 13,4 до 5,8 % соответственно ($p < 0,05$). Также наблюдалась различная иммуногистохимическая реакция эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в зависимости от типа ГПЭ. Был предложен алгоритм обследования пациенток с ГПЭ в перименопаузе, в основе которого лежит верификация морфологического диагноза с использованием иммуногистохимических критериев.

Вывод. Дифференцированный подход к диагностике ГПЭ, основанный на иммуногистохимическом определении биомолекулярных маркеров (Ki-67, р27, р53), позволяет не только прогнозировать течение гиперпластического процесса, но и оценить эффективность проводимого лечения.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия; пролиферация; биомолекулярные маркеры; апоптоз; иммуногистохимические критерии.

IMPORTANCE OF THE DETERMINATION OF BIOMOLECULAR MARKERS IN THE PATHOGENESIS OF DEVELOPMENT OF THE HYPERPLASTIC PROCESSES OF ENDOMETRYUM IN THE PERIMENOPAUSAL PERIOD

The aim of the study – to investigate biomolecular markers in endometrial hyperplasia (EH) in women in the perimenopausal period and the dependence of their activity to the morphological changes in the uterine mucosa.

Material and Methods. 70 women with EH who made up the basic group were examined, 38 (54.5 %) patients had morphological signs of a simple form of typical endometrial hyperplasia (TEH), 32 (45.5 %) had complicated hyperplasia (CEH). 20 women made up a control group. In 50 patients with different types of EH, immunohistochemical studies were performed to determine the

marker of apoptosis – p53 protein, markers of proliferative activity – Ki-67 protein, p27 protein and steroid hormone receptors – estrogens and progesterone.

Results and Discussion. The expression of the pro-oncogenic protein Ki-67 indicates a high proliferative activity of endometrial cells in women of the 2 group with CEH ($p < 0.05$), while in the case of TEH was significantly less and did not differ from the control group. The expression of the antioncogenic protein of the p53 in glands and stromal cells with CEH was significantly lower than in endometrial biopsy specimens in patients with THE. Analysis of the content of proteins that regulate the cell cycle indicates a decrease in the content of the p27 cycle inhibitor. A positive increase in the proliferation marker of Ki-67 occurred with HE: at THE from 4.3 % to 9.2 % (epithelial cells), CHE in endometrial biopsies from 11.1 % to 23.4 %, and a decrease in the apoptosis marker of p53 from 10.7 % to 4.3 % and from 13.4 % to 5.8 %, respectively ($p < 0.05$). There was also a different immunohistochemical reaction of estrogen and progesterone receptors depending on the type of EH. An algorithm for examining patients with EH in perimenopause was proposed, based on the verification of a morphological diagnosis using immunohistochemical criteria.

Conclusions. A differentiated approach to the diagnosis of EH based on immunohistochemical determination of biomolecular markers (Ki-67, p27, p53) allows not only to predict the course of the hyperplastic process, but also to evaluate the effectiveness of the treatment.

Key words: endometrial hyperplasia; proliferation; biomolecular markers; apoptosis; immunohistochemical criteria.

