

П.В. Савченко
І.С. Шпонька
П.О. Гриценко

Дніпровський державний
медичний університет
Дніпро, Україна

Надійшла: 14.09.2024

Прийнята: 15.10.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.110-116>

УДК 616-006-031-07-071.7-037:57.088.7

ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ЕНДОМЕТРІОЇДНИХ АДЕНОКАРЦИНОМ ЕНДОМЕТРІЯ РІЗНОГО СТУПЕНЯ МОРФОЛОГІЧНОГО АТИПІЗМУ

Savchenko P.V. , Shponka I.S. , Hrytsenko P.O.  Immunohistochemical profile of endometrioid adenocarcinomas of various degrees of morphological atypism.

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Topicality. Endometrioid adenocarcinoma of the endometrium is a significant part of malignant neoplasms of the uterine body, which, in turn, are the 2nd most common in menopausal women in 2022, according to the Cancer Registry of Ukraine. The absence of a specific clinical picture, similarity to other variants of adenocarcinoma of the uterine body necessitates the study of histological and immunohistochemical criteria to determine the degree of morphological atypism. **Purpose.** To improve the differential diagnostic immunohistochemical criteria for the diagnosis of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium, using the latest international classification data and taking into account the peculiarities of the diagnostic process in Ukraine. **Methods.** Retrospective analysis of 61 cases of postoperative material of women diagnosed with "endometrioid adenocarcinoma of the endometrium" for the period from 2021 to 2023 included the assessment of morphological, histological, immunohistochemical features with subsequent statistical processing of the results. **Results.** The ranking of women with a diagnosis of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium by age ranged from 30 to 85 years, the most common diagnosis of "endometrioid adenocarcinoma" is in the menopause and postmenopausal period. Markers p63 (strong connection), p16 (relatively strong connection), p53 (medium strength connection) had a statistically significant relationship for endometrioid adenocarcinoma ($p < 0.001$). There is no relationship between the level of CK20 expression and the degree of morphological atypism. Immunohistochemical profile of endometrioid adenocarcinoma p63 "-" (for grade 1 - "+" in part of cells) / p16 "+" in part of cells (for grade 1 - "-") / p53 "-" / Vimentin "+" / CK7 "+" / CK20 "-". **Conclusion.** The necessity of using a panel of cytokeratins 7 and 20, Vimentin, p63, p16, p53 in endometrioid adenocarcinomas of the endometrium to determine the degree of morphological atypism is argued.

Key words: endometrioid adenocarcinoma of the endometrium, marker p63, p16, p53, CK7, CK20, Vimentin.

Citation:

Savchenko PV, Shponka IS, Hrytsenko PO. [Immunohistochemical profile of endometrioid adenocarcinomas of various degrees of morphological atypism]. Morphologia. 2024;18(3):110-6. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.110-116>

 Savchenko P.V. 0009-0006-2348-7116;  Shponka I.S. 0000-0002-7561-6489;

 Hrytsenko P.O. 0000-0002-9965-8608

✉ pollina.savchenko@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Захворюваність на злоякісні новоутворення тіла матки згідно даних канцер-реєстру України у 2022 році займає 2-ге місце у жінок віком від 45 до 74 років та 4-те у жінок віком 30-44 років та страше 75 років [1]. Таким чином найбільша захворюваність припадає на період менопаузи. Найбільшу частину злоякісних новоутворень матки складає саме ендометріоїдні аденокарциноми ендометрія (ЕА). Ендометріоїдна аденокарцинома - це злоякісне новоутворення, що за гістологічною будовою відображає різні пропорції залозистого,

папілярного та солідного компонентів з неопластичними клітинами ендометріоїдного диференціювання.

За критеріями Міжнародної федерації гінекологів та акушерів (FIGO) ЕА діляться на 3 ступеня (grade 1, grade 2, grade 3). Традиційно в Україні ЕА 1-о ступеня носять назву високодиференційованих, 2-го - помірнодиференційованих та 3-го - низькодиференційованих ЕА. Пухлина, яка складається переважно з залозистого компоненту та має до 5% солідного незалозистого компоненту відноситься до grade 1. У ЕА, які відносяться до

grade 2, солідний незалозистий компонент може складати від 5% до 50% патерну пухлини, у ЕА з grade 3 - цей компонент займає більше 50% пухлинного росту [2, 3].

