

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

Дніпровський державний
медичний університет,
Дніпро, Україна

Надійшла: 04.05.2023

Прийнята: 15.06.2023

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.2.66-74>

УДК 616007.61:618.14:615.357:577.171.6:612.63.03

ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГІПЕРПЛАЗІЇ ЕНДОМЕТРІЯ В ПОРІВНЯННІ З СЕКРЕТОРНИМ ЕНДОМЕТРІЄМ

Khaskhachikh D.A.  , Potapov V.O. , Poslavska O.V.  Immunohistochemical characteristics of endometrium hyperplasia in comparison with secretory endometrium.

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Endometrial hyperplasia (HE) is a pathological increase in the number of cells of the endometrial epithelium, which, in the case of atypical proliferation, is considered a precancerous condition and leads to the development of endometrial carcinoma. The method of immunohistochemically staining plays a significant role in the differential diagnosis of GE without/with atypia and carcinomas. **Objective.** The aim of this work is the comparative characterization of the expression of immunohistochemically markers in three types of endometrium: endometrial hyperplasia without atypia, endometrial hyperplasia with atypia and secretory endometrium, in order to determine the most informative markers that can serve as diagnostic supplements and prognostic indicators for the transition from endometrial hyperplasia to carcinoma. **Methods.** The study was performed on endometrial biopsy material from 23 women of reproductive age with abnormal uterine bleeding by curettage, who were diagnosed with GE without/with atypia, 7 women made up the control group with endometrial secretory changes. The expression of progesterone (PR) and estrogen (ER) receptors, as well as p21, dcl-2, Ki-67, eNOS, cyclin D1, BAX, b-catenin, E-cadherin and Caspase 3 markers were compared in order to determine the most informative markers that can serve as diagnostic adjuncts and prognostic indicators for the transition from GE to carcinoma. **Results.** The obtained results indicate a difference in the expression levels of immunohistochemically markers in different types of endometrium. These results are important for further research into the mechanisms of endometrial hyperplasia development and may indicate potential therapeutic targets for the selection of treatment strategies for different types of hyperplasia. **Conclusion.** The difference between the group of hyperplasia without atypia and the control group of secretory endometrium in the glandular component was demonstrated by markers ER, PgR, b-catenin, p21, cyclin D1, Ki-67, Caspase-3 (all $p < 0.05$); and in the stromal component - ER, PgR, b-catenin (all $p < 0.05$), which gives reason to use them as the main diagnostic markers. The difference between the group of hyperplasia with atypia and the control group of the secretory endometrium in the glandular component was demonstrated by markers ER, b-catenin, p21, cyclin D1, Ki-67, eNOS (all $p < 0.05$); and in the stromal component - ER, b-catenin and eNOS (all $p < 0.05$), which gives reason to use them as the main diagnostic markers. The difference between the group of hyperplasia without atypia and the group of hyperplasia with atypia in the glandular component was demonstrated by markers PgR, Ki-67, Caspase-3 eNOS (all $p < 0.05$); and in the stromal component - eNOS ($p < 0.05$), which gives reason to use them as the main diagnostic and prognostic markers. Bcl-2 and BAX markers did not show a statistically significant difference in the study groups, which indicates the impossibility of using them separately as diagnostic or prognostic markers for endometrial hyperplastic processes, and the interpretation of the expression results of these markers must be taken into account in combination with other indicators.

Key words: endometrium, endometrial hyperplasia, endometrial hyperplasia without atypia, atypical endometrial hyperplasia, immunohistochemistry, prognosis.

Citation:

Khaskhachikh DA, Potapov VO, Poslavska OV. [Immunohistochemical characteristics of endometrium hyperplasia in comparison with secretory endometrium]. Morphologia. 2023;17(2):66-74. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.2.66-74>

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

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

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

 docdhas@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Гіперплазія ендометрія (ГЕ) є патологічним збільшенням кількості клітин ендометріального епітелію, що, у випадку атипової проліферації, вважається передраковим станом та веде до розвитку карциноми ендометрія. Значну роль в диференційній діагностиці ГЕ без/з атипією та карциноми відіграє метод імуногістохімічного забарвлення (ІГХ), що був відкритий (Albert Coons) у 1941 році. Цей метод був розроблений для виявлення та локалізації тканинних антигенів через контакт антитілами, що пов'язані з кольоровою міткою, яка дає візуалізацію необхідних клітинних та субклітинних структур [1].

За останні роки метод імуногістохімії розвинувся та вдосконалився, що дозволило застосовувати його для більш точного та детального аналізу формалін-фіксованих парафін-залитих гістологічних зразків [2].

В теперішній час метод імуногістохімії є важливим інструментом для вивчення біологічних процесів, діагностики захворювань та встановлення патологічних змін у клітинах та тканинах. Відкриття цього методу відкрило шлях до нових досягнень у біомедичних дослідженнях та клінічній практиці [3,4].

