

Д.А. Хасхачих  
В.О. Потапов  
О.В. Пославська

Дніпровський державний  
медичний університет,  
Дніпро, Україна


Надійшла: 18.09.2022

Прийнята: 15.10.2022

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.3.118-126>

УДК 616007.61:618.14:615.357:577.171.6:612.63.03

## МОЛЕКУЛЯРНІ КРИТЕРІЇ ДІАГНОСТИКИ ГОРМОНОРЕЗИСТЕНТНИХ ФОРМ ГІПЕРПЛАЗІЇ ЕНДОМЕТРІЯ БЕЗ АТИПІЇ У ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ

Khaskhachykh D.A. , Potapov V.O. , Poslavskaya O.V.  Molecular criteria for the diagnosis of hormone-resistant forms of endometrial hyperplasia without atypia in women of reproductive age.

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

**ABSTRACT. Introduction.** Endometrial hyperplasia is a fairly widespread disease of the female reproductive sphere and occupies one of the leading places among the proliferative processes of the endometrium. In most cases, this pathology occurs in women of reproductive age and has a benign course. One of the main factors that unite all these factors is the excessive influence of estrogens, with the lost protection of progesterone on the endometrium. **Aim.** To investigate the molecular factors that can influence on the decrease in the sensitivity of endometrial tissue to the action of progesterone for the differential diagnosis of hormone-resistant forms of endometrial hyperplasia. **Methods.** The study was conducted in the department of obstetrics and gynecology on the basis of the perinatal center of the Dnipro Clinical Hospital in 2017-2019 in 25 women of reproductive age (25-46 years) with abnormal uterine bleeding in scrapings, in which endometrial hyperplasia without atypia was confirmed by morphological method. Samples of endometrial hyperplasia without atypia, fixed in formalin and embedded in paraffin, were taken from the archives of the " Dnipro Clinical Hospital 9". Microscopy was carried out using a ZEISS "Primo Star" light microscope with a Zeiss Primo Star - Axiocam ERC 5s camera and the use of licensed ZEN 2 blue edition software. Primary monoclonal antibodies against ER (sp1, RTU), PgR (YR85, 1:200), E-cadherin (EP700Y, RTU), b-catenin (E247, RTU) and the UltraVision Quanto imaging system (LabVision) were used for immunohistochemical examination. **Results.** A change in the PR-A:PR-B ratio that affects the sensitivity of endometrial hyperplasia to conventional hormone therapy in women of reproductive age was investigated. Micronized progesterone was used for treatment at a dose of 200 mg per day for 3 months. A control study of an endometrial biopsy after 3 months of therapy showed that 74% had a histological normalization of the ratio of the stromal and epithelial components, and 18.7% were diagnosed with simple atypical hyperplasia of the endometrium. 7.3% of women were diagnosed with complex atypical hyperplasia of the endometrium. Before treatment, there was low expression of PR-A in endometrial glands ( $P = 0.013$ ) and stroma ( $P < 0.001$ ) and high expression of PR-B in endometrial glands ( $P = 0.001$ ) in endometrial biopsy. Thus, the study showed that in women with resistance to progesterone therapy in 86.4% of cases, E-cadherin expression was absent, and in 13.6% it was reduced. In progestin-positive women, E-cadherin expression was weak in 49.2% of cases, moderate in 34.4%, and negative in 16.4%, indicating a relationship between PgR and E-cadherin expression. Also, in women with endometrial hyperplasia without atypia with no effect from the use of progestins, the membrane-cytoplasmic expression of b-catenin reached 80% of cases, which can be interpreted as a fairly sensitive marker of the progression of non-atypical endometrial hyperplasia into an atypical form. **Conclusion.** The study showed that the use of progestins for the treatment of endometrial hyperplasia without atypia in women may be ineffective in cases where there is a low expression of progesterone receptors in the glandular epithelium, therefore their use is not appropriate and other therapy should be chosen depending on age and reproductive function. Given the small percentage of transformation of endometrial hyperplasia without atypia in women of reproductive age into atypical forms and endometrial cancer (~1%), it is best to focus the efforts of scientists and doctors on preventing relapses of the disease, which lead to the development of abnormal uterine bleeding, reduced fertility, and worsen the prognosis of disease progression.


**Key words:** endometrial hyperplasia, hormone resistance, immunohistochemistry.

### Citation:

Khaskhachykh DA, Potapov VO, Poslavskaya OV. [Molecular criteria for the diagnosis of hormone-resistant forms of endometrial hyperplasia without atypia in women of reproductive age]. Morphologia. 2022;16(3):118-26. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.3.118-126>

 Khaskhachykh D.A. 0000-0001-5097-6667

 Potapov V.O. 0000-0001-7498-7416

 Poslavskaya O.V. 0000-0002-3133-8413

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

## Вступ

Гіперплазія ендометрія (ГЕ) - це стан надмірної проліферації епітеліальних клітин і потовщення ендометрія, що зазвичай виникає в результаті хронічного впливу естрогенів без протидії, пов'язаної з дефіцитом прогестерону [1,2]. ГЕ доволі розповсюджене захворювання жіночої репродуктивної сфери й займає одне з провідних місць серед проліферативних процесів ендометрія [3]. В більшій частині випадків ця патологія зустрічається у жінок репродуктивного віку і має доброякісний характер плинну. Проведений аналіз випадків прогресії ГЕ без атипії в рак ендометрія спостерігається менш ніж в 1 % випадків (відносний ризик 1,01–1,03 %) [4-6].