Специфічні клінічні скарги у жінок з діагнозом ЕА відсутні. Клінічно проявляється атипичною матковою кровотечею. Описаний випадок про нетипову локалізацію ЕА, яка була виявлена у некротизованому міоматозному вузлі у жінки 63 років без будь-яких інших симптомів [4]. Описані випадки розвитку ЕА у пацієнток з вогнищами аденоміозу. В одному з випадків висновок про походження пухлини з таких вогнищ було зроблено на основі того, що ЕА розміщувалась саме в вогнищах аденоміозу та не вражала нормально розташований ендометрій [5].

За даними літератури маркер p53 і p16 зазвичай має негативну реакцію, або ж дифузно позитивним у 2-5% пухлин grade 1 та 2 та 20% grade 3. Порогові значення позитивної реакції p53 різняться в публікаціях, деякі пропонують > 5 %, > 10 % або > 50 % сильного позитивного ядерного забарвлення. Вказують, що у ЕА з імунотипом "p53-позитивною реакцією" метастази в лімфатичних вузлах можуть складатися з різних субклонів первинної пухлини [6, 7]. Експресія маркеру p63 у ЕА наявна в зонах плоскоклітинного диференціювання.

Потрібно проводити диференціальну діагностику ендометріюїдних аденокарцином ендометрія з серозними та світлоклітинними аденокарциномами. У серозних аденокарциномах наявна експресія p16 та p53. У світлоклітинних ЕА маркер p53 має позитивну експресію, на відміну від ендометріюїдних. Позитивна реакція з цитокератинами 7 (СК7) виявляється як і в ендометріюїдних, так і у світлоклітинних [6, 8]. Для диференціювання ЕА ендометрія з метастазом аденокарциноми кишечника використовувався цитокератин 20 (СК 20), експресія якого відсутня у ЕА.

Мета

Удосконалити диференційно-діагностичні імуногістохімічні критерії діагностики ендометріюїдних аденокарцином ендометрія, використовуючи новітні міжнародні класифікаційні дані та

враховуючи особливості діагностичного процесу в Україні.

Матеріали та методи

В роботі проведено ретроспективний аналіз післяопераційного матеріалу жінок, що був надісланий до морфологічного відділу діагностичного центру ООО «Аптеки медичної академії» м. Дніпра за період з 2021 по 2023 рр. для остаточної верифікації діагнозу за допомогою імуногістохімічного (ІГХ) методу, з яких було встановлено діагнози «ендометріюїдна аденокарцинома ендометрія» з різним ступенем диференціювання в кількості 61 випадок. Був проведений аналіз імуногістохімічних характеристик злоскісних новоутворень ендометрія згідно до 5-го видання класифікації ВООЗ новоутворень жіночої репродуктивної системи, 2020р.

Для проведення ІГХ дослідження ми використовували формалін-фіксовані і парафін-залиті примірники післяопераційного матеріалу. Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження проводилось згідно протоколів компанії ThermoScientific (TS), США. У зрізах, завтовшки 4 мкм, за допомогою системи візуалізації Lab Vision Quanto (TS, США) та DAB Quanto Chromogen (TS, США) виявляли антигени та фіксовані на них білкові ланцюги.

У нашому дослідженні 20 (32%) випадків пацієнток з діагнозом ендометріюїдна аденокарцинома було віднесено до grade 1 та по 21 (34%) випадок - до grade 2 та 3.

Вік пацієнток із діагнозом ЕА grade 1 варіював від 30 до 83 років із середнім значенням $54,50 \pm 12,70$ років, медіана складала 56 років, для пацієнток з діагнозом ЕА grade 2 він був від 35 до 85 років із середнім значенням $59,52 \pm 13,50$ років, медіана - 56 роки та для пацієнток з діагнозом ЕА grade 3 - від 42 до 82 років із середнім значенням $58,19 \pm 11,80$ років, медіана - 57 років.

Первинна діагностична ІГХ панель включала антитіла з експресією p63, p53, p16, Vimentin, Cytokeratin 7, Cytokeratin 20. Титр антитіл підбирався індивідуально для кожного маркеру із використанням спеціального розчину Antibody diluent, TS, США. Характеристики антитіл занесені до таблиці 1.