Проведені дослідження показали, що експресія різних імуногістохімічних маркерів може впливати на розвиток ГЕ. З цієї причини в останні роки спостерігається зростання інтересу до вивчення клінічних, методів візуалізації, гістологічних і молекулярних факторів, які можуть впливати на результат терапії [5].

Декілька імуногістохімічних біомаркерів вже були досліджені для використання як діагностичні доповнення до діагностики та класифікації ГЕ, та також можуть прогнозувати перехід від ГЕ до карциноми [6,7].

Але стосовно діагностики саме ГЕ, оптимальним молекулярним біомаркером вважався би той, який зміг надійно розрізнити гіперпластичний доброякісний з/без ризиків рецидивів, передраковий (гіперпластичний атиповий) та злоякісний ендометрій, а також вказувати/передбачати перехід між цими трьома групами. На сьогоднішній день не знайдено жодного кандидата, який повністю виконував би цю роль, тому пошук триває.

Мета

Метою цієї роботи є порівняльна характеристика експресії імуногістохімічних маркерів у трьох типах ендометрія: гіперплазія ендометрія без атипії, гіперплазія ендометрія з атипією та секреторний ендометрій, за для визначення найбільш інформативних маркерів, які можуть слугувати діагностичними доповненнями та прогностичними показниками для переходу від гіперплазії ендометрія до карциноми.

Матеріали та методи

Дослідження було виконано на біопсійному

матеріалі ендометрія, отриманого шляхом діагностичного кюретажу в гінекологічному відділенні КНП «ДКЛ №9» ДМР м. Дніпра протягом 2022-2023 років у 23 жінок репродуктивного віку (25-44 років, середній вік $31,52 \pm 4,75$ років) з аномальними матковими кровотечами (АМК), у яких за результатом морфологічного дослідження була встановлена гіперплазія ендометрія з/без атипії, та 7 жінок репродуктивного віку (28-42 років, середній вік $35,33 \pm 2,5$ років) з АМК, в яких патогістологічне заключення відповідало секреторному ендометрію (група контролю). Критеріями виключення були: наявність запальних захворювань органів малого таза, пухлина патології матки і яєчників, ендометріоз матки, тяжка соматична патологія, будь-яка форма ендокринопатії та метаболічного синдрому.

Дослідження було погоджено на засіданні комісії з біоетики Дніпровського державного медичного університету №1 від 16.01.17 р. і відповідає вимогам Хельсінкської декларації. Всі жінки, що брали участь в спостереженні отримали необхідну інформацію о цілях і можливих наслідках дослідження та дали письмову поінформовану згоду. Морфологічні дослідження були виконані на базі морфологічної лабораторії кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету.

Гістологічний метод дослідження. Фіксовані у формалін і залиті в парафін зразки були взяті з архіву КЗ «Дніпровська клінічна лікарня №9». Парафінові зрізи 4-5мкм були отримані на мікромомі Microm HM-340 і забарвлені за стандартною методикою гематоксиліном і еозином.

Імуногістохімічний метод дослідження. Парафінові зрізи наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrost Plus. Після депарафінізації, регідrataції, температурного демаскування антигенів та пригнічення активності ендогенної пероксидази, проводили інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологих камерах. Для дослідження були використані первинні моноклональні антитіла до ER (sp1, RTU), PgR (YR85, 1:200), E-cadherin (EP700Y, RTU), b-catenin (E247, RTU), p21 (sp1, RTU), bcl-2 (EP36, RTU), BAX (sp1, RTU), Caspasa 3 (sp1, RTU), Cyclin D1 (EP12, RTU), Ki-67 (sp6, RTU), eNOS (sp1, RTU) та система візуалізації UltraVision Quanto (LabVision). Підрахунок проводився в 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.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програмного забезпечення Office 365 AI for faculty

№1003BFFD8C8E8B0D. Був використаний параметричний аналіз. Обчислювали значення середнього арифметичного (М) і середню помилку середнього арифметичного (m). Вірогідність розходжень оцінювали за допомогою t коефіцієнта Стюдента. Для порівняння якісних ознак застосовувався критерій χ^2 (ксі-квадрат). Розходження вважали статистично достовірними при $p < 0,05$ (95% рівень значущості) [8].

Результати

В першу чергу було проаналізовано рівні експресії імуногістохімічних маркерів в групі

контролю секреторного ендометрія для формування уявлення про базові рівні антигенної природи ендометріального епітелію без активної проліферації.

Гіперплазія ендометрія без атипії продемонструвала значно вищі рівні експресії естрогенових і прогестеронових рецепторів в залозах і в стромі, порівняно з секреторним ендометрієм, не нижче категорій 7-8, особливо PgR, що в залозах часто демонстрували $>66\%$ забарвлених ядер (ступінь 5) з високою інтенсивністю забарвлення (ступінь 3) сумарно 8 (табл. 1; табл. 2).