Фактори ризику, пов'язані з розвитком ГЕ є різноманітними. Доволі часто спостерігається комбінація факторів, які проявляють себе як безпосередня причина і стають промоутерами розвитку патологічного процесу [7,8]. До них відносяться:

1. Вік;
2. Відсутність пологів;
3. Ожиріння;
4. Генетичні поломки;
5. Цукровий діабет;
6. Ановуляторні цикли – синдром полікістозних яєчників, перименопауза;
7. Пухлини яєчників – гранульозоклітинні пухлини;
8. Замісна гормональна терапія – терапія лише естрогенами може призвести до гіперплазії ендометрія навіть у мінімальній дозі та протипоказана жінкам з маткою, наприклад, безрецептурні/трав'яні препарати можуть містити велику кількість естрогену [9];
9. Імуносупресія (реципієнти ниркового трансплантату) та інфекція також можуть бути залучені до розвитку гіперплазії ендометрія [10,11];
10. Спадковий не поліпозний колоректальний рак або синдром Лінча – у жінок із цим захворюванням значно підвищений ризик гіперплазії ендометрія [12,13].

Врахування цих факторів є необхідним для формування стратегії лікування жінок з ГЕ без атипії, особливо враховуючи бажання жінок до збереження фертильності. Одним з основних чинників, які об'єднують всі ці фактори, це надмірний вплив естрогенів, при втраченій протекції прогестерону на ендометрій.

При нормальному плинні менструального циклу естрогени призводять до фізіологічної проліферації (регенерації) ендометрія після фази його десквамації. Гістологічно в цю фазу спостерігається збільшення залоз, а співвідношення залоз та стромы становить менше ніж 50 %. Після овуляції у лютеїновій фазі в ендометрії виявляються секреторні зміни під дією прогестерону. У секреторній фазі нормальні ендометріальні залоз-

зи можуть виявляти такі особливості, як мінімальна скупченість та невелике збільшення співвідношення залоз до стромы. Попри ці особливості, залози ендометрія організовані, а клітини залоз не виявляють мітозів. Існує думка, що прогестерон зупиняє поділ стромальних клітин і призводить до їх диференціювання.

При ГЕ без атипії співвідношення залоз та стромы збільшується більш ніж на 50 %. Також може спостерігатися кістозна дилатація з рідкісними випинаннями та мітозами. Гістологічно у залозах може спостерігатися легка скупченість, проте клітинної атипії немає.

При ГЕ з атипією співвідношення залоз та стромы збільшується ще більше. Спостерігається дезорганізація залоз з розширенням просвіту, мітозами та ядерною атипією. Відмінність між злоскісною та доброякісною проліферацією клітин залоз досить тонка. У цьому стані маркери атипової гіперплазії, такі як крибриформний та лабіринтний малюнок з розташованими «спинка до спинки» залозами, часто допомагають патоморфологам поставити діагноз ГЕ з атипією [14].

Прогестерон є одним з ключових стероїдних гормонів у комплексній регуляції жіночих репродуктивних функцій, що значною мірою контролюються в багатьох органах, таких як матка, яєчники, молочна залоза та головний мозок [15]. Високі рівні прогестерону виробляються жовтим тілом та плацентою, що необхідно для підтримки успішної вагітності. Крім вагітності, більшість жіночих репродуктивних процесів також контролюються прогестероном, включаючи дозрівання ооцитів, овуляцію, менструацію, полегшення імплантації та децидуалізації, зростання матки, придушення скорочення міометрія, розвиток молочної залози, регуляцію вироблення молока та сексуальну поведінку [16]. Дія прогестерону опосередкована рецепторами прогестерону (PGR). PGR складається в основному з двох ядерних ізоформ (PRA та PRB), які мають різні патерни експресії та функціональні профілі [17]. Один ген із незалежно регульованими промоторами відповідає за кодування PRA та PRB, виробляючи аналогічні білки з PRB, що мають додаткові 164 амінокислоти на N-кінці [18]. Характеристика мутацій PRA чи PRB у самок мишей свідчить про те, що PRA переважно регулює функції PGR матки, тоді як PRB важливий у розвиток молочних залоз [19,20]. У той час як прогестерон та його активація підпорядкованих механізмів опосередковані PGR, дії прогестерону тісно інтегровані з естрогеном та його сигналами у відповідь [14,21-23].

Ендометрій, слизова оболонка матки, є однією з найдинамічніших тканин у дорослих. Ендометрій піддається постійному циклу ремоделювання, включаючи відторгнення, проліферацію шарів, що регенерують, і диференціюван-

ня під час менструації. Ці процеси в основному знаходяться під контролем стероїдних гормонів яєчників, естрогену та прогестерону. В ендометрії людини естроген стимулює відновлення тканин та проліферацію епітелію під час проліферативної фази, а естроген та прогестерон сприяють потовщенню ендометрія після овуляції. Підвищені концентрації прогестерону зрештою пригнічують дію естрогенів, викликаючи децидуалізацію під час секреторної фази [24,25]. Протягом репродуктивного періоду у жінок, які охоплюють кілька десятиліть, шари ендометрія багаторазово відновлюються, проліферують, а потім відторгаються. Всі ці послідовні зміни відбуваються з однією ціллю - підтримки активної репродуктивної функції. Однак втрата гормонального балансу, порушення гормонозалежних сигнальних механізмів та/або аберантне запалення викликають нечутливість до гормонів, залежність/домінування естрогену та резистентність до прогестерону. Зниження клітинної чутливості до прогестерону та/або нездатність активувати PGR призводить до порушення імплантації та розвитку гінекологічних захворювань [26-29]. Грунтуючись на жорстко регульованих функціях естрогену та прогестерону в ендометрії, контроль рівнів естрогену та прогестерону за допомогою гормональної терапії був основною стратегією управління фізіологією ендометрія та менструацією. Ендометрій доволі чутливий до сигналів навколишнього середовища (включаючи вплив, що викликає порушення ендокринної системи), запальних сигналів та інших невідомих факторів, які змінюють та порушують регуляцію гормональних клітинних функцій ендометрія. Це призводить до змін експресії підпорядкованих генів та епігенетичних міток, які ще більше ускладнюють регуляцію тканини ендометрія, створюючи не чутливі до гормонів середовище [30-33]. Пошук цих чинників є важливою задачею дослідників.

