

Фінкова О.П.

Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна лікарня №9» Дніпровської міської ради,  
Дніпро, Україна



Надійшла: 17.02.2021

Прийнята: 12.03.2021

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.1.67-72>

УДК: 618.14:616-006.36:615.477.87

## РЕЗУЛЬТАТИ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ МАРКЕРІВ СИГНАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ПРОЛІФЕРАЦІЇ В ЛЕЙОМІОМІ МАТКИ У ЖІНОК, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬ ГОРМОНАЛЬНУ КОНТРАЦЕПЦІЮ

Finkova E.P.   The results of immunohistochemical study of signaling pathways' markers of proliferation in uterine leiomyoma in women using hormonal contraception.

**ABSTRACT. Objective.** To elucidate the influence of various components of hormonal contraception in women with uterine leiomyoma (UL) on the key molecular and cellular mechanisms of its proliferation. **Methods.** Antigen Ki-67, estrogen receptors (ER) and progesterone receptors (PR) were determined by immunohistochemical methods in 230 samples of UL preparations obtained during myomectomy. Depending on the composition of the components of hormonal contraceptives that women used for 12 months before the operation, 8 study groups were created: Group I - control, without the use of any hormonal contraception; Group II - the use of COCs containing 20 µg of ethinylestradiol and 0.075 mg of gestaden; Group III - COCs (30 µg ethinylestradiol and 0.075 mg gestaden) Group IV - COCs (30 µg ethinylestradiol and 0.15 mg desogestrel) Group V - COCs (30 µg ethinyl estradiol and 0.15 mg levonorgestrel) Group VI - COCs (30 µg ethinyl estradiol and 2 mg dienogest) Group VII - COCs (30 µg ethinylestradiol and 3 mg drospirenone) Group VIII - (intrauterine levonorgestrel releasing system (IUD-LNG)). **Results.** In UL samples from group I, an increase of Ki-67 positive cells in 3.4 times was observed ( $3.1 \pm 0.03\%$ ;  $p < 0.04$ ) in comparison with intact myometrium (IM) ( $0.9 \pm 0.06\%$ ), which is evidence of a higher cell proliferation in the UL, a 3.1-fold increase in the H-index of ER expression -  $39.4 \pm 4.3$  ( $p < 0.05$ ) versus  $12.9 \pm 1.6$  in the group with IM I and in 2.6 times of PR expression -  $21.1 \pm 1.7$  ( $p < 0.05$ ) compared to IM -  $8.2 \pm 1.4$ , which may indicate a greater sensitivity of UL to sex hormones and their promoter role in UL proliferation. Expression of Ki-67 in UL samples in women taking COCs, which included dienogest ( $1.8 \pm 0.03\%$ ,  $p < 0.05$ ) - group VI and desogestrel ( $1.9 \pm 0.03\%$ ,  $p < 0.05$ ) - group IV, was, 42.0% and 38.8% respectively, what is less than in group I UL, which can be regarded as the cytoprotective effect of the progestogen component of COC on the mitotic activity of UL cells. A positive trend in the expression of Ki-67 persisted when women used COCs containing gestodene ( $2.1 \pm 0.02\%$ ;  $p < 0.05$ ) - group III and levonorgestrel ( $2.2 \pm 0.04\%$ ,  $p < 0.05$ ) - group V, in which the expression of Ki-67 was shown by a smaller number of PM cells, respectively, by 32.3% and 25.8% than in group I PM, and also to a lesser extent - in group VIII (COC with drospirenone), where the mean value of Ki-67 expression in LM samples was  $2.6 \pm 0.02\%$  and was 16.9% less than in LM group I. An increase in the dose of ethinyl estradiol in COCs from 20 µg (group II) to 30 µg (group III) did not significantly affect the expression of Ki-67, therefore, the content of estrogen in modern low-dose COCs does not contribute to an increase in proliferation in the LM, and the non-contraceptive antiproliferative effect is associated exclusively with biological and the pharmacological properties of individual gestagens in the composition of COCs. It was proved that the studied COCs did not significantly affect the expression of ER and PGR. There was no significant difference in the expression of the Ki-67 marker ( $2.9 \pm 0.04\%$ ,  $p < 0.05$ ) in UL cells in women using LNG-IUD for contraception, compared with group I. **Conclusion.** The results of the study have shown that when choosing a drug for hormonal contraception in women with UL, preference should be given to combined hormonal drugs that contain progestogens with the most pronounced antiproliferative properties (dienogest, desogestrel and levonorgestrel).