Таблиця 1
Експресія естрогенових рецепторів при гіперпластичних процесах ендометрія без / з атипією, порівняно з секреторним ендометрієм

Тип ендометрія	n=30 (%)	Експресія ER в залозах		Експресія ER в стромі	
		0-4 (низька)	5-8 (висока)	0-4 (низька)	5-8 (висока)
ГЕ без атипії	14 (46,67 %)	0 (0,00%)	14 (100,00%)	0 (0,00%)	14 (100,00%)
ГЕ з атипією	9 (30,00 %)	2 (22,22%)	7 (77,78%)	5 (55,56%)	4 (44,44%)
Секреторний ендометрій	7 (23,33 %)	5 (71,43%)	2 (28,57%)	5 (71,43%)	2 (28,57%)
p		$p^1 < 0,05, p^2 < 0,05, p^3 > 0,05$		$p^1 < 0,05, p^2 > 0,05, p^3 > 0,05$	

Примітка: ГЕ – гіперплазія ендометрія, ER – естрогенові рецептори, p - встановлення достовірності міжгрупових зав'язків за кількісним розподілом проводився точним тестом Фішера, p^1 – різниця між ГЕ без атипії та секреторним ендометрієм, p^2 – різниця між ГЕ з атипією та секреторним ендометрієм, p^3 – різниця між ГЕ без атипії та ГЕ з атипією, відмінність вважали достовірною при $p < 0,05$.

Таблиця 2
Експресія прогестеронових рецепторів при гіперпластичних процесах ендометрія без / з атипією, порівняно з секреторним ендометрієм

Тип ендометрія	n=30 (%)	Експресія PgR в залозах		Експресія PgR в стромі	
		0-4 (низька)	5-8 (висока)	0-4 (низька)	5-8 (висока)
ГЕ без атипії	14 (46,67%)	2 (14,29%)	12 (85,71%)	2 (14,29%)	12 (85,71%)
ГЕ з атипією	9 (30,00%)	7 (77,78%)	2 (22,22%)	4 (44,44%)	5 (55,56%)
Секреторний ендометрій	7 (23,33%)	7 (100,00%)	0 (0,00%)	6 (85,71%)	1 (14,29%)
p		$p^1 < 0,05, p^2 > 0,05, p^3 < 0,05$		$p^1 < 0,05, p^2 > 0,05, p^3 > 0,05$	

Примітка: ГЕ – гіперплазія ендометрія, PgR – естрогенові рецептори, p - встановлення достовірності міжгрупових зав'язків за кількісним розподілом проводився точним тестом Фішера, p^1 – різниця між ГЕ без атипії та секреторним ендометрієм, p^2 – різниця між ГЕ з атипією та секреторним ендометрієм, p^3 – різниця між ГЕ без атипії та ГЕ з атипією, відмінність вважали достовірною при $p < 0,05$.

Гіперплазія ендометрія з атипією також мала свої особливості в експресії стероїдних гормонів: ER, що залишались здебільшого на високому рівні в залозах, знижували свою кількість та інтенсивність забарвлення в стромі, до того ж в ділянках з значною клітинною атипією епітелію залоз, інтенсивність експресії ER також падала (трансформація в бік карциноми); кількість PgR значно знижувалась в залозах, порівняно з

ГЕ без атипії, але залишалась вище, ніж в секреторному ендометрії (табл. 1; табл. 2).

Аналіз маркерів міжклітинної адгезії в секреторному ендометрії також мав відмінності за експресією в паренхімі та стромі: мембранна експресія E-кадгерину (E-cad) присутня на помірно-позитивному рівні в залозах (категорія 3), але відсутня в стромі ендометрія (0), на відміну від b-катеніну (b-cat), чия експресія коливалась

від слабо-позитивної (категорія 1) до помірно-позитивної (категорія 3) в залозах і стромі ендометрія. Дані експресії E-cad, b-cat були занесені в таблиці 3 і 4 відповідно, з урахуванням локалізації (залози/строма) і розподілу на градації: 0 (не-

гативна) і 1 (слабо-позитивна), як низька експресія маркерів міжклітинної адгезії, й 3 (помірно-позитивна) 10 (сильно-позитивна), як висока експресія маркерів міжклітинної адгезії.