Таблиця 1

Панель первинних антитіл

Первинні антитіла	Клон	Розведення	Локалізація реакції
p63	клон sp6	RTU	Ядерна
p16	клон sp1	RTU	Ядерна/Цитоплазматична
p53	клон Ab-3	1:100	Ядерна
Cytokeratin 7 (СК7)	клонRCK105	1:100	Цитоплазматична
Cytokeratin 20 (СК20)	клонKs 20.8	1:100	Цитоплазматична
Vimentin	клонAb-2/sp20	1:200	Цитоплазматична

Реакції було оцінено напівкількісним методом у не менш, ніж 10 полів зору. Як позитивна

реакція розцінювалося наявність коричневого забарвлення у більше 10% пухлинних клітин із ви-

раженою та помірно вираженою специфічною реакцією для кожного маркеру. Діагнози були встановлені двома досвідченими морфологами незалежно один від одного, спираючись на сучасні класифікації ВООЗ [8].

Дані досліджень зазнавали статистичної обробки в програмі Statistica (серійний номер AGAR 909 E415822FA).

Результати дослідження

У нашому дослідженні було проаналізовано експресію імуногістохімічних маркерів в залежності від ступеня морфологічного атипізму ендометріоїдної аденокарциноми ендометрія. Експре-

сія маркерів оцінювалась як позитивна («+»), позитивна в частині клітин («+» в ч.кл.) та негативна («-»).

Для маркеру p63 була характерна відсутність експресії у всіх ЕА не залежно від ступеня морфологічного атипізму. У 100% ЕА grade 1 експресія мала частковий характер. У 71,4% ЕА grade 2 та 86,7% grade 3 позитивна реакція була виявлена у частині клітин. Оцінка інтенсивності асоціації за критерієм Крамера між ступенем диференціації пухлини та рівнем p63 ($V=0,75$; $p<0,001$) свідчить про наявність статистично значущого сильного взаємозв'язку для даної пари ознак (Рис. 1).

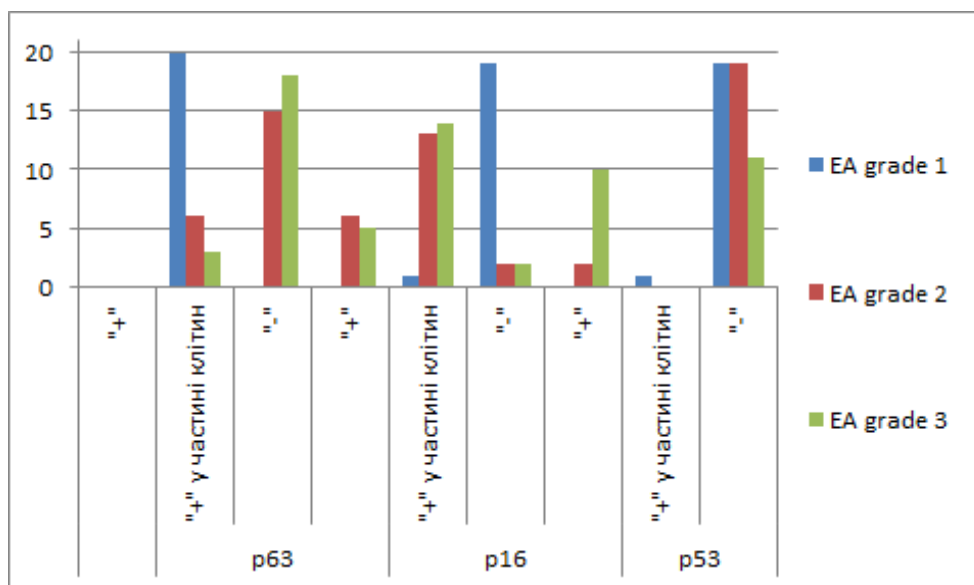


Рис. 1. Розподіл випадків ЕА за експресією маркерів p63, p16, p53.

Відсутня експресія маркеру p16 була у 95,0% ЕА grade 1 та лише у 9,5% ЕА grade 2 і 3. Для ЕА зі ступенем 2 і 3 була характерна позитивна реакція у частині пухлин. Оцінка інтенсивності асоціації за критерієм Крамера між ступенем диференціації пухлини та рівнем p16 ($V=0,59$; $p<0,001$) свідчить про наявність статистично значущого відносно сильного взаємозв'язку для даної пари ознак (Рис. 2).

Для 5% та 9,5% відповідно ЕА grade 1 та grade 2 була характерна наявність експресії маркеру p53. Щодо розподілу кількості випадків за експресією p53 у ЕА grade 3, то 47,6% випадків мали експресію маркеру та у 52,4% випадків вона була відсутня. Оцінка інтенсивності асоціації за критерієм Крамера між ступенем диференціації пухлини та рівнем p53 ($V=0,39$; $p<0,001$) свідчить про наявність статистично значущого взаємозв'язку середньої сили для даної пари ознак.