**Key words:** uterine leiomyoma, hormonal contraception, proliferation, IHC markers Ki-67, estrogen (ER) and progesterone (PR) receptors.

### Citation:

Finkova EP. [The results of immunohistochemical study of signaling pathways' markers of proliferation in uterine leiomyoma in women using hormonal contraception]. Morphologia. 2021;15(1):67-72. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.1.67-72>

 Finkova E.P. 0000-0001-5150-9200

 admin.mk19@ukr.net

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

## Вступ

Лейоміома матки (ЛМ) є однією з найбільш поширених доброякісних захворювань статеві системи жінок репродуктивного віку. Захворювання діагностується у 20-30% жінок у віці 18-45 років і значна частина з них потребує для регуляції народжуваності в ефективних методах контрацепції [1, 2, 3].

Гормональна контрацепція є найбільш надійним і популярним методом в світі і відповідно до рекомендацій ВООЗ без обмежень може застосовуватися у жінок з ЛМ [4, 5, 6]. У науковій літературі є дані про зниження ризику виникнення пухлини при тривалому використанні гормональної контрацепції (на 17% на кожні 5 років), але є і суперечливі повідомлення про вплив різних способів гормональної контрацепції на проліферативний потенціал вже наявної ЛМ - від стимулюючого до гальмуючого їх ефекту на ріст пухлини [7, 8].

Як відомо, ЛМ є гормонозалежною пухлиною з підвищеною сенсibiliзацією до впливу гормонів яєчників - естрогену і прогестерону, однак вплив їх синтетичних аналогів в складі різних гормональних контрацептивів на гормонозалежні сигнальні шляхи проліферації в пухлині до кінця не встановлено, особливо з огляду на те, що естрогени вважаються загальноприйнятими промоторами пухлинного росту [9, 10, 11, 19], а в останні роки отримані нові дані про провідну роль в патогенезі ЛМ і прогестерону [13, 14, 15, 16].

## Мета

З'ясувати вплив різних компонентів гормональної контрацепції у жінок з ЛМ на ключові молекулярно-клітинні механізми її проліферації.

## Матеріали та методи

У роботу було залучено морфологічні препарати вилучених вузлів ЛМ у 230 жінок, які застосовували з метою контрацепції або лікування аномальних маткових кровотеч гормональні контрацептивні препарати не менше 12 місяців перед операцією міомектомії. Показанням для операції міомектомії було відновлення нормальної анатомії і функції матки у жінок з репродуктивними планами. Вік жінок був від 20 до 40 років (в середньому  $34,4 \pm 3,6$  роки).

Критеріями включення в дослідження були:

- інтрамуральна або субсерозна форма ЛМ (обсяг матки до  $600 \text{ см}^3$ );
- відсутність обмежень або протипоказань до гормональної контрацепції (група 1 - 2 «Критеріїв прийнятності використання низькодозованих комбінованих оральних контрацептивів» у 2-ї редакції ВООЗ).

У відповідності до мети роботи, імуногістохімічні дослідження (ІГХ) стану клітинної проліферації було проведено у 30 зразках ЛМ в кожній групі, які були сформовані в залежності від складу компонентів гормональних контра-

цептивів у наступний спосіб:

I група – контрольна, без будь-якої гормональної контрацепції;

II група - 20 мкг етинілестрадіолу і 0,075 мг гестагену;

III група –30 мкг етинілестрадіолу і 0,075 мг гестагену;

IV група - 30 мкг етинілестрадіолу і 0,15 мг дезогестрелу;

V група - 30 мкг етинілестрадіолу і 0,15 мг левоноргестрелу;

VI група - 30 мкг етинілестрадіолу і 2 мг діеногесту;

VII група - 30 мкг етинілестрадіолу і 3 мг дроспіренону;

VIII група – внутрішньоматкова система, яка вивільнює левоноргестрел (ВМС-ЛНГ).

Для порівняння стану проліферації в ЛМ проводили також аналогічне дослідження експресії ІГХ антигенів в інтактному міометрії (ІМ) поряд з пухлиною.