Таблиця 3
Експресія маркеру E-кадгерину при гіперпластичних процесах ендометрія без / з атипією, порівняно з секреторним ендометрієм

Тип ендометрія	n=30 (%)	Експресія E-cad в залозах		Експресія E-cad в стромі	
		0, 1 (низька)	3, 10 (висока)	0, 1 (низька)	3, 10 (висока)
ГЕ без атипії	14 (46,67%)	6 (42,86%)	8 (57,14%)	13 (92,86%)	1 (7,14%)
ГЕ з атипією	9 (30,00%)	3 (33,33%)	6 (66,67%)	5 (55,56%)	4 (44,44%)
Секреторний ендометрій	7 (23,33%)	6 (85,71%)	1 (14,29%)	7 (100,00%)	0 (0,00%)
p		p ¹ >0,05, p ² >0,05, p ³ >0,05		p ¹ >0,05, p ² >0,05, p ³ >0,05	

Примітка. ГЕ – гіперплазія ендометрія, E-cad – E-кадгерин, p – встановлення достовірності міжгрупових зв'язків за кількісним розподілом проводився точним тестом Фішера, p¹ – різниця між ГЕ без атипії та секреторним ендометрієм, p² – різниця між ГЕ з атипією та секреторним ендометрієм, p³ – різниця між ГЕ без атипії та ГЕ з атипією, відмінність вважали достовірною при p<0,05.

Таблиця 4
Експресія b-катеніна при гіперпластичних процесах ендометрія без / з атипією, порівняно з секреторним ендометрієм

Тип ендометрія	n=30 (%)	Експресія b-cat в залозах		Експресія b-cat в стромі	
		0, 1 (низька)	3, 10 (висока)	0, 1 (низька)	3, 10 (висока)
ГЕ без атипії	14 (46,67%)	0 (0,00%)	14 (100,0%)	0 (0,00%)	14 (100,0%)
ГЕ з атипією	9 (30,00%)	0 (0,00%)	9 (100,0%)	0 (0,00%)	9 (100,0%)
Секреторний ендометрій	7 (23,33%)	3 (42,86%)	4 (57,14%)	4 (57,14%)	3 (42,86%)
p		p ¹ <0,05, p ² <0,05, p ³ >0,05		p ¹ <0,05, p ² <0,05, p ³ >0,05	

Примітка. ГЕ – гіперплазія ендометрія, b-cat – b-катенін, p – встановлення достовірності міжгрупових зв'язків за кількісним розподілом проводився точним тестом Фішера, p¹ – різниця між ГЕ без атипії та секреторним ендометрієм, p² – різниця між ГЕ з атипією та секреторним ендометрієм, p³ – різниця між ГЕ без атипії та ГЕ з атипією, відмінність вважали достовірною при p<0,05.

Гіперплазія ендометрія без атипії продемонструвала зміну експресії маркеру E-кадгерину (E-cad) в стромі на слабо-позитивну, але найбільшу відміну можна було побачити в експресії b-катеніну (b-cat), що майже у всіх зразках був сильно-позитивним і в стромі і в паренхімі ендометрія. (табл. 3, 4).

Гіперплазія ендометрія з атипією продемонструвала подібну до ГЕ без атипії тенденцію до експресії маркерів міжклітинної адгезії: E-кадгерин (E-cad) мав помірно-позитивну експресію в залозах в слабо-позитивну в стромі, а b-катенін (b-cat) у всіх зразках був сильно-позитивним і в залозах, і в стромі ендометрія.

Аналіз маркерів апоптозу bcl-2, BAX і caspase-3 також були оцінені в групах ГЕ без

атипії, ГЕ з атипією та контрольній групі секреторного ендометрія, і в залозах, і в стромі ендометрія через напівкількісну шкалу, що поєднала інтенсивність фарбування (0), (1+) слабе, (2+) помірне та (3+) сильне разом з відсотком позитивних пухлинних клітин <10% (1), від 10% до 50% (2) та >50% (3). При множенні ці градації давали від 0 до 9 балів, і для статистичного обліку вони були поділені на 2 групи. Але статистично достовірну відмінність було знайдено тільки для Caspase-3 (табл. 6-8).

Розподіл маркеру eNOS (ендотеліальної оксид-синтази), що грає важливу роль у регулюванні кровообігу в ендометрії та підтриманні нормальної функції ендотелію судин, продемонстрував значне збільшення експресії в зразках ГЕ

з атипією, порівняно з іншими групами, що робить його цікавим прогностичним маркером в

диференційній діагностиці гіперпластичних процесів (табл. 9).

Таблиця 5
Експресія маркерів p21, cyclin D1 та Ki-67 при гіперпластичних процесах ендометрія без / з атипією, порівняно з секреторним ендометрієм

ПГХ маркери	ГЕ без атипії	ГЕ з атипією	Секреторний ендометрій	p
p21 ≤15%	2 (14,29%)	0 (0,00%)	7 (100,00%)	p¹<0,05,
16-30%	8 (57,14%)	4 (44,44%)	0 (0,00%)	p²<0,05,
>30%	4 (28,57%)	5 (55,56%)	0 (0,00%)	p³>0,05
cyclin D1 ≤15%	2 (14,59%)	0 (0,00%)	7 (100,00%)	p¹<0,05,
16-30%	9 (64,28%)	2 (22,22%)	0 (0,00%)	p²<0,05,
>30%	3 (21,43%)	7 (77,78%)	0 (0,00%)	p³>0,05
Ki-67 ≤15%	5 (35,71%)	0 (0,00%)	7 (100,00%)	p¹<0,05,
16-30%	6 (42,86%)	3 (33,33%)	0 (0,00%)	p²<0,05,
>30%	3 (21,43%)	6 (66,67%)	0 (0,00%)	p³<0,05