Останні роки дослідження показали, що не менш активну роль в реалізації ефектів естрадіолу і прогестерону відіграють паракринні фактори – специфічні білки, які є факторами стимуляції і приборкання росту ендометрія, а також міжклітинної взаємодії. Дуже цікавими для дослідження є такі білки, як E-кадгерін і b-катенін. Вони забезпечують здатність клітин до міжклітинної взаємодії (адгезії), і їх зміни можуть вказувати на ризик сепарації клітин – роз'єднання та випадіння з групи собі подібних, що притаманно злоякісним пухлинам. Дослідження впливу таких факторів може дати додаткові дані для розуміння патогенезу розвитку зниження чутливості ендометріальної тканини до дії прогестерону, шляхів лікування і профілактики її онкологічного перетворення [37].

#### **Мета**

Дослідити молекулярні фактори, які можуть

мати вплив на зниження чутливості ендометріальної тканини до дії прогестерону для диференціальної діагностики гормонорезистентних форм гіперплазії ендометрія.

#### **Матеріали та методи**

Дослідження проводилося в гінекологічному відділенні на базі перинатального центру міської клінічної лікарні м. Дніпро в 2017-2019 рр. Дослідження погоджено на засіданні комісії з біоетики Дніпровського державного медичного університету №1 від 16.01.17 р. Всі жінки, що брали участь в спостереженні отримали необхідну інформацію о цілях і можливих наслідках дослідження та дали письмову поінформовану згоду.

Проспективне дослідження було проведено у 25 пацієнток репродуктивного віку (25-46 років) з аномальними матковими кровотечами (АМК) в зішкрібах, в яких морфологічним методом була виявлена GE без атипії. Матеріал для морфологічного та імуногістохімічного дослідження отримували шляхом вишкрібання порожнини матки. Всі жінки отримувала терапію шляхом призначення мікронізованого прогестерону в сублінгвальній формі в дозі 50 мг двічі на добу в безперервному режимі упродовж 6 місяців.

Ефективність терапії оцінювали за морфологічним критерієм через 6 місяців, шляхом проведення офісної гістоскопії з біопсією ендометрія. Задовільним результатом лікування вважався, якщо спостерігалось відновлення фізіологічної трофіки ендометрія, відсутність рецидивів та прогресування гіперпластичного процесу. Критеріями для включення в імуногістохімічне і морфометричне дослідження були: наявність в зішкрібі з порожнини матки під час гістологічного дослідження ендометрію з явищами простої або комплексної гіперплазії без атипії при достатній кількості матеріалу в зішкрібі.

*Морфологічний метод дослідження.* Зразки GE фіксованих у формаліні і залиті парафіном були взяті з архіву КЗ «Дніпровська клінічна лікарня №9». Парафінові зрізи 4-5мм були отримані на мікромомі Microm HM-340 і забарвлених за стандартною методикою гематоксиліном й еозином. Мікроскопія проводилась за допомогою світлового мікроскопу ZEISS "Primo Star" (об'єктиви  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ). Для отримання мікрофотографій використовувалась камера мікроскопу Zeiss Primo Star - AxioCam ERC 5s з ліцензованим програмним забезпеченням ZEN 2 blue edition.

*Імуногістохімічний метод дослідження.* Парафінові зрізи наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrost Plus. Після депарафінізації, регідратації, температурного демаскування антигенів та пригнічення активності ендогенної пероксидази, проводили інкубацію зрізів з первин-

ними антитілами у вологих камерах. Для дослідження використовувались первинні моноклональні антитіла до ER (sp1, RTU), PgR (YR85, 1:200), E-cadherin (EP700Y, RTU), *β*-catenin (E247, RTU) та система візуалізації UltraVision Quanto (LabVision). Для ідентифікації реакції наносився розчин хромогену 3-діамінобензидин тетрахлориду (DAB) (LabVision) під контролем мікроскопа протягом від 20 секунд до 3 хвилин, з проявом у вигляді коричневого забарвлення, далі додатково забарвлювали гематоксилином Майєра протягом 1-3 хвилини. Наступна дегідратація і включення у бальзам здійснювалися згідно розповсюдженим методикам [36].

За рекомендаціями Antunes A. із співавтор. (2014) експресію ER та PR оцінювали в стромі та залозистому епітелії тканин ендометрія за допомогою напівкількісного методу ядерної реакції через аналіз відсотка забарвлених клітин, інтенсивності ядерного фарбування та остаточної оцінки. Підрахунок проводився у 100 клітинах різних полів зору під об'єктивом  $\times 40$ . Відсоток забарвлених клітин оцінювали візуально та класифікували наступним чином: ступінь 0, відсутність фарбування; ступінь 1,  $<1\%$  фарбування; ступінь 2, 1-10% фарбування; ступінь 3, 11-33% забарвлення; 4 ступінь, 34-66% забарвлення; і ступінь 5,  $>66\%$  фарбування. Що стосується інтенсивності фарбування ядер, класифікували таким чином: ступінь 0, негативний; 1 ступінь, слабка реакція; 2 ступінь, реакція середнього ступеня; і 3 ступінь, інтенсивна реакція. Сума позитивності та інтенсивності призвела до кінцевої оцінки, яка коливалася від 0 до 8 [37].