100% ЕА мали позитивну реакцію маркеру Vimentin, але у 20% ЕА grade 1, у 38,1% ЕА grade 2 та у 47,6% ЕА grade 3 була виявлена позитивна

реакція в частині пухлинних клітин. Оцінка інтенсивності асоціації за критерієм Крамера між ступенем диференціації пухлини та рівнем Vimentin ($V=0,24$; $p=0,17$) свідчить про наявність статистично незначущого взаємозв'язку середньої сили для даної пари ознак (Рис. 3).

Для маркеру CK7 була характерна позитивна реакція у 90% випадків АЕ grade 1, у 90,5% - АЕ grade 2 та у 61,9% - АЕ grade 3. Відсутня реакція до цитокератину 7 у 9,5% ЕА grade 3 (Рис.4). Оцінка інтенсивності асоціації за критерієм Крамера між ступенем диференціації пухлини та рівнем CK7 ($V=0,26$; $p=0,08$) свідчить про наявність статистично не значущого взаємозв'язку середньої сили для даної пари ознак. Але значення р-рівня менше за 0,10 свідчить про певну статистичну тенденцію, що дає змогу припустити статистичну значимість даного результату при збільшенні об'єму досліджуваної вибірки.

У 100% випадків ЕА була відсутня експресія маркеру CK20 (Рис.5).

Статистичні результати експресії маркерів у ЕА приведені у таблиці 2.