ВСТУП. Гіперпластичні процеси ендометрія (ГПЕ) представляють одну з важливих проблем гінекології, оскільки є фоном для розвитку злоякісного процесу слизової оболонки тіла матки. Патогенез деяких типів гіперплазії дотепер залишається невідомим та служить приводом для дискусій [1]. Провідна роль у даній патології належить підвищеній естрогенній стимуляції в поєднанні з недостатністю прогестеронового впливу. Через естрогенові рецептори в ендометрії відбувається стимуляція проліферативних процесів, що обумовлює розвиток ГПЕ [3]. Відомо, що зростання, розмноження і функціонування залозистого епітелію регулюються фібробластами строми через продукти їх специфічної секреції, до яких належать колаген, еластин, протеоглікани і глікопротеїни [4]. Вони є структурними білками екстрацелюлярного матриксу, який відіграє ключову роль у фізіології клітини. Різноманіття патофізіологічних механізмів, що лежать в основі формування ГПЕ, пов'язані з фазами менструального циклу, які залежно від гормонального фону змінюють його структуру [5]. Своєчасна діагностика і правильний вибір терапії ГПЕ є основними факторами зниження захворюваності на рак ендометрія [6]. Тому загальновизнаною є гормонотерапія, ефективність якої значною мірою залежить від виду ГПЕ [7]. У зв'язку з цим, перспективним напрямком зниження частоти гіпер- і неопластичних процесів ендометрія є подальше вивчення патогенетичних і молекулярно-генетичних механізмів розвитку цього захворювання [8].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ – вивчити біомолекулярні маркери при ГПЕ в жінок у періоді перименопаузи і відповідність ступеня їх активності морфологічним змінам ендометрія.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Дослідження проведено у 70 жінок з ГПЕ у віці від 48 до 55 років, що склали основну групу. До контрольної групи увійшли 20 жінок того ж віку, що надійшли в клініку для вишкрібання порожнини матки у зв'язку з кровотечею, але без гіперплазії ендометрія. Під час гістологічного дослідження зскрібків з порожнини матки пацієнток основної групи у 38 (54,5 %) хворих виявлені морфологічні ознаки простої форми типової гіперплазії ендометрія (ПГЕ), у 32 (45,5 %) – складної гіперплазії (СГЕ). На підставі гістологічного висновку і фази менструального циклу пацієнтки основної групи були розділені на дві групи, кожна з яких складалася з двох підгруп – А і В: підгрупа А – стан ендометрія у фазу проліферації, В – у фазу секреції. Кількість жінок у

підгрупах була розподілена таким чином: ПГЕ – I-A – 22 (57,9 %) і I-B – 16 (42,1 %), СГЕ – II-A – 19 (59,4 %) і II-B – 13 (40,6 %). При морфологічному дослідженні слизової оболонки матки жінок контрольної групи в 18 (93,3 %) випадках виявлено ендометрій фази проліферації, а в 2 (6,7 %) – фази секреції. Від кожної обстеженої пацієнтки було отримано інформовану згоду на проведення дослідження і лікування. Тактика ведення пацієнток з ГПЕ детермінована наказом МОЗ України від 31.12.2004 р. № 676 «Про затвердження клінічних протоколів із акушерської та гінекологічної допомоги», згідно з яким лікування ГЕ включає I етап – видалення зміненого ендометрія з наступним морфологічним дослідженням. Також враховуються симптоматика, вік, супутня гінекологічна патологія, наявність репродуктивних планів, можливість оперативної або консервативної терапії.

Усім жінкам було проведено загальноклінічне та гінекологічне обстеження, ультрасонографію органів малого таза. В результаті проведеного дослідження виявилось, що, за даними УЗД малого таза, в жодній з обстежених жінок не було патології яєчників. Середнє М-ехо у пацієнток з ГПЕ склало (12,7±2,1) мм, а в контрольній групі – (5,7±1,4) мм ($p < 0,05$).

Усім пацієнткам проводилося оперативне лікування в обсязі: гістероскопія і фракційне вишкрібання слизової матки з наступним гістологічним дослідженням зскрібків. Крім цього, у 50 пацієнток з різними типами ГПЕ нами були проведені імуногістохімічне дослідження з визначенням маркера апоптозу – білка p53, маркерів проліферативної активності – протеїну Ki-67, білка p27 і рецепторів стероїдних гормонів – естрогену і прогестерону.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Клініко-статистична характеристика пацієнток основної групи, що були досліджені, підтверджує високу частоту гінекологічної та соматичної захворюваності. Незважаючи на те, що захворювання органів репродуктивної системи були виявлені більш ніж у половини всіх обстежених жінок основної групи, хворі 2 групи зі СГЕ достовірно частіше (у 4,5 раза) страждали від захворювань молочної залози, ніж пацієнтки 1 групи зі ПГЕ.