За рекомендаціями Ahmed R. H. із співавтор. (2014) рівень експресії E-кадгерину та *β*-катеніну вимірювали за допомогою шкали, яка поєднує інтенсивність імунореакцій із відсотком позитивних клітин. Клітини, присутні в чотирьох полях високої потужності збільшення  $\times 400$ , підраховували та оцінювали в кожному випадку. Інтенсивність імунореакцій вказували як негативну, слабо позитивну, помірно позитивну або сильно позитивну. Ці чотири категорії були зважені як 0, 1, 3 і 10 відповідно. Кінцевий гістобал розраховували шляхом множення інтенсивності імунореакції на відсоток позитивних клітин. Остаточний бал коливався від 0, коли всі оцінені клітини були негативними, до 1000, коли всі оцінені клітини були сильно позитивними [38].

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

совувався критерій  $\chi^2$  (ксі-квадрат). Розходження вважали статистично вірогідними при  $p < 0,05$  (95 % рівень значущості).

### Результати та їх обговорення

Прикладом того, як впливає зміна співвідношення PR-A:PR-B впливає на чутливість GE до традиційної гормональної терапії стало дослідження у жінок репродуктивного віку з GE без атипії. Для лікування використовували мікронізоавний прогестерон в дозі 200 мг на добу на протязі 3 міс. Контрольне дослідження біоптату ендометрія через 3 місяця терапії показало, що у 74% відбулася нормалізація співвідношення стромального і епітеліального компоненту, у 18,7% була діагностована проста неатипова гіперплазія ендометрія (ПНГЕ). У 7,3% жінок була діагностована комплексна неатипова гіперплазія ендометрія (КНГЕ). До призначення лікування спостерігалася низька експресія PR-A в залозах ендометрія ( $P = 0,013$ ) і стромі ( $P < 0,001$ ) та висока експресія PR-B в залозах ендометрія ( $P = 0,001$ ) при біопсії ендометрія (рис. 1 а-с). Жінки зі співвідношенням PR-A:PR-B  $\leq 1$  до лікування мають більш високий ризик рецидиву (71%) у порівнянні з жінками зі співвідношенням PR-A:PR-B  $> 1$  (19%;  $P < 0,001$ ).

За результатами дослідження жінок з відсутністю ефекту від проведеної терапії, на відміну від жінок з ефективно проведеною терапією, спостерігалася зниження експресії рецепторів до прогестерону на 65%, що має статистично значущий зв'язок з рецидивом гіперплазії ендометрія (рис. 2 а-с).

Також доволі перспективним є дослідження маркерів міжклітинної взаємодії E-кадгерину і *β*-катеніну у жінок з GE без атипії (рис. 1 d-e, рис. 2 d-e). Так, проведене дослідження показало, що у жінок з резистентністю до терапії з застосуванням прогестерону в 86,4% випадків експресія E-кадгерину була відсутня, а в 13,6% знижена (рис. 2 d). У жінок, у яких був позитивний результат від застосування прогестинів експресія E-кадгерину була слабкою у 49,2 % випадків, у 34,4 % помірною і 16,4 % негативною, що вказує на зв'язок між PgR та експресією E-кадгерину (рис. 1 d). Також у жінок з GE без атипії з відсутністю ефекту від застосування прогестинів мембрано-цитоплазматична експресія *β*-катеніну досягала 80 % випадків, що можна інтерпретувати як доволі чутливий маркер прогресування неатипової GE в атипову форму (рис. 2 e).

### Висновки

1. Застосування прогестинів для лікування гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку може бути неефективним у випадках, коли є низька експресія рецепторів прогестерону в залозистому епітелії, тому їх застосування не є доцільним і слід вибрати іншу терапію залежно від віку та репродуктивної функції.