Примітка. ГЕ – гіперплазія ендометрія, b-cat – b-катенін, p – встановлення достовірності міжгрупових зв'язків за кількісним розподілом проводився точним тестом Фішера, p¹ – різниця між ГЕ без атипії та секреторним ендометрієм, p² – різниця між ГЕ з атипією та секреторним ендометрієм, p³ – різниця між ГЕ без атипії та ГЕ з атипією, відмінність вважали достовірною при p<0,05.

Таблиця 6
Експресія маркеру bcl-2 при гіперпластичних процесах ендометрія без / з атипією, порівняно з секреторним ендометрієм

Тип ендометрія	n=30 (%)	Експресія bcl-2 в залозах		Експресія bcl-2 в стромі	
		0-4 (низька)	5-9 (висока)	0-4 (низька)	5-9 (висока)
ГЕ без атипії	14 (46,67%)	5 (35,71%)	9 (64,29%)	8 (57,14%)	6 (42,86%)
ГЕ з атипією	9 (30,00%)	6 (66,67%)	3 (33,33%)	8 (88,89%)	1 (11,11%)
Секреторний ендометрій	7 (23,33%)	6 (85,71%)	1 (14,29%)	7 (100,00%)	0 (0,00%)
p		p ¹ >0,05, p ² >0,05, p ³ >0,05		p ¹ >0,05, p ² >0,05, p ³ >0,05	

Примітка. ГЕ – гіперплазія ендометрія, p – встановлення достовірності міжгрупових зв'язків за кількісним розподілом проводився точним тестом Фішера, p¹ – різниця між ГЕ без атипії та секреторним ендометрієм, p² – різниця між ГЕ з атипією та секреторним ендометрієм, p³ – різниця між ГЕ без атипії та ГЕ з атипією, відмінність вважали достовірною при p<0,05.

Таблиця 7
Експресія VAX при гіперпластичних процесах ендометрія без / з атипією, порівняно з секреторним ендометрієм

Тип ендометрія	n=30 (%)	Експресія VAX в залозах		Експресія VAX в стромі	
		0-4 (низька)	5-9 (висока)	0-4 (низька)	5-9 (висока)
ГЕ без атипії	14 (46,67%)	8 (57,14%)	6 (42,86%)	13 (92,86%)	1 (7,14%)
ГЕ з атипією	9 (30,00%)	8 (88,89%)	1 (11,11%)	8 (88,89%)	1 (11,11%)
Секреторний ендометрій	7 (23,33%)	7 (100,00%)	0 (0,00%)	7 (100,00%)	0 (0,00%)
p		p ¹ >0,05, p ² >0,05, p ³ >0,05		p ¹ >0,05, p ² >0,05, p ³ >0,05	

Примітка. ГЕ – гіперплазія ендометрія, p – встановлення достовірності міжгрупових зв'язків за кількісним розподілом проводився точним тестом Фішера, p¹ – різниця між ГЕ без атипії та секреторним ендометрієм, p² – різниця між ГЕ з атипією та секреторним ендометрієм, p³ – різниця між ГЕ без атипії та ГЕ з атипією, відмінність вважали достовірною при p<0,05.

Таблиця 8

Експресія маркеру Caspasa-3 при гіперпластичних процесах ендометрія без / з атипією, порівняно з секреторним ендометрієм

Тип ендометрія	n=30 (%)	Експресія Cas-3 в залозах		Експресія Cas-3 в стромі	
		0-4 (низька)	5-9 (висока)	0-4 (низька)	5-9 (висока)
ГЕ без атипії	14 (46,67%)	10 (71,43%)	4 (28,57%)	10 (71,43%)	4 (28,57%)
ГЕ з атипією	9 (30,00%)	1 (11,11%)	8 (88,89%)	4 (44,44%)	5 (55,56%)
Секреторний ендометрій	7 (23,33%)	1 (14,29%)	6 (85,71%)	3 (42,86%)	4 (57,14%)
p		p¹<0,05, p²>0,05, p³<0,05		p¹>0,05, p²>0,05, p³>0,05	

Примітка. ГЕ – гіперплазія ендометрія, Cas-3 – Caspasa-3, p - встановлення достовірності міжгрупових зв'язків за кількісним розподілом проводився точним тестом Фішера, p¹ – різниця між ГЕ без атипії та секреторним ендометрієм, p² – різниця між ГЕ з атипією та секреторним ендометрієм, p³ – різниця між ГЕ без атипії та ГЕ з атипією, відмінність вважали достовірною при p<0,05.