Імуногістохімічні дослідження були проведені у 28 пацієнток 1 групи (1А – 16 та 1Б – 12), 22 пацієнток 2 групи (2-А – 12 та 2-Б – 10) та у 12 пацієнток контрольної групи. Після проведення комплексу імуногістохімічних досліджень ми дійшли висновку, що у пацієнток 1 А групи

експресія рецепторів до естрогенів була значно вищою, ніж у контрольній групі (рис. 1), а до прогестерону була помірно виражена і майже не відрізнялась від контрольної групи (рис. 2).

У хворих на ПГЕ 1 Б групи експресія рецепторів на естрогени та прогестерон була значно нижчою ($p < 0,05$), ніж у пацієток контрольної групи, що передбачає низьку ефективність гормональної терапії у цієї категорії хворих.

У хворих 2 А та 2 Б груп, зі СГЕ, навпаки, експресія рецепторів до естрогенів та прогестерону була слабкою як у стромі, так і в епітелії залоз. Особливо слабка експресія в ендометрії і повна відсутність альфа-естроген-рецепторів у стромі була у жінок 2Б групі на 21–23 дні менструального циклу (рис. 3).

Аналіз результатів дослідження експресії проонкогенного білка Ki-67 свідчить про високу проліферативну активність клітин ендометрія в жінок 2 групи зі СГЕ ($p < 0,05$), в той час як при ПГЕ цей показник був значно меншим та практично не відрізнявся від контрольної групи. Експресія антионкогенів білка p53 у залозах і клітинах стромі при СГЕ була значно нижче показників у біоптатах ендометрія у пацієток з ПГЕ. Аналіз вмісту білків, що регулюють клітинний цикл, вказує на зниження вмісту інгібітору циклу p27. При ПГЕ відбувалося достовірне підвищення маркера проліферації Ki-67 з 4,3 до 9,2 % (клітини епітелію), при СГЕ в біоптатах ендометрія з 11,1 до 23,4 %, а також зниження маркера апоптозу p53 з 10,7 до 4,3 % та з 13,4 до 5,8 % відповідно ($p < 0,05$).

Проведені імуногістохімічні дослідження поглибили наші уявлення про патогенез ГПЕ, зокрема, була встановлена низька експресія рецепторів до стероїдних гормонів, висока експресія до проонкогенних і низька експресія до антионкогенних білків у пацієток з СГЕ. Ці дані підтверджують високий ризик розвитку онкологічної трансформації ендометрія при СГЕ і недоцільність проведення гормональної терапії у цієї категорії хворих.

Виявлені імуногістохімічні маркери розвитку ГПЕ дозволяють прогнозувати розвиток неопластичних змін і обумовлюють необхідність проведення даного дослідження.

Нами був запропонований алгоритм обстеження пацієток із гіперпластичними процесами в перименопаузі, в основі якого лежить верифікація морфологічного діагнозу з використанням імуногістохімічних критеріїв:

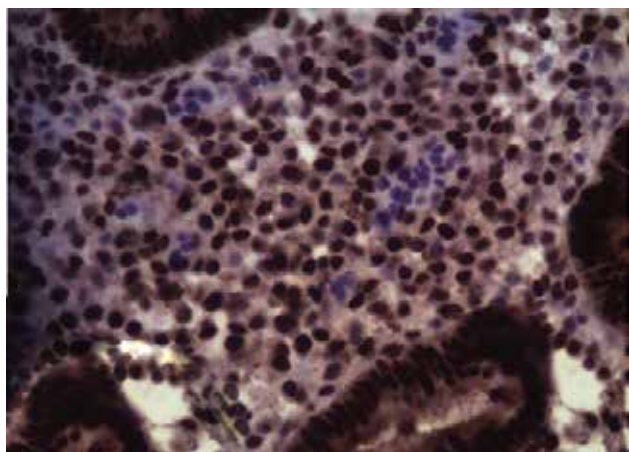


Рис. 1. Виразна експресія естроген-рецепторів.