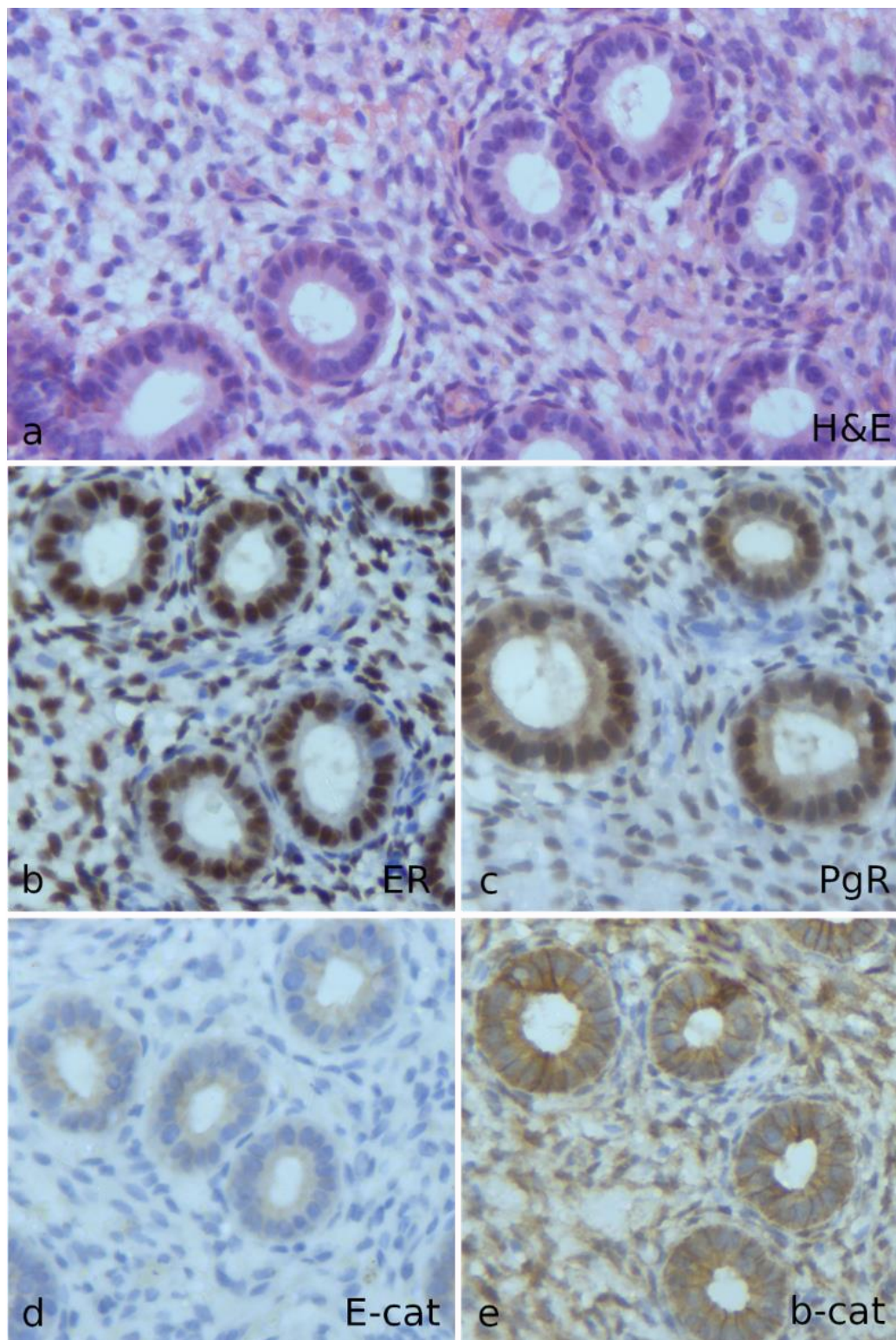


Рис. 1. Гіперплазія ендометрія без атипії. а. Забарвлення гематоксином і еозином ( $\times 400$ ). б. Інтрануклеарна експресія рецепторів до естрогену (ER): в залозах  $>66\%$  забарвлених ядер (ступінь 5) і дуже висока інтенсивність забарвлення (ступінь 3) сумарно 8; в стромі 34–66% забарвлених клітин (ступінь 4) є ядра з помірною та високою інтенсивністю забарвлення (ступінь 3) сумарно 7. с. Інтрануклеарна експресія рецепторів до прогестерону (PgR): в залозах  $>66\%$  забарвлених ядер (ступінь 5) і дуже висока інтенсивність забарвлення (ступінь 3) сумарно 8; в стромі 34–66% забарвлених клітин (ступінь 4) і ядра з помірною інтенсивністю забарвлення більшість (ступінь 2) сумарно 6. д. Слабка позитивна мембранна експресія E-кадгерину (E-cad) в залозах, практично негативна стромальна експресія. е. Інтенсивна мембранна експресія б-катеніну (b-cat) в залозах і стромі ендометрія. б – е. ІГХ з гематоксином Майєра ( $\times 400$ ).