ІГХ дослідження в зразках ЛМ проводили з застосуванням моноклональних антитіл до ядерних і внутрішньоклітинних антигенів: протеїну (маркер проліферації) Ki-67 (клон MIB-1, DAKO; клон SP6, LabVision), рецепторів стероїдних гормонів: ER (клон 1D5, DAKO; клон SP1, LabVision) та PR (клон PgR 636, DAKO; клон SP2, LabVision) з використанням системи візуалізації UltraVision LP (LabVision) та LSAB2, EnVision (Dako). Фотореєстрацію препаратів здійснювали за допомогою мікроскопу N306 (Японія) з цифровою фотокамерою DM800 (Японія). Оцінка експресії кожного маркера проводилась індивідуально у відповідності з загальноприйнятими методиками з використанням напівкількісного аналізу [ 17, 18 ].

## Результати та їх обговорення

Відомим ІГХ маркером проліферації є антиген Ki-67, що являє собою білковий комплекс, який з'являється в цитоплазмі клітини в синтетичну фазу клітинного циклу (фаза S) після виходу клітини зі стану спокою (G0-G1) і вступу її в наступні фази підготовки до мітозу. Таким чином він дозволяє визначити кількість клітин, які вступають в мітотичний цикл, а отже характеризує проліферативний потенціал досліджуваної тканини або пухлини.

У інтактному міометрії (ІМ), оточуючого вузли ЛМ, кількість клітин, у яких було виявлено експресію антигену Ki-67, було не більше 1% ( $0,9 \pm 0,06\%$ ), що підтверджує існуючу думку, що клітини м'язу матки відносяться до категорії клітин, які практично не діляться протягом свого життя за винятком періоду вагітності і в випадках виникнення пухлини (рис.1).

У зразках ЛМ I групи, ми спостерігали збільшення в 3,4 рази кількості позитивних клітин з позитивним ІГХ-забарвленням в реакції з антигеном Ki-67 ( $3,1 \pm 0,03\%$ ;  $p < 0,04$ ) у

порівнянні з ІМ ( $0,9 \pm 0,06\%$ ), тобто більш ніж трикратне збільшення мітотичної активностей

наслідок зміни їх фенотипових властивостей, які притаманні пухлинам (рис. 2).

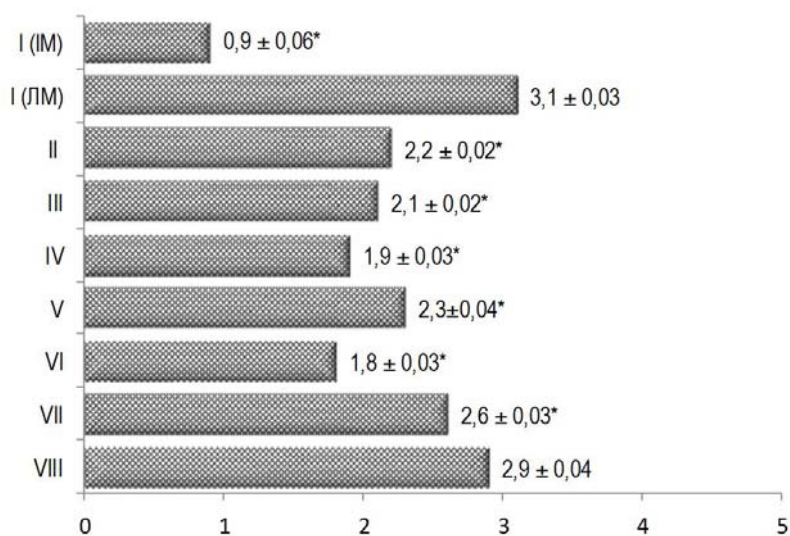


Рис. 1. Експресія антигену Ki-67 в досліджених групах зразків (% клітин з позитивною ІГХ-реакцією).