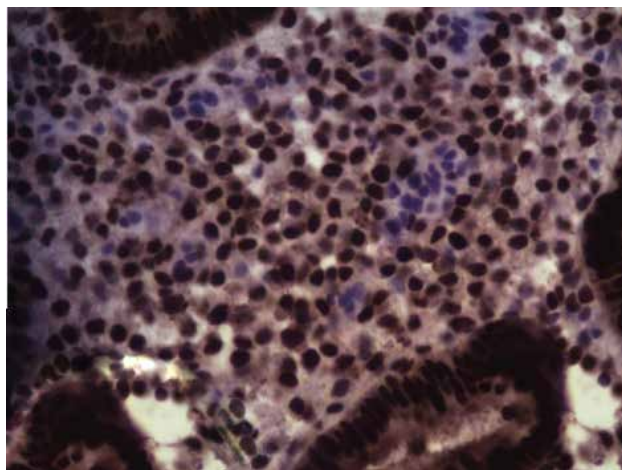


Рис. 2. Помірна експресія прогестерон-рецепторів.

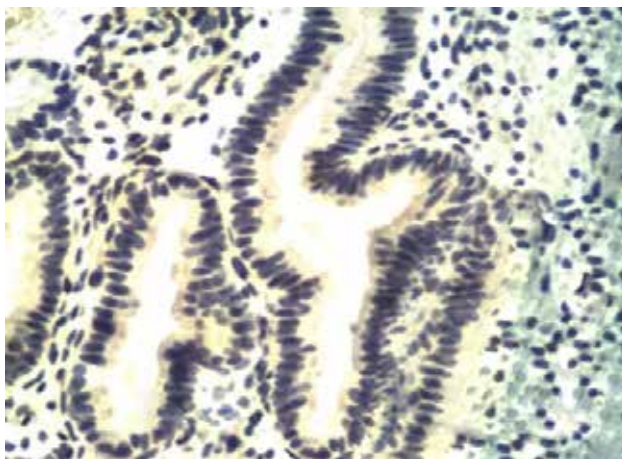


Рис. 3. Слабка експресія прогестеронових рецепторів.

наявність/відсутність експресії до рецепторів стероїдних гормонів, білків Ki-67, p53 та p27. З нашої точки зору, крім загальноновизнаних класичних патогенетичних детермінант розвитку ГПЕ, однією з основних причин можна впевнено вважати переважання процесів проліферації над апоптозом на тлі зміненого рецепторного статусу ендометрія, особливо в жінок з СГЕ.

Спроба комплексно впливати на зазначені патофізіологічні механізми, на наш погляд, дозволила суттєво підвищити ефективність лікування ГПЕ, знизити ризик рецидиву і прогресування процесу.

ВИСНОВКИ. Таким чином, можливими молекулярними і клітинними патогенетичними детермінантами ПГЕ можуть бути фактори проліферації і апоптозу, що підтверджується достовірним підвищенням маркера проліферації Ki-67 з 4,3 до 9,2 % (клітини епітелію), при СГЕ в біоптатах ендометрія з 11,1 до 23,4 %, а також зниженням маркера апоптозу p53 з 10,7 до 4,3 % та з 13,4 до 5,8 % відповідно.

Диференційований підхід до діагностики ГПЕ оснований на імуногістохімічному визначенні біомолекулярних маркерів (Ki-67, p27, p53), що дозволяє не тільки прогнозувати перебіг гіперпластичного процесу, а й оцінити ефективність проведеного лікування. Можлива роль регуляторів клітинного циклу в патогенезі ГПЕ підтвер-

джується достовірним зниженням (в 1,3–4,3 рази) білка інгібітору клітинного циклу p27 в біоптатах пацієнток зі СГЕ. Розроблений комплекс клініко-лабораторних досліджень (включаючи імуногістохімічне дослідження) й лікувально-оздоровчих заходів дозволяє виділити групи ризику рецидивування гіперпластичних процесів і мож-