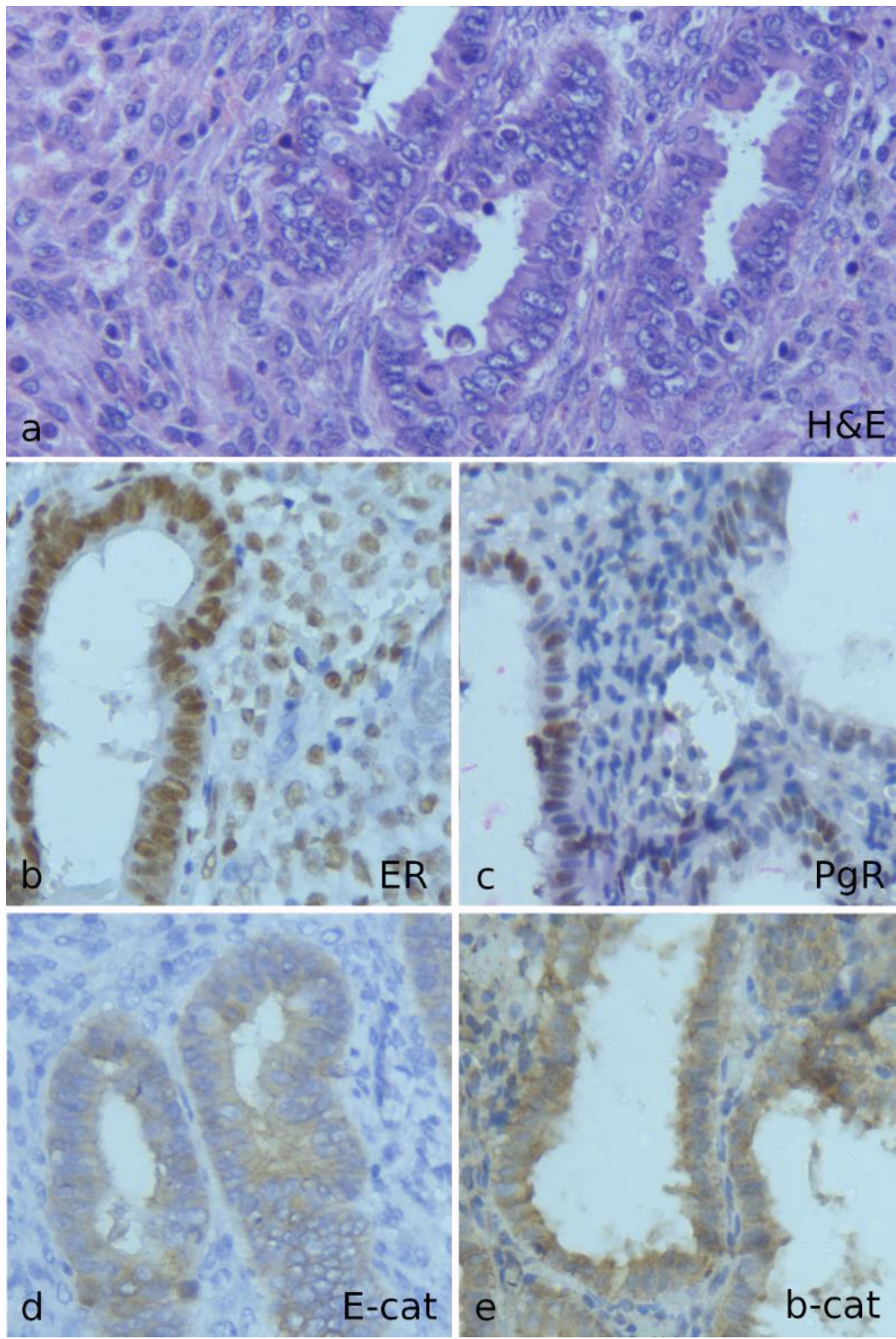


Рис. 2. Гіперплазія ендометрія без атипії з гормоногезистентністю. а. Забарвлення гематоксином і еозином ( $\times 400$ ). б. Інтрануклеарна експресія рецепторів до естрогену (ER): в залозах  $>66\%$  забарвлених ядер (ступінь 5) і дуже висока інтенсивність забарвлення (ступінь 3) сумарно 8; в стромі 34–66 % забарвлених клітин (ступінь 4) і ядер з помірною інтенсивністю забарвлення більшість (ступінь 2) сумарно 6. с. Інтрануклеарна експресія рецепторів до прогестерону (PgR): в залозах 11–33 % забарвлених ядер (ступінь 3) і ядер з помірною інтенсивністю забарвлення більшість (ступінь 2) сумарно 5; в стромі 1–10 % забарвлених клітин (ступінь 2), ядра з слабкою і помірною інтенсивністю забарвлення (ступінь 1-2) сумарно 3-4 (значне падіння експресії). д. Слабка позитивна мембранна експресія Е-кадгерину (E-cad) в залозах, негативна стромальна експресія. е. Інтенсивна мембрано-цитоплазматична експресія b-катеніну (b-cat) в залозах і стромі. б – е. ІГХ з гематоксином Майєра ( $\times 400$ ).

2. Визначення експресії Е-кадгерину та в-катеніну в ендометрії жінок з гіперплазією ендометрія дає змогу прогнозувати негативний результат терапії з застосуванням прогестинів, бути маркером прогресування ГЕ.

3. Враховуючи невеликий відсоток трансформації гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку в атипові форми й рак ендометрія (~1%) зосередити зусилля вчених і лікарів на запобіганні рецидивів захворювання, що призводять до розвитку аномальних маткових кровотеч, зниженню фертильності й погіршують

прогноз прогресування захворювання.

#### **Перспектива подальших досліджень**

Подальше дослідження молекулярних механізмів резистентності гіперплазії ендометрію у жінок до терапії гестагенами допоможе розробити диференціальний підхід до її діагностики і терапії.

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

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

### **Літературні джерела References**

1. Kim JJ, Chapman-Davis E. Role of progesterone in endometrial cancer. *Semin. Reprod. Med.* 2010;28:81-90. DOI: 10.1055/s-0029-1242998.
2. Montgomery BE, Daum GS, Dunton CJ. Endometrial hyperplasia: A review. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2004;59:368-378. DOI: 10.1097/00006254-200405000-00025.
3. Singh G, Puckett Y. Endometrial Hyperplasia. *StatPearls.* 2021;1:5-10.
4. Chandra V, Kim JJ, Benbrook DM, Dwivedi A, Rai RJ. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia. *Gynecol Oncol.* 2016;27(1):88-98. DOI: 10.3802/jgo.2016.27.e8.
5. Sanderson PA, Critchley HO, Williams AR, Arends MJ, Saunders PT. New concepts for an old problem: the diagnosis of endometrial hyperplasia. *Hum Reprod Update.* 2017;23(2):232-254. DOI: 10.1093/humupd/dmw042.
6. Yang YF, Liao YY, Peng NF, Li LQ, Xie SR, Wang RB. Prediction of coexistent carcinomas risks by subjective EIN diagnosis and comparison with WHO classification in endometrial hyperplasias. *Pathol Res Pract.* 2012;208(12):708-712. DOI: 10.1016/j.prp.2012.08.009.
7. Parkash V, Fadare O, Tornos C, McCluggage WG. Committee Opinion No. 631: Endometrial Intraepithelial Neoplasia. *Obstet Gynecol.* 2015;126(4):897.
8. Sherman ME. Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approach. *Mod Pathol.* 2000;13(3):295-308.
9. Van der Meer AC, Hanna LS. Development of endometrioid adenocarcinoma despite Levonorgestrel-releasing intrauterine system: a case report with discussion and review of the RCOG/BSGE Guideline on the Management of Endometrial Hyperplasia. *Clin Obstet.* 2017;7(1):54-57.
10. Furness S, Roberts H, Marjoribanks J, Lethaby A. Hormone therapy in postmenopausal women and risk of endometrial hyperplasia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;15(8):4-21.
11. Kaminski P, Bobrowska K, Pietrzak B, Bablok L, Wielgos M. Gynecological issues after organ transplantation. *Neuro Endocrinol Lett.* 2008;29(6):852-856.
12. Bobrowska K, Kamiński P, Cyganek A, Pietrzak B, Jabiry-Zieniewicz Z, Durlak M, Paczek L. High rate of endometrial hyperplasia in renal transplanted women. *Transplant Proc.* 2006;38(1):177-179.
13. Niskakoski A, Pasanen A, Porkka N, Eldfors S, Lassus H, Renkonen-Sinisalo L, Kaur S, Mecklin JP, Bützow R, Peltomäki P. Converging endometrial and ovarian tumorigenesis in Lynch syndrome: Shared origin of synchronous carcinomas. *Gynecol Oncol.* 2018;150(1):92-98.
14. Mills AM, Sloan EA, Thomas M, Modesitt SC, Stoler MH, Atkins KA, Moskaluk CA. Clinicopathologic Comparison of Lynch Syndrome-associated and "Lynch-like" Endometrial Carcinomas Identified on Universal Screening Using Mismatch Repair Protein Immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(2):155-165.
15. Graham J.D., Clarke C.L. Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocr. Rev.* 1997;18:502-519.
16. Lydon JP, DeMayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA, Jr Shyamala G, Conneely OM, O'Malley BW. Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. *Genes Dev.* 1995;9:2266-2278. DOI: 10.1101/gad.9.18.2266.
17. Patel B, Elguero S, Thakore S, Dahoud W, Bedaiwy M, Mesiano S. Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology. *Hum. Reprod. Update.* 2015;21:155-173. DOI: 10.1093/humupd/dmu056.
18. Kastner P, Krust A, Turcotte B, Stropp U, Tora L, Gronemeyer H, Chambon P. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J.* 1990;9:1603-1614. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb08280.x.
19. Mulac-Jericevic B, Mullinax RA, DeMayo FJ, Lydon JP, Conneely OM. Subgroup of reproduc-