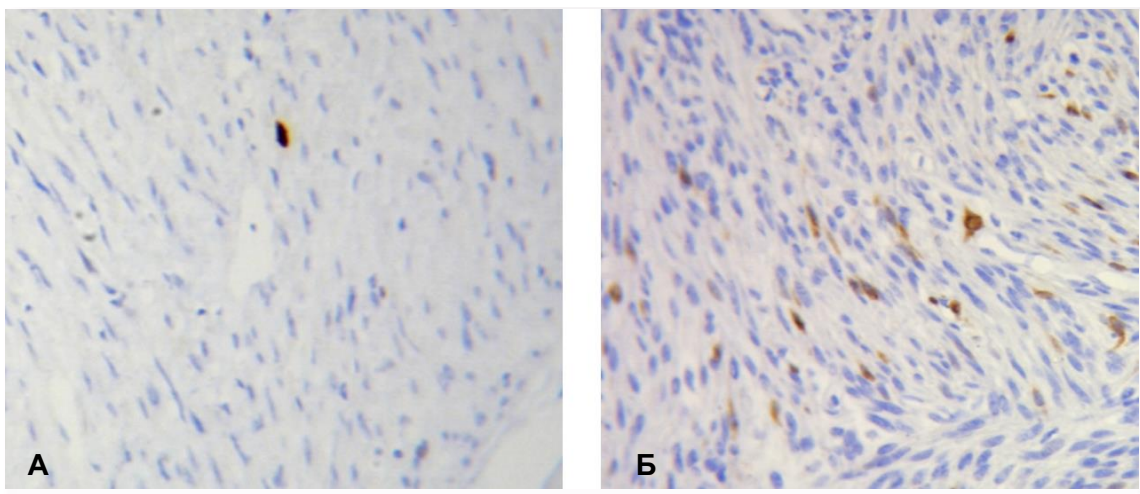


Рис. 2. Експресія антигену Ki-67 в міоцитах а) ІМ і б) ЛМ. ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксилином Маєра.  $\times 400$ .

Слід підкреслити, що всі КОК, які було досліджено, за результатами експресії Ki-67 не збільшують проліферацію у ЛМ, навпаки сприяють її зменшенню у порівнянні з цим показником к групі 1 (ЛМ), де жінки гормональну контрацепцію не застосовували.

Як свідчить з рисунку 1, експресія Ki-67 в зразках ЛМ у жінок, які приймали КОК, до складу яких входили діногест ( $1,8 \pm 0,03\%$ ;  $p < 0,05$ ) – VI група і дезогестрел ( $1,9 \pm 0,03\%$ ;  $p < 0,05$ ) – IV група, була відповідно на 42,0% і 38,8% меншою, ніж в групі I ЛМ, що можна розцінювати як цитопротекторний ефект гестагенного компоненту КОК на мітотичну активність клітин ЛМ.

Зменшення кількості клітин ЛМ з експресією Ki-67 відбулося і при застосуванні жінками

КОК в складі яких був присутній гестоден ( $2,1 \pm 0,02\%$ ;  $p < 0,05$ ) – III група і левоноргестрел ( $2,2 \pm 0,04\%$ ;  $p < 0,05$ ) – V група, в яких індекс проліферації виявився меншим відповідно на 32,3% і 25,8% ніж в групі I ЛМ.

Дещо менший цитопротекторний ефект був продемонстрований в групі VII, де жінки приймали КОК, у складі яких був присутній дроспирідон. За результатами ІГХ-дослідження, середні значення експресії Ki-67 в зразках ЛМ цієї групи склали  $2,6 \pm 0,02\%$  і були на 16,9% меншими ніж в групі I ЛМ.

Слід підкреслити, що збільшення в КОК дози етинілестрадіолу з 20 мкг (група II) до 30 мкг (група III) не відбулося істотно на показниках експресії ІГХ-маркера Ki-67, отже вміст цього

естрогену у сучасних низькодозованих КОК не сприяє підвищенню проліферації в ЛМ. Цей факт ще раз підкреслює, що неконтрацептивні ефекти КОК, перш за все антипроліферативні, пов'язані виключно з біологічними і фармакологічними властивостями окремих гестагенів.

Як видно з рисунку 1, ми не виявили достовірної різниці в експресії маркера Ki-67 ( $2,9 \pm 0,04\%$ ;  $p > 0,05$ ) в клітинах ЛМ у жінок, які застосовували у якості контрацепції ВМС-ЛНГ в порівнянні з аналогічним показником в групі І ЛМ. З одного боку, це було очікувано, враховуючи, що ефект  $0,02$  мг/добу левоноргестролу, що вивільнюється з депо системи, реалізується безпосередньо в ендометрії, в той час як в системний кровообіг гормон потрапляє в  $100$  разів меншій кількості, з іншого боку, це не підтверджує ствердження деяких авторів [19, 20, 21] щодо антипроліферативного впливу ВМС-ЛНГ при лейоміомі матки.