ливої малігнізації ендометрія і своєчасно призначити пацієнткам перименопаузального віку хірургічне лікування.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ полягають у розробці диференційованого підходу до терапії різних форм ГПЕ залежно від визначення біомолекулярних маркерів патологічного процесу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ashrafyan L. A. Modern possibilities of prevention and early diagnosis of pre-cancer and cancer of the reproductive organs / L. A. Ashrafyan, V. Kiselev // *Obstetrics and Gynecology*. – 2009. – № 4. – P. 24–29.
2. Павловская М. А. Гиперплазия эндометрия у женщин репродуктивного возраста: иммуноморфологические особенности патологии / М. А. Павловская, Л. В. Гутикова // *Медицинские новости*. – 2015. – № 5. – С. 70–73.
3. Davydov A. Endometrial hyperplasia: conceptual issues of diagnosis and treatment / A. Davydov, O. Kryzhanovskaya // *Questions of Gynecology, Obstetrics and Perinatology*. – 2009. – Vol. 8, № 2. – P. 77–82.
4. Павловская М. А. Современный взгляд на проблему лечения гиперплазии эндометрия / М. А. Павловская //

Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2015. – № 3. – С. 32–39.

5. The state of the receptor apparatus of the endometrium and metabolism of estrogens in endometrial hyperplasia in the late reproductive period / J. E. Dobrokhotova, R. O. Yusupova, L. Z. Fayzulin [et al.] // *Questions of Gynecology, Obstetrics and Perinatology*. – 2009. – Vol. 8, № 3. – P. 52–57.

6. Chernuha G. E. Endometrial hyperplasia: prospects for development problems / G. E. Chernuha // *Obstetrics and Gynecology*. – 2009. – № 4. – P. 11–15.

7. Priority risk factors giperplaticeskikh the endometrium / E. A. Panova, G. F. Totchiev, I. Y. Mayskova [et al.] // *Bulletin of Peoples' Friendship University. Ser. "Medicine. Obstetrics and Gynecology"*. – 2010. – № 6. – P. 261–265.

REFERENCES

1. Ashrafyan, L.A., & Kiselev, V. (2009). Modern possibilities of prevention and early diagnosis of pre-cancer and cancer of the reproductive organs. *Obstetrics and Gynecology*, 4, 24-29.
2. Pavlovskaya, M.A., Pavlovskaya, M.A., & Hutykova, L.V. (2015). Giperplaziya endometriya u zhenshchin reproduktivnogo vozrasta: immunomorphologicheskiye osobennosti patologii [Endometrial hyperplasia in women of reproductive age, pathology immunomorphological features]. *Medytsynskye novosti – Medical News*, 5, 70–73.
3. Davydov, A., & Kryzhanovskaya, O. (2009). Endometrial hyperplasia: conceptual issues of diagnosis and treatment. *Questions of Gynecology, Obstetrics and Perinatology*, 2 (8), 77–82.
4. Pavlovskaya, M.A. (2015). Sovremennyy vzglyad na problemu lecheniya giperplazii endometriya [Modern view

on the problem of treatment of endometrial hyperplasia]. *Reproduktivnoye zdorovye. Vostochnaya Evropa – Reproductive Health Eastern Europe*, 3, 32–39.

5. Dobrokhotova, J.E., Yusupova, R.O., & Fayzulin, L.Z. (2009). The state of the receptor apparatus of the endometrium and metabolism of estrogens in endometrial hyperplasia in the late reproductive period. *Questions of Gynecology, Obstetrics and Perinatology*, 3 (8) 52–57.

6. Chernuha, G.E. (2009). Endometrial hyperplasia: prospects for development problems. *Obstetrics and Gynecology*, 4, 11–15.

7. Panova, E.A., Totchiev, G.F., Mayskova, I.Y., Uzdenova, A.I., & Semyatov, S.D. (2010). Priority risk factors giperplaticeskikh the endometrium. *Bulletin of Peoples' Friendship University. Ser. "Medicine. Obstetrics and Gynecology"*, 6, 261–265.

Отримано 20.01.17