Таблиця 9

Експресія e-NOS при гіперпластичних процесах ендометрія без / з атипією, порівняно з секреторним ендометрієм

Тип ендометрія	n=30 (%)	Експресія e-NOS в залозах		Експресія e-NOS в стромі	
		0, 1 (низька)	3, 10 (висока)	0, 1 (низька)	3, 10 (висока)
ГЕ без атипії	14 (46,67%)	14 (100,0%)	0 (0,00%)	14 (100,0%)	0 (0,00%)
ГЕ з атипією	9 (30,00%)	1 (11,11%)	8 (88,89%)	1 (11,11%)	8 (88,89%)
Секреторний ендометрій	7 (23,33%)	7 (100,0%)	0 (0,00%)	7 (100,0%)	0 (0,00%)
p		p¹>0,05, p²<0,05, p³<0,05		p¹>0,05, p²<0,05, p³<0,05	

Примітка. ГЕ – гіперплазія ендометрія, p - встановлення достовірності міжгрупових зв'язків за кількісним розподілом проводився точним тестом Фішера, p¹ – різниця між ГЕ без атипії та секреторним ендометрієм, p² – різниця між ГЕ з атипією та секреторним ендометрієм, p³ – різниця між ГЕ без атипії та ГЕ з атипією, відмінність вважали достовірною при p<0,05.

Обговорення

Узагальнюючі роль експресії різноманітних біомаркерів при гіперплазії ендометрія можна зробити висновки що:

ER та PgR є рецепторами стероїдних гормонів, які грають важливу роль у регуляції функцій ендометрію. Знижена експресія ER та PgR може сприяти розвитку гіперплазії ендометрію і раку ендометрію [9]. В нашому дослідженні ГЕ без атипії та секреторний ендометрій мали досить високу експресію ER, що свідчило про їхню здатність реагувати на гормональну терапію. У той же час, атипова ГЕ частково втрачала експресію ER в стромі, що може бути ознакою змін в естрогенному відгуку та вказувати на можливий ризик розвитку раку ендометрія; стосовно PgR зберігалась подібна картина - секреторний ендометрій та ге без атипії проявляли високу експресію PgR, що свідчило про їхню здатність реагувати на терапію прогестинами. Проте атипова ГЕ втрачала експресію PgR, особливо в стромі, що може вказувати на порушення прогестеронового відгуку

та підвищений ризик раку ендометрія.

E-cadherin та b-catenin є клітинними адгезійними молекулами, які відіграють важливу роль у регуляції клітинної адгезії та інвазії. Знижена експресія E-cadherin і підвищена експресія b-catenin пов'язані зі збільшенням ризику розвитку гіперплазії ендометрію і раку ендометрію. В нашому дослідженні секреторний ендометрій та ГЕ без атипії демонстрували позитивну мембранну експресію E-cad у залозах, однак, атипова ГЕ знижувала експресію E-cad як в залозах, так і в стромі, що може свідчити про порушення клітинної адгезії та можливу нестабільність тканини. Стосовно маркера b-cat (бета-катенін) можна спостерігати аберантну експресію в зразках ГЕ, що мали мембрано-цитоплазматичну реакцію і надлишкову експресію, що може свідчити про порушення сигнального шляху Wnt/ b-катенін та можливу активацію неординарних сигнальних механізмів.

p21 є інгібітором циклін-залежних кіназ і відіграє важливу роль у регуляції клітинного цик-

лу. Відомо, що знижена експресія p21 пов'язана зі збільшенням ризику розвитку гіперплазії ендометрію та раку ендометрію [10,11].

bcl-2 і BAX є білками, які відіграють важливу роль у регуляції клітинної апоптозу. Знижена експресія BAX та підвищена експресія bcl-2 може сприяти розвитку гіперплазії ендометрію та раку ендометрію [12].

Крім того, підвищення рівня експресії Ki-67 свідчить про збільшення проліферативної активності ендометрія, що може бути пов'язане з розвитком гіперплазії. Caspase 3 є ключовим фактором в клітинній апоптозі, або програмованій клітинній смерті. Ця білок-аза сприяє розкладу білків клітини, що призводить до її смерті. У ендометрії, зниження експресії Caspase 3 може сприяти надмірній проліферації та гіперплазії [13].

Зміна експресії таких маркерів, як p21, Bcl-2 (за винятком окремих клітин), BAX (слабка експресія), Caspase 3 (надмірна експресія в GE з атипією) та eNOS (надмірна експресія в GE з атипією) свідчить про порушення різних клітинних процесів, включаючи регуляцію клітинного циклу, апоптоз та васкуляризацію [14].