Одним з механізмів проліферації в ЛМ може бути підвищена в трансформованих міоцитах пухлини в  $3,1$  рази експресія естрогенових рецепторів (ER), яка склала за показником Н-індексу  $39,4 \pm 4,3$ ;  $p < 0,05$ ) проти  $12,9 \pm 1,6$  в групі І ЛМ, що свідчить про більшу чутливість ЛМ до естрогенових гормонів і можливість їх впливу, як промоторів, на проліферацію. Але нами не було виявлено істотного впливу всіх досліджених КОК, до містять етинілестрадіол, на експресію індексу проліферації Ki-67.

Дискусійним є питання потенційного впливу прогестерону на проліферацію ЛМ, отже в останні роки з'явилися наукові роботи щодо підвищеної експресії PGR в тканинах ЛМ і можливості її лікування селективними модуляторами PGR, але до сього часу не з'ясовано механізм їх впливу на пригнічення клітинної проліферації, чи є це блокування або стимуляція PGR [ 22]. Нами також в проведеному дослідженні було виявлено підвищення в  $2,6$  рази експресії прогестеронових рецепторів (PGR) в тканинах ЛМ за показником Н-індексу ( $21,1 \pm 1,7$ ;  $p < 0,05$ ) в

порівнянні з ІМ (група І ІМ) –  $8,2 \pm 1,4$ . Але, як було показано вище, синтетичні гестагени у складі КОК, не підвищували експресії антигену Ki-67, а навпаки сприяли її гальмуванню у клітинах ЛМ.

Слід підкреслити, що досліджені нами КОК не впливали суттєво на експресію ER і PGR, що може свідчити про те, що синтетичні естрогени і гестагени, як компоненти КОК, не впливають на генетично детерміновану функцію геному з регуляції експресії ER і PGR, а також не викликають специфічного їх руйнування в процесі взаємодії з ними.

#### **Підсумок**

На підставі проведеного дослідження можна констатувати, що при виборі препарату для гормональної контрацепції у жінок з ЛМ перевагу необхідно віддавати комбінованим гормональним препаратам, які містять в своєму складі гестагени з найбільш вираженими антипроліферативними властивостями (діногест, дезогестрел і левоноргестрел), а також можуть сприяти профілактиці рецидиву пухлини у жінок, які планують застосування гормональної контрацепції після операції міомектомії.

#### **Перспективи подальших досліджень**

Отримані результати щодо протекторного впливу окремих гормональних контрацептивів на проліферацію в ЛМ безумовно є підставою для подальшого вивчення можливості їх застосування для профілактики рецидивів ЛМ після операції міомектомії.

#### **Інформація про конфлікт інтересів**

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається

#### **Джерела фінансування**

Робота виконана в межах науково-дослідницької роботи «Розробка нових підходів до діагностики, лікування та профілактики гінекологічної та акушерської патології» (номер державної реєстрації 0118u001277).

#### **Літературні джерела**

#### **References**

1. Kaminsky VV, Potapov VV, Medvedev MV. [The current principle of organ-conserving treatment of women with leiomyoma of the uterus]. Methodical recommendations. 2012. 32 p. Ukrainian.
2. Manusharova RA. [Modern prolonged methods of contraception in the treatment of uterine fibroids]. Attending physician. 2004;1:62-65. Ukrainian.
3. Melnik YN. [The choice of a method of contraception in women with uterine fibroids]. Medical aspects of women's health. 2010;7(36):48-53.

Ukrainian.

4. A set of practical recommendations for the use of contraception. Second edition. WHO, Geneva. 2005. 150 p.

5. [The use of oral contraceptives in women of reproductive age: Ukrainian interdisciplinary consensus]. 2006. 20 p. Ukrainian.

6. Tatarchuk TF, Shevchuk TV, Bodryagova TF. [Non-contraceptive effects of gestagens - criteria for an individual approach to the appointment of hormonal contraception]. Women's reproductive health. 2006;1(25):177-181. Ukrainian.