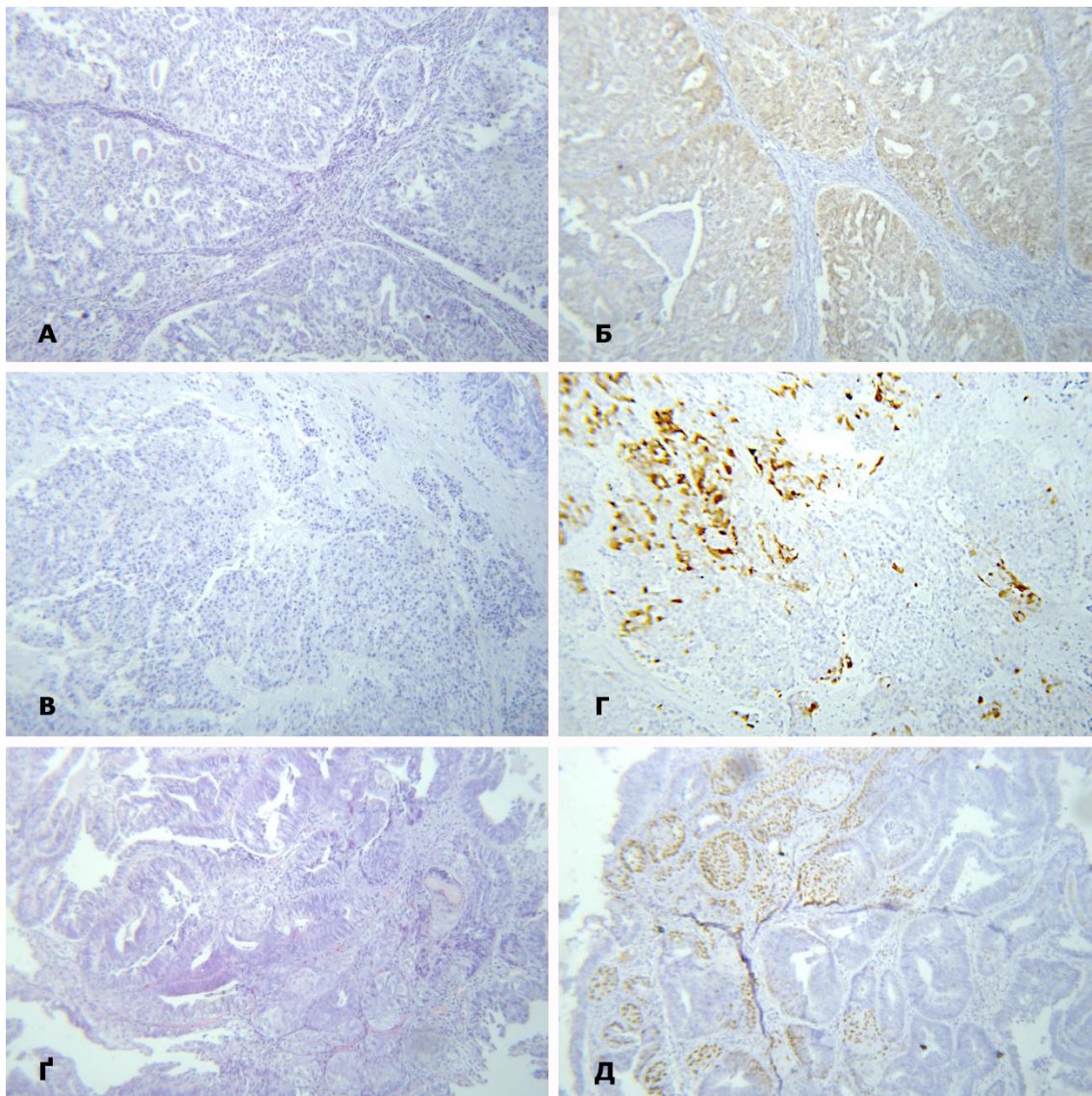


Рис. 2. Ендометріюдна аденокарциноми (ЕА) grade 2 : А - забарвлення Г-Е (×100), Б - експресія p16 в ч.кл. (×100). ЕА grade 3: В - забарвлення Г-Е (×100), Г - експресія p16 в ч.кл. (×100). ЕА grade 1 :забарвлення Г-Е (×100), Д - експресія p63 в ч.кл. (×200).

Таблиця 2
Взаємозв'язок між ступенем диференціації пухлини та маркерами

Маркер	χ^2 Пірсона	p	V Крамера
p63	34,46	$p < 0,001$	0,75
p16	42,65	$p < 0,001$	0,59
p53	18,57	$p < 0,001$	0,39
CK7	8,34	$p = 0,080$	0,26
Vimentin	3,51	$p = 0,173$	0,24

Обговорення результатів дослідження

Вік пацієнток із діагнозом ЕА варіював від 30 до 85 років з медіаною 56,5.

Статистично доведено значущість використання панелі маркерів p53, p16 - для грейдування (визначення ступеня злоякісності пухлини) та p63, який є позитивним в ділянках плоскоклітинної метapлазії. Як і в роботі Lin С.М. та співор.

лише 11% випадків мали експресію p53 в ЕндА, так і в нашому дослідженні вагома частина випадків не мала експресії даного маркеру [9].

Відсутність статистично значущого взаємозв'язку була у маркерів CK7 та Vimentin. Позитивна реакція пухлинних клітин до Vimentin говорить про ендометріюдний варіант аденокарциноми. У нашому дослідженні була виявлена позитивна реакція в більшості випадків до маркеру CK7 та відсутня експресія CK20 у всіх випадках. Такі ж результати отримано і в роботі Hanley K. Z., Birdsong G. G. та Mosunjac, M. B [10]. Але відрізнялась експресія маркеру Vimentin: в нашому дослідженні була не тільки позитивна реакція Vimentin, а й половина випадків припала на позитивну реакцію в частині клітин. Була виявлена відсутність залежності експресії маркеру CK20 та ступенем морфологічного атипізму.