- tive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform. *Science*. 2000;289:1751-1754. DOI: 10.1126/science.289.5485.1751.
20. Mulac-Jericevic B, Lydon JP, DeMayo FJ, Conneely OM. Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003;100:9744-9749. DOI: 10.1073/pnas.1732707100.
21. DeMayo FJ, Zhao B, Takamoto N, Tsai SY. Mechanisms of action of estrogen and progesterone. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2002;955:48-59. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb02765.x.
22. Kim JJ, Kurita T, Bulun SE. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr. Rev.* 2013;34:130-162. DOI: 10.1210/er.2012-1043.
23. Marquardt RM, Kim TH, Shin JH, Jeong JW. Progesterone and Estrogen Signaling in the Endometrium: What Goes Wrong in Endometriosis? *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:3822. DOI: 10.3390/ijms20153822.
24. Gellersen B, Brosens IA, Brosens JJ. Decidualization of the human endometrium: Mechanisms, functions, and clinical perspectives. *Semin. Reprod. Med.* 2007;25:445-453. DOI: 10.1055/s-2007-991042.
25. Gellersen B, Brosens JJ. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. *Endocr. Rev.* 2014;35:851-905. DOI: 10.1210/er.2014-1045.
26. Al-Sabbagh M, Lam EW, Brosens JJ. Mechanisms of endometrial progesterone resistance. *Mol. Cell Endocrinol.* 2012;358:208-215. DOI: 10.1016/j.mce.2011.10.035.
27. McKinnon B, Mueller M, Montgomery G. Progesterone Resistance in Endometriosis: An Acquired Property? *Trends Endocrinol. Metab.* 2018;29:535-548. DOI: 10.1016/j.tem.2018.05.006.
28. Patel BG, Rudnicki M, Yu J, Shu Y, Taylor RN. Progesterone resistance in endometriosis: Origins, consequences and interventions. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2017;96:623-632. DOI: 10.1111/aogs.13156.
29. Li X, Feng Y, Lin JF, Billig H, Shao R. Endometrial progesterone resistance and PCOS. *J. Biomed. Sci.* 2014;21:2. DOI: 10.1186/1423-0127-21-2.
30. Burney RO, Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Nyegaard M, Nezhat CR, Lessey BA, Giudice LC. Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis. *Endocrinology*. 2007;148:3814-3826. DOI: 10.1210/en.2006-1692.
31. Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology*. 2003;144:2870-2881. DOI: 10.1210/en.2003-0043.
32. Houshdaran S, Nezhat CR, Vo KC, Zelenko Z, Irwin JC, Giudice LC. Aberrant Endometrial DNA Methylome and Associated Gene Expression in Women with Endometriosis. *Biol. Reprod.* 2016;95:93. DOI: 10.1095/biolreprod.116.140434.
33. Houshdaran S, Oke AB, Fung JC, Vo KC, Nezhat C, Giudice LC. Steroid hormones regulate genome-wide epigenetic programming and gene transcription in human endometrial cells with marked aberrancies in endometriosis. *PLoS Genet.* 2020;16:10-60. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008601.
34. Khaskhachikh DA, Potapov VO, Kukina GO, Gaponova OV, Penner KV, Reznichenko VV, Nechaev VV. [The value of progesterone receptor expression (pr-a and pr-b) as predictors of endometrial hyperplasia recurrence after progestin therapy. Collection of scientific works of the Association of Obstetricians and Gynecologists of Ukraine]. 2020;2(46):71-75. Ukrainian.
35. Khaskhachykh D, Potapov V. Molecular mechanisms of the endometrial hyperplasia of the endometrial therapy on the basis of the study of receptor expression, cell markers of proliferation, differentiation and apoptosis of the endometrial cells in the hormone's dependent signal path O. *Grail of Science*. 2022;12-13:620-623. DOI: <https://doi.org/10.36074/grail-of-science.29.04.2022.109>
36. Harriet ER, Gutter KS, McGee J. Immunocytochemistry: electron microscopy. *Molecular clinical diagnostics*. 1999;1:558.
37. Antunes A, Vassallo J, Pinheiro A, Leao R, Pinto Neto AM, Costa-Paiva L. Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors in endometrial polyps: A comparison between benign and malignant polyps in postmenopausal patients. *Oncol Lett.* 2014;7(6):1944-1950. DOI: 10.3892/ol.2014.2004
38. Ahmed RH, Ahme E, Muhammad MS. E-cadherin and CD10 expression in atypical hyperplastic and malignant endometrial lesions. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*. 2014;26(4):211-217. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnci.2014.08.002>.
39. Gromova OL, Potapov VO, Khaskhachikh DA, Kukina GO, Gaponova OV, Penner KV. [Receptor status of the endometrium in hyperplastic processes in premenopausal women. Neonatology, surgery and perinatal medicine]. 2021;1(39):33-38. Ukrainian. DOI: 10.24061/2413-4260.XI.1.39.2021.5