7. Tikhomirov AL, Oleinik CG. [Uterine fibroids and hormonal contraception]. *Women's Health*. 2008;2(34):90-96. Russian.
8. Kaunitz AM. Progestin-releasing intrauterine systems and leiomyoma. *Contraception*. 2007;75(6):130-3.
9. Pamfamirov YK, Zabolotnov VA, Pamfamirova GL. [Modern views on the etiology, pathogenesis and treatment of uterine fibroids]. *Women's health*. 2011;5(61):15-20. Ukrainian.
10. Potapov VO, Donska Y, Medvedev MV. [Histological and immunological assessment of myoma tissue and endometrium in patients with uterine leiomyoma and endometrial hyperplasia]. *Morphology*. 2014;8(1):80-84. Ukrainian.
11. Valladares F, Frias I, Bajez D. Characterization of estrogen receptors alpha and beta in uterine leiomyoma. *Fertil. Steril*. 2006;86(6):1736-1743.
12. Maruo T, Ohara N, Wang J. Sex steroidal regulation of uterine leiomyoma growth and apoptosis. *Hum. Reprod. Update*. 2004;10(3):207-220.
13. Demina TN, Chaika KV, Zhikharsky RV. [Influence of the biological action of progesterone on the processes of apoptosis in the myomatous nodes in women of reproductive age]. *Mediko-sotsial'nye problemi sim'i*. 2013;2(18):43-49. Ukrainian.
14. Nosenko EN, Skidanova EA. [Progesterone and uterine leiomyoma]. *Medical and social problems of the system*. 2013;3(18):105-115. Ukrainian.
15. Blake RE. Leiomyomata uteri: hormonal and molecular determinants of growth. *J.Natl.Med.Assoc*. 2007;99(10):1170-84.
16. Maruo T. Progesterone and progesterone receptor modulator in uterine leiomyoma growth. *Gynecological Endocrinology*. 2007;4:186-187.
17. Osinsky SP, Gluzman DF, Cliff J, Giese NA, Friss G. [Molecular diagnostics of tumors]. Kiev: DIA; 2007, 248 p. Ukrainian.
18. Potapov VO, Donska YV, Medvedev MV. [Histological and immunological assessment of myoma tissue and endometrium in patients with uterine leiomyoma and endometrial hyperplasia]. *Morphology*. 2014;8(1): 80-84. Ukrainian.
19. Kaminsky VV, Zhuk SI, Grigorenko AN. [Scientific and practical experience of using the levonorgestrel-releasing system: contraceptive and therapeutic effects (literature review)]. *Women's health*. 2006;28(4):237-246. Ukrainian.
20. Kosey NV. [Optimization of organ-preserving treatment of uterine leiomyoma using levonorgestrel-releasing system]. *Women's health*. 2007;3(31):91-98.
21. Varma R, Sinha D, Gupta JK. Non-contraceptive uses of levonorgestrel-releasing hormone system (LNG-IUS) - a systematic inquiry and overview. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. 2006;125(1):9-28.
22. Ohara N. Selective estrogen receptor modulator and selective progesterone receptor modulator: therapeutic efficacy in the treatment of uterine leiomyoma. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol*. 2005;32(1):9-11.

**Фінкова О.П. Результати імуногістохімічного дослідження маркерів сигнальних шляхів проліферації в лейоміомі матки у жінок, які використовують гормональну контрацепцію.**