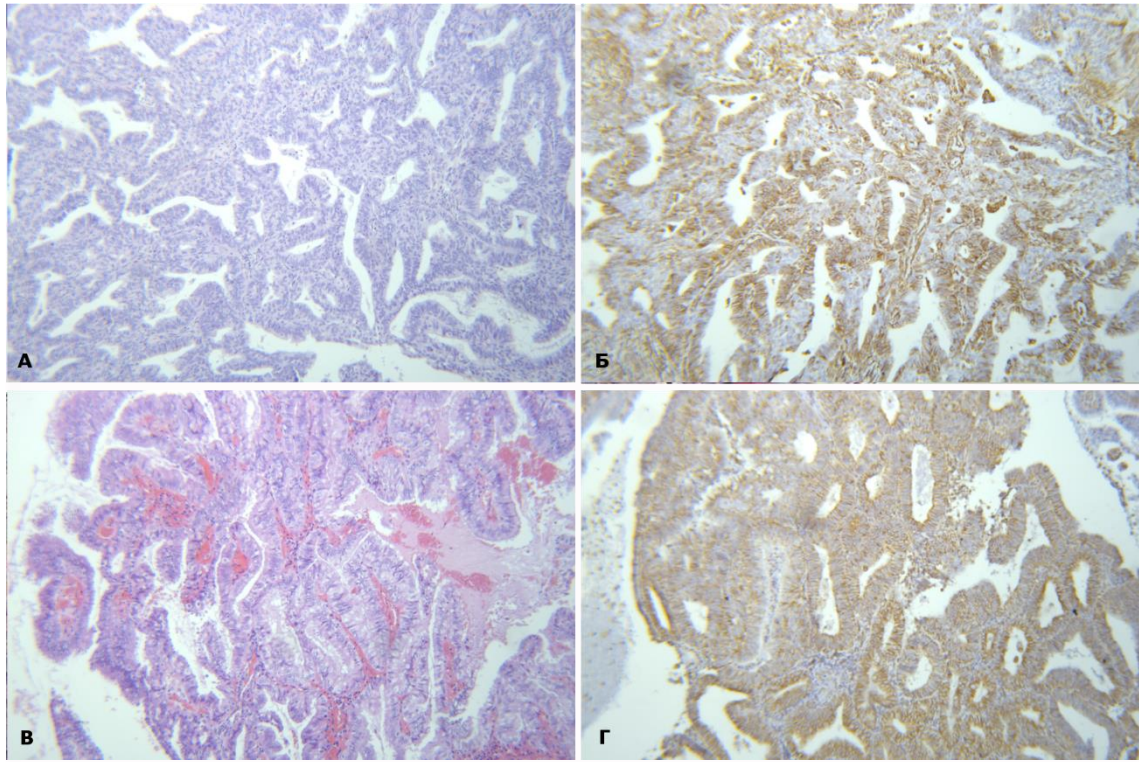


Рис. 3. Ендоетріюїдна аденокарциноми (ЕА) grade 1: А - Г-Е (×100), Б - наявна експресія Vimentin (×100). ЕА grade 2: В - забарвлення Г-Е (×100), Г - наявна експресія Vimentin (×100).

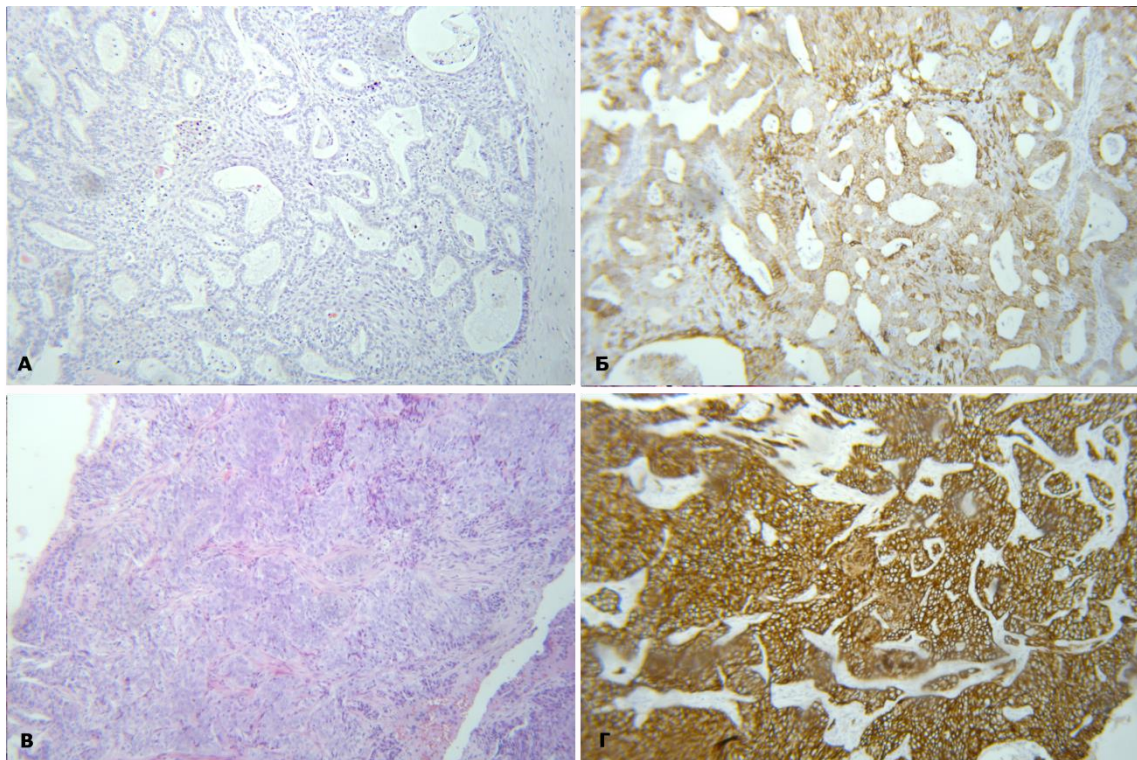


Рис. 4. Ендоетріюїдна аденокарциноми (ЕА) grade 2: А - забарвлення Г-Е (×100), Б - наявна експресія Cytokeratin 7 (×100). ЕА grade 3: В - забарвлення Г-Е (×100), Г - наявна експресія Cytokeratin 7 (×100).