До того ж, зміни експресії імуногістохімічних маркерів можуть впливати на розвиток GE через зміну балансу між проліферативною та апоптотичною активністю клітин, порушення сигнального шляху b-катеніну, ендотеліальної дисфункції через порушення функції eNOS. Однак, дослідження щодо механізмів розвитку гіперплазії ендометрія та ролі цих маркерів в цьому процесі ще тривають і потребують подальшої детальної розробки [15].

Імуногістохімічні маркери, такі як ER, PgR, E-cadherin, b-catenin, p21, Caspase 3, Cyclin D1, Ki-67 та eNOS, можуть бути корисними інструментами для вивчення розвитку гіперплазії ендометрія та ендометріозу. Комбінування цих маркерів може дати більш точну інформацію про зміни в клітинах ендометрію та їх взаємозв'язок з розвитком гіперпластичних процесів в ендометрії.

Дослідження імуногістохімічних маркерів в ендометрії вказують на складну мережу взаємозв'язків між ними, що можуть відображати різні механізми розвитку гіперплазії ендометрія та його перехід до раку. Тому, для більш детально-

го розуміння цих механізмів, потрібні додаткові дослідження, які включатимуть більш велику кількість пацієнтів та ширший спектр маркерів.

Висновки

1. Різницю між групою гіперплазій без атипії та контрольною групою секреторного ендометрія в залозистому компоненті продемонстрували маркери ER, PgR, b-catenin, p21, cyclin D1, Ki-67, Caspase-3 (всі $p < 0,05$); а в стромальному компоненті - ER, PgR, b-catenin (всі $p < 0,05$), що дає підставу використовувати їх в якості основних діагностичних маркерів.

2. Різницю між групою гіперплазій з атипією та контрольною групою секреторного ендометрія в залозистому компоненті продемонстрували маркери ER, b-catenin, p21, cyclin D1, Ki-67, eNOS (всі $p < 0,05$); а в стромальному компоненті - ER, b-catenin та eNOS (всі $p < 0,05$), що дає підставу використовувати їх в якості основних діагностичних маркерів.

3. Різницю між групою гіперплазій без атипії та групою гіперплазій з атипією в залозистому компоненті продемонстрували маркери PgR, Ki-67, Caspase-3 eNOS (всі $p < 0,05$); а в стромальному компоненті - eNOS ($p < 0,05$), що дає підставу використовувати їх в якості основних діагностичних і прогностичних маркерів.

4. Маркери Bcl-2 та BAX не показали статистично достовірної різниці в групах дослідження, що говорить про неможливість використання їх окремо в якості діагностичних або прогностичних маркерів для гіперпластичних процесів ендометрія, а інтерпритацію результатів експресії цих маркерів необхідно враховувати в сукупності з іншими показниками.

Перспективи подальших досліджень

Порівняльна характеристика експресії імуногістохімічних маркерів у різних типах ендометрія з метою визначення найбільш інформативних маркерів, які можуть служити діагностичними доповненнями та прогностичними показниками для переходу від гіперплазії ендометрія до карциноми.

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. Ramos-Vara JA. Principles and Methods of Immunohistochemistry. Methods in molecular biology : Clifton, 2017;1641:115–128. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7172-5_5
2. 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. PMID: 27920066; PMCID: PMC5850217.
3. Owings RA, Quick CM. Endometrial intraepithelial neoplasia. Arch Pathol Lab Med. 2014;138:484–491.
4. Gromova O, Potapov O, Khaskhachykh D,

Gaponova, Kukina G. Receptors of endometrium in premenopausal women with different morphotypes of endometrial hyperplasia. Neonatology, surgery and perinatal medicine. 2021;1(39):33-8. Ukrainian. DOI: 10.24061/2413-4260.XI.1.39.2021.5

5. 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

6. 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. <https://doi.org/10.1016/j.jnci.2014.08.002>.

7. Sanderson PA, Critchley HO, Williams AR, Arends MJ, Saunders PT. New concepts for an old problem: the diagnosis of endometrial hyperplasia. Hum Reprod Updat. 2017;23(2):232-254.

8. de Groot JS, Ratze MA, van Amersfoort M, Eisemann T, Vlug EJ, Niklaas MT, Chin SF, Caldas C, van Diest PJ, Jonkers J, de Rooij J, Derksen PW. α E-catenin is a candidate tumor suppressor for the development of E-cadherin-expressing lobular-type breast cancer. J Pathol. 2018;245(4):456-467. doi: 10.1002/path.5099.

9. Shevra CR, Ghosh A, Kumar M. Cyclin D1 and Ki-67 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. J Postgrad Med. 2015;61(1):15-20. doi: 10.4103/0022-3859.147025.