**РЕФЕРАТ. Мета.** З'ясувати вплив різних компонентів гормональної контрацепції у жінок з ЛМ на ключові молекулярно-клітинні механізми її проліферації. **Методи.** Проведено імуногістохімічними методами визначення антигену Ki-67, рецепторів естрогену (ER) і прогестерону (PR) у 230 зразках препаратів ЛМ, вилучених під час операції міомектомії. В залежності від складу компонентів гормональних контрацептивів, які жінки застосовували на протязі 12 місяців напередодні операції, було сформовано 8 груп дослідження: I група – контрольна, без застосування будь-якої гормональної контрацепції; II група – застосування КОК з вмістом 20 мкг етинілестрадіолу і 0,075 мг гестадену; III група – КОК (30 мкг етинілестрадіолу і 0,075 мг гестадену); IV група – КОК (30 мкг етинілестрадіолу і 0,15 мг дезогестрелу); V група – КОК (30 мкг етинілестрадіолу і 0,15 мг левоноргестрелу); VI група – КОК (30 мкг етинілестрадіолу і 2 мг діеногесту); VII група – КОК (30 мкг етинілестрадіолу і 3 мг дроспіренону); VIII група – (внутрішньоматкова система, яка вивільнює левоноргестрел (ВМС-ЛНГ)). **Результати.** У зразках ЛМ I групи спостерігали збільшення в 3,4 рази кількості позитивних клітин з ПГХ-забарвленням в реакції з антигеном Ki-67 ( $3,1 \pm 0,03\%$ ;  $p < 0,04$ ) у порівнянні з ІМ ( $0,9 \pm 0,06\%$ ), що є свідченням підвищення клітинної проліферації в ЛМ, підвищення в 3,1 рази за Н-індексом експресії ER -  $39,4 \pm 4,3$  ( $p < 0,05$ ) проти  $12,9 \pm 1,6$  в групі I ЛМ I і в 2,6 рази експресії PGR -  $21,1 \pm 1,7$  ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з ІМ -  $8,2 \pm 1,4$ , що може свідчити про більшу чутливість ЛМ до статевих гормонів і їх вплив, як промоторів проліферації в ЛМ. Експресія Ki-67 в зразках ЛМ у жінок, які приймали КОК, до складу яких входили діеногест ( $1,8 \pm 0,03\%$ ;  $p < 0,05$ ) – VI група і дезогестрел ( $1,9 \pm 0,03\%$ ;  $p < 0,05$ ) – IV група, була відповідно на 42,0% і 38,8% меншою, ніж в групі I ЛМ, і що можна розцінювати і як цитопротекторний ефект гестагенного компоненту КОК на мітогічну активність клітин ЛМ. Позитивна тенденція в експресії Ki-67 зберіглася і при застосуванні жінками КОК в складі яких був присутній гестоден ( $2,1 \pm 0,02\%$ ;  $p < 0,05$ ) - III група і левоноргестрел ( $2,2 \pm 0,04\%$ ;  $p < 0,05$ ) – V група, в яких експресію Ki-67 проявляли менша кількість клітин ЛМ відповідно на 32,3% і 25,8% ніж в групі I ЛМ, а також в меншому ступені - в групі VII (КОК з дро-

сперидоном), де середнє значення експресії Ki-67 в зразках ЛМ склало  $2,6 \pm 0,02\%$  і було лише на 16,9% меншим ніж в групі I ЛМ. Збільшення в КОК дози етинилестрадіолу з 20 мкг (група II) до 30 мкг (група III) істотно не вплинуло на експресію Ki-67, отже вміст естрогенів у сучасних низькодозованих КОК не сприяє підвищенню проліферації в ЛМ, а неконтрацептивний антипроліферативний ефект пов'язаний виключно з біологічними і фармакологічними властивостями окремих гестагенів в складі КОК. Доведено. Що досліджені КОК не впливали суттєво на експресію ER і PGR. Не було виявлено достовірної різниці в експресії маркера Ki-67 ( $2,9 \pm 0,04\%$ ;  $p > 0,05$ ) в клітинах ЛМ у жінок, які застосовували у якості контрацепції ВМС-ЛНГ в порівнянні з I групою. **Підсумок.** Результати дослідження показують, що при виборі препарату для гормональної контрацепції у жінок з ЛМ перевагу необхідно віддавати комбінованим гормональним препаратам, які містять в своєму складі гестагени з найбільш вираженими антипроліферативними властивостями (дієногест, дезогестрел і левоноргестрел).

**Ключові слова:** лейоміома матки, гормональна контрацепція, проліферація, ІГХ маркери Ki-67, рецептори до естрогену (ER) і прогестерону (PR).

**Финкова Е.П. Результаты иммуногистохимического исследования маркеров сигнальных путей пролиферации в лейомиоме матки у женщин, использующих гормональную контрацепцию.**