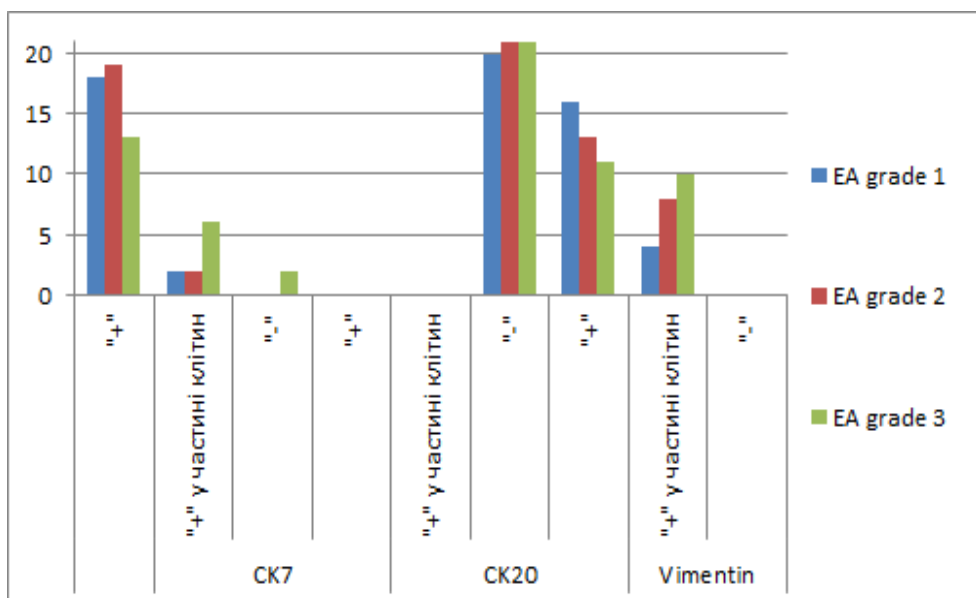


Рис. 5. Розподіл випадків ЕА за експресією маркерів Cytokeratin 7, Cytokeratin 20, Vimentin.

Висновки

1. Ранжування жінок з діагнозом ендометріоїдна аденокарцинома ендометрія за віком відбулося від 30 до 85 років, найбільш часто зустрічаємим діагноз ЕА є в менопаузі та постменопаузальному періоді.

2. Статистично значущий взаємозв'язок для ЕА мали маркери p63 (сильний зв'язок), p16 (відносно сильний зв'язок), p53 (середньої сили зв'язок) ($p < 0,001$). Відсутній зв'язок між рівнем експресії CK20 та ступенем морфологічного атипізму.

3. Імуногістохімічний профіль ЕА був характерний, як: p63 "-" (для grade 1 - "+" в ч. кл.) / p16 "+" в ч. кл. (для grade 1 - "-") / p53 "-" / Vimentin "+" / CK7 "+" / CK20 "-".

Перспективи подальших досліджень
пов'язані з вивченням морфологічного ступеня атипізму ендометріоїдних аденокарцином ендометрія на підставі визначення рівнів експресії різних маркерів та проведення генотипування.