10. Najafi T, Ghaffari Novin M, Pakravesh J, Foghi K, Fadayi F, Rahimi G. Immunohistochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in endometrial tissue of women with unexplained infertility. IJRM 2012;10(2):121-126. URL: <http://ijrm.ir/article-1-263-en.html>

11. Silkova OV, Lobach NV (editors). [Medical informatics: study guide]. Ministry of Health of Ukraine, UMSA, Poltava: ASMI, 2016. 262 p. Ukrainian. PMID: 28203752.

12. Bendifallah S, Genin AS, Naoura I, Chabbert-Buffet N, Bolze PA. The impact of endometrial thickness changes in patients with simple hyperplasia without atypia. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology. 2018;224:75-81.

13. Bhattacharjee M, Chakraborty P, Mukherjee A, Mukherjee S. Association of PTEN and progesterone receptor expressions in endometrial hyperplasia without atypia and early-stage endometrial adenocarcinoma. Journal of mid-life health. 2019;10(3):128.

14. Dall'Agnol MA, Dias JA. Endometrial hyperplasia: a review for clinical practice. Clinics. 2019;74:e1189.

15. Khaskhachikh DA, Potapov VO, Kukina GO. A differentiated approach to the treatment of endometrial hyperplasia without atypia in women of reproductive age. Current issues of pediatrics, obstetrics and gynecology. 2019;2(24):149-54. Ukrainian. DOI: 10.11603/24116-4944.2019.2.10935

Хасхачих Д.А., Потапов В.О., Пославська О.В. Імуногістохімічна характеристика гіперплазії ендометрія в порівнянні з секреторним ендометрієм.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Гіперплазія ендометрія (ГЕ) є патологічним збільшенням кількості клітин ендометріального епітелія, що, у випадку атипової проліферації, вважається передраковим станом та веде до розвитку карциноми ендометрія. Значну роль в диференційній діагностиці ГЕ без/з атипією та карцином відіграє метод імуногістохімічного забарвлення. **Мета.** Метою цієї роботи є порівняльна характеристика експресії імуногістохімічних маркерів у трьох типах ендометрія: гіперплазія ендометрія без атипії, гіперплазія ендометрія з атипією та секреторний ендометрій, задля визначення найбільш інформативних маркерів, які можуть служити діагностичними доповненнями та прогностичними показниками для переходу від гіперплазії ендометрія до карциноми. **Методи.** Дослідження було виконано на біопсійному матеріалі ендометрія у 23 жінок репродуктивного віку з аномальними матковими кровотечами шляхом кюретажу, в яких була діагностована ГЕ без/з атипією, 7 жінок склали контрольну групу з секреторними змінами ендометрія. Було проведено порівняння експресії рецепторів до прогестерону (PR) і естрогену (ER), а також маркерів p21, dcl-2, KI-67, eNOS, cyclin D1, BAX, b-catenin, E-cadherin та Caspase 3 з метою визначення найбільш інформативних маркерів, які можуть служити діагностичними доповненнями та прогностичними показниками для переходу від ГЕ до карциноми. **Результати.** Отримані результати свідчать про відмінність у рівнях експресії імуногістохімічних маркерів у різних типах ендометрію. Дані результати важливі для подальшого дослідження механізмів розвитку гіперплазії ендометрію та можуть вказувати на потенційні терапевтичні цілі для вибору стратегії лікування різних типів гіперплазії. **Висновки.** Різницю між групою гіперплазії без атипії та контрольною групою секреторного ендометрія в залозистому компоненті продемонстрували маркери ER, PgR, b-catenin, p21, cyclin D1, Ki-67, Caspase-3 (всі $p < 0,05$); а в стромальному компоненті - ER, PgR, b-catenin (всі $p < 0,05$), що дає підставу використовувати їх в якості основних діагностичних маркерів. Різницю між групою гіперплазії з атипією та контрольною групою секреторного ендометрія в залозистому компоненті продемонстрували маркери ER, b-catenin, p21, cyclin D1, Ki-67, eNOS (всі $p < 0,05$); а в стромальному компоненті - ER, b-catenin та

eNOS (всі $p < 0,05$), що дає підставу використовувати їх в якості основних діагностичних маркерів. Різницю між групою гіперплазії без атипії та групою гіперплазії з атипією в залозистому компоненті продемонстрували маркери PgR, Ki-67, Caspasa-3 eNOS (всі $p < 0,05$); а в стромальному компоненті - eNOS ($p < 0,05$), що дає підставу використовувати їх в якості основних діагностичних і прогностичних маркерів. Маркери Bcl-2 та BAX не показали статистично достовірної різниці в групах дослідження, що говорить про неможливість використання їх окремо в якості діагностичних або прогностичних маркерів для гіперпластичних процесів ендометрія, а інтерпретацію результатів експресії цих маркерів необхідно враховувати в сукупності з іншими показниками.

Ключові слова: ендометрій, гіперплазія ендометрію, гіперплазія ендометрія без атипії, атипова гіперплазія ендометрію, імуногістохімія, прогноз.