**РЕФЕРАТ. Цель.** Выяснить влияние различных компонентов гормональной контрацепции у женщин с лейомиомой матки (ЛМ) на ключевые молекулярно-клеточные механизмы ее пролиферации. **Методы.** Проведено иммуногистохимическими методами определение антигена Ki-67, рецепторов эстрогена (ER) и прогестерона (PR) в 230 образцах препаратов ЛМ, удаленных во время операции миомэктомии. В зависимости от состава компонентов гормональных контрацептивов, которые женщины применяли в течение 12 месяцев перед операцией, было сформировано 8 групп исследования: I группа - контрольная, без применения какой-либо гормональной контрацепции; II группа - применение КОК с содержанием 20 мкг этинилэстрадиола и 0,075 мг гестагена; III группа - КОК (30 мкг этинилэстрадиола и 0,075 мг гестагена) IV группа - КОК (30 мкг этинилэстрадиола и 0,15 мг дезогестрела) V группа - КОК (30 мкг этинилэстрадиола и 0,15 мг левоноргестрела) VI группа - КОК (30 мкг этинилэстрадиола и 2 мг диеногеста) VII группа - КОК (30 мкг этинилэстрадиола и 3 мг дроспиренона) VIII группа - (внутриматочная система, которая высвобождает левоноргестрел (ВМС-ЛНГ)). **Результаты.** В образцах ЛМ I группы наблюдали увеличение в 3,4 раза количества положительных клеток с ИГХ-окраской в мноклональной реакции с антигеном Ki-67 ( $3,1 \pm 0,03\%$ ;  $p < 0,04$ ) в сравнении с интактным миометрием (ИМ) ( $0,9 \pm 0,06\%$ ), что является свидетельством более высокой клеточной пролиферации в ЛМ, повышение в 3,1 раза H-индекса экспрессии ER -  $39,4 \pm 4,3$  ( $p < 0,05$ ) против  $12,9 \pm 1,6$  в группе с ИМ I и в 2,6 раза экспрессии PGR -  $21,1 \pm 1,7$  ( $p < 0,05$ ) по сравнению с ИМ -  $8,2 \pm 1,4$ , что может свидетельствовать о большей чувствительностью ЛМ к половым гормонам и их промоторную роль в пролиферации ЛМ. Экспрессия Ki-67 в образцах ЛМ у женщин, принимавших КОК, в состав которых входили диеногест ( $1,8 \pm 0,03\%$ ,  $p < 0,05$ ) - VI группа и дезогестрел ( $1,9 \pm 0,03\%$ ,  $p < 0,05$ ) - IV группы, была соответственно на 42,0% и 38,8 % меньше, чем в группе I ЛМ, что можно расценивать и как цитопротекторный эффект гестагенного компонента КОК на митотическую активность клеток ЛМ. Положительная тенденция в экспрессии Ki-67 сохранилась и при применении женщинами КОК в составе которых присутствовал гестоден ( $2,1 \pm 0,02\%$ ;  $p < 0,05$ ) - III группа и левоноргестрел ( $2,2 \pm 0,04\%$ ,  $p < 0,05$ ) - V группа, в которых экспрессию Ki-67 проявляли меньшее количество клеток ЛМ соответственно на 32,3% и 25,8%, чем в группе I ЛМ, а также в меньшей степени - в группе VII (КОК с дросперионом), где среднее значение экспрессии Ki-67 в образцах ЛМ составило  $2,6 \pm 0,02\%$  и было на 16,9 % меньше чем в группе I ЛМ. Увеличение в КОК дозы этинилэстрадиола с 20 мкг (група II) до 30 мкг (група III) существенно не повлияло на экспрессию Ki-67, следовательно содержание эстрогенов в современных низкодозированных КОК не способствует повышению пролиферации в ЛМ, а неконтрацептивний антипроліферативний ефект связан исключительно с биологическими и фармакологическими свойствами отдельных гестагенов в составе КОК. Доказано, что исследованные КОК не влияли существенно на экспрессию ER и PGR. Не было выявлено достоверной разницы в экспрессии маркера Ki-67 ( $2,9 \pm 0,04\%$ ,  $p < 0,05$ ) в клетках ЛМ у женщин, использовавших с целью контрацепции ВМС-ЛНГ, по сравнению с I группой. **Итог.** Результаты исследования показывают, что при выборе препарата для гормональной контрацепции у женщин с ЛМ предпочтение необходимо отдавать комбинированным гормональным препаратам, которые содержат в своем составе гестагены с наиболее выраженными антипролиферативными свойствами (диеногест, дезогестрел и левоноргестрел).

**Ключевые слова:** лейомиома матки, гормональная контрацепция, пролиферація, ІГХ маркери Ki-67, рецептори к естрогену (ER) и прогестерону (PR).