**Хасхачих Д.А., Потапов В.О., Пославська О.В. Молекулярні критерії діагностики гормонорезистентних форм гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку.**

**РЕФЕРАТ. Актуальність.** Гіперплазія ендометрія доволі розповсюджене захворювання жіночої репродуктивної сфери і займає одне з провідних місць серед проліферативних процесів ендометрія. В більшій частині випадків ця патологія зустрічається у жінок репродуктивного віку і має доброякісний характер плинності. Одним з основних чинників, які об'єднують всі ці фактори, це надмірний вплив естрогенів, при втраченій протекції прогестерону на ендометрій. **Мета.** Дослідити молекулярні фактори, які можуть мати вплив на зниження чутливості ендометріальної тканини до дії прогестерону для диференціальної діагностики гормонорезистентних форм гіперплазії ендометрія. **Методи.** Дослідження проводилося в гінекологічному відділенні на базі перинатального центру міської клінічної лікарні м. Дніпро в 2017-2019 рр. у 25 пацієнток репродуктивного віку (25-46 років) з аномальними матковими кровотечами в зішкрібах, в яких морфологічним методом була підтверджена гіперплазія ендометрія без атипії. Всі жінки отримувала терапію шляхом призначення мікронізованого прогестерону в сублінгвальної формі в дозі 50 мг двічі на добу в безперервному режимі упродовж 6 місяців. Ефективність терапії оцінювали за морфологічним критерієм через 6 місяців, задовільним результатом лікування вважався, якщо спостерігалось відновлення фізіологічної трофіки ендометрія, відсутність рецидивів та прогресування гіперпластичного процесу. Зразки гіперплазії ендометрія без атипії фіксовані у формаліні і залиті парафіном були взяті з архіву КЗ «Дніпровська клінічна лікарня №9». Мікроскопія проводилась за допомогою світлового мікроскопу ZEISS "Primo Star" з камерою Zeiss Primo Star - AxioCam ERC 5s та використанням ліцензованого програмного забезпечення ZEN 2 blue edition. Для імуногістохімічного дослідження використовувались первинні моноклональні антитіла до ER (sp1, RTU), PgR (YR85, 1:200), E-cadherin (EP700Y, RTU), b-catenin (E247, RTU) та система візуалізації UltraVision Quanto (LabVision). **Результати.** Була досліджена зміна співвідношення PR-A:PR-B, яка впливає на чутливість гіперплазії ендометрія до традиційної гормональної терапії у жінок репродуктивного віку. Для лікування використовували мікронізований прогестерон в дозі 200 мг на добу на протязі 3 міс. Контрольне дослідження біоптату ендометрія через 3 місяця терапії показало, що у 74% відбулася гістологічна нормалізація стромального і епітеліального компоненту, у 18,7% була діагностована проста неатипова гіперплазія ендометрія. У 7,3% жінок була діагностована комплексна неатипова гіперплазія ендометрія. До призначення лікування спостерігалася низька експресія PR-A в залозах ендометрія ( $P = 0,013$ ) і стромі ( $P < 0,001$ ) та висока експресія PR-B в залозах ендометрія ( $P = 0,001$ ) при біопсії ендометрія. Жінки зі співвідношенням PR-A:PR-B  $\leq 1$  до лікування мають більш високий ризик рецидиву (71%) у порівнянні з жінками зі співвідношенням PR-A:PR-B  $> 1$  (19%;  $P < 0,001$ ). За результатами дослідження жінок з відсутністю ефекту від проведеної терапії, на відміну від жінок з ефективною проведеною терапією, спостерігалось зниження експресії рецепторів до прогестерону на 65%, що має статистично значущий зв'язок з рецидивом гіперплазії ендометрія. Так, проведене дослідження показало, що у жінок з резистентністю до терапії з застосуванням прогестерону в 86,4% випадків експресія E-кадгерину була відсутня, а в 13,6% знижена. У жінок, у яких був позитивний результат від застосування прогестинів експресія E-кадгерину була слабкою у 49,2 % випадків, у 34,4 % помірною і 16,4 % негативною, що вказує на зв'язок між PgR та експресією E-кадгерину. Також у жінок з гіперплазією ендометрія без атипії з відсутністю ефекту від застосування прогестинів мембрано-цитоплазматична експресія b-катеніну досягала 80 % випадків, що можна інтерпретувати як доволі чутливий маркер прогресування неатипової гіперплазії ендометрія в атипову форму. **Висновки.** Проведене дослідження показало, що застосування прогестинів для лікування гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку може бути неефективним у випадках, коли є низька експресія рецепторів прогестерону в залозистому епітелії, тому їх застосування не є доцільним і слід вибрати іншу терапію залежно від віку та репродуктивної функції. Визначення експресії E-кадгерину та b-катеніну в ендометрії жінок з гіперплазією ендометрія дає змогу прогнозувати негативний результат терапії з застосуванням прогестинів, бути маркером прогресування гіперплазії ендометрія. Враховуючи невеликий відсоток трансформації гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку в атипові форми й рак ендометрія (~1%) найкраще зосередити зусилля вчених і лікарів на запобіганні рецидивів захворювання, що призводять до розвитку аномальних маткових кровотеч, зниженню фертильності й погіршують прогноз прогресування захворювання.

**Ключові слова:** гіперплазія ендометрія, гормонорезистентність, імуногістохімія.