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. Fedorenko ZP, Goulak LO, Gorokh YL, Ryzhov AY, Soumkin OV. [Cancer in Ukraine, 2022-2023. Incidence, mortality, prevalence and other relevant statistics]. Bulletin of the National Chancery Register of Ukraine. 2024;25:1-62. Ukrainian.
2. Fletcher CDM. Diagnostic histopathology of tumors. Philadelphia: Elsevier; 2013. 2167 p.
3. Kurrman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of tumors of female reproductive organs. Lyon: IARC; 2014. 307 p.
4. Poenaru MO, Pleș L, Sima RM, Ionescu P, Florescu C, Neacșu I, Stănică CD, Neacșu A. Unexpected location of endometrial adenocarcinoma - a case report. Rom J Morphol Embryol. 2020;61(3):941-945. doi: 10.47162/RJME.61.3.35
5. Sasaki T, Sugiyama T, Nanjo H, Hoshi N, Murakami M, Sugita A, Takahashi M, Kawamura K, Ono I, Masuda H. Endometrioid adenocarcinoma arising from adenomyosis: report and immunohistochemical analysis of an unusual case. Pathol Int. 2001;51(4):308-313. doi: 10.1046/j.1440-1827.2001.01200
6. Fadare O, Parkash V. p53 aberrations in low grade endometrioid carcinoma of the endometrium with nodal metastases: possible insights on pathogenesis discerned from immunohistochemistry. Diagn Pathol. 2017;12(1):81. doi: 10.1186/s13000-017-0668-6
7. Murali R, Davidson B, Fadare O, Carlson JA, Crum CP, Gilks CB, Irving JA, Malpica A, Matias-Guiu X, McCluggage WG, Mittal K, Oliva E, Parkash V, Rutgers JKL, Staats PN, Stewart CJR, Tornos C, Soslow RA. High-grade Endometrial Carcinomas: Morphologic and Immunohistochemical Features, Diagnostic Challenges and Recommendations. Int J Gynecol Pathol. 2019;38(1):40-63. doi: 10.1097/PGP.0000000000000491
8. Zannoni GF, Santoro A, Angelico G, Spadola S, Arciuolo D, Valente M, Inzani F, Pettinato A, Vatrano S, Fanfani F, Scambia G, Frassetto F.

Clear cell carcinoma of the endometrium: an immunohistochemical and molecular analysis of 45 cases. *Hum Pathol.* 2019;92:10-17. doi: 10.1016/j.humpath.2019.06.005

9. Lin CM, Lin SF, Lee YC, Lai HC, Liew PL. Association of immunohistochemical profiles with histotypes in endometrial carcinomas. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2022;61(5):823-829. doi:

10.1016/j.tjog.2022.04.009

10. Hanley KZ, Birdsong GG, Mosunjac MB. Recent Developments in Surgical Pathology of the Uterine Corpus. *Arch Pathol Lab Med.* 2017;141(4):528-541. doi: 10.5858/arpa.2016-0284-SA

Савченко П.В., Шпонька І.С., Гриценко П.О. Імуногістохімічний профіль ендометріюїдних аденокарцином ендометрія різного ступеня морфологічного атипізму.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Ендометріюїдна аденокарцинома ендометрія складає значну частину злоякісних новоутворень тіла матки, які в свою чергу посідають 2-ге місце по захворюваності у жінок в менопаузі у 2022 році за даними канцер-реєстру України. Відсутність специфічної клінічної картини, подібність до інших варіантів аденокарцином тіла матки обумовлює необхідність дослідження гістологічних та імуногістохімічних критеріїв для визначення ступеня морфологічного атипізму. **Мета.** Удосконалити диференційно-діагностичні імуногістохімічні критерії діагностики ендометріюїдних аденокарцином ендометрія, використовуючи новітні міжнародні класифікаційні дані та враховуючи особливості діагностичного процесу в Україні. **Методи.** Ретроспективний аналіз 61 випадку післяопераційного матеріалу жінок за період з 2021 по 2023 рр. з діагнозом "ендометріюїдна аденокарцинома ендометрія" включав оцінку морфологічних, гістологічних, імуногістохімічних особливостей із наступною статистичною обробкою отриманих результатів. **Результати.** Ранжування жінок з діагнозом ендометріюїдна аденокарцинома ендометрія за віком відбулося від 30 до 85 років, найбільш часто зустрічаємим діагноз "ендометріюїдна аденокарцинома" є в менопаузі та постменопаузальному періоді. Статистично значущий взаємозв'язок для ендометріюїдних аденокарцином мали маркери p63 (сильний зв'язок), p16 (відносно сильний зв'язок), p53 (середньої сили зв'язок) ($p < 0,001$). Відсутній зв'язок між рівнем експресії CK20 та ступенем морфологічного атипізму. Імуногістохімічний профіль ендометріюїдної аденокарциноми p63 "-" (для grade 1 - "+" в частині клітин) / p16 "+" в частині клітин (для grade 1 - "-") / p53 "-" / Vimentin "+" / CK7 "+" / CK20 "-". **Підсумок.** Аргументована необхідність використання панелі цитокератинів 7 та 20, Vimentin, p63, p16, p53 у ендометріюїдних аденокарциномах ендометрія для визначення ступеня морфологічного атипізму.

Ключові слова: ендометріюїдна аденокарцинома ендометрія, маркер p63, p16, p53, CK7, CK20, Vimentin.