

З. В. Чумак, А. А. Зелинский, Н. В. Шаповал, Н. С. Истерин

ОЦЕНКА ГОРМОНАЛЬНО-РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ГИПЕРПЛАЗИРОВАННОГО ЭНДОМЕТРИЯ

Одесский городской центр по проблемам климактерия, Одесса, Украина

УДК 618.145-006.6:618.145-007.61:618.145-002.18

З. В. Чумак, А. А. Зелинский, Н. В. Шаповал, Н. С. Истерин

ОЦЕНКА ГОРМОНАЛЬНО-РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ГИПЕРПЛАЗИРОВАННОГО ЭНДОМЕТРИЯ

Одесский городской центр по проблемам климактерия, Одесса, Украина

В результате проведения иммуногистохимического исследования маркера пролиферации Ki-67 и ER, PR в образцах эндометриальной ткани 60 женщин с гиперпластическими процессами и аденокарциномой и 15 пациенток с двухфазным менструальным циклом было выявлено, что экспрессия протеина Ki-67 увеличивалась по мере прогрессирования степени пролиферативного процесса. Рецепторный аппарат эндометрия характеризовался преобладанием PR над ER при простой и комплексной гиперплазии, а при атипических формах установлено преобладание ER над PR, что в условиях эстрогенного влияния может способствовать неконтролируемому пролиферативному действию. Проявление изучаемых процессов было более выражено в эпителиальных клетках эндометрия, чем в стромальных, и характеризовалось выраженной очаговостью.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, иммуногистохимия, пролиферация, Ki-67, ER, PR.

UDC 618.145-006.6:618.145-007.61:618.145-002.18

Z. V. Chumak, A. A. Zelinsky, N. V. Shapoval, N. S. Isterin

ESTIMATION OF HORMONE-RECEPTOR STATUS AND PROLIFERATIVE ACTIVITY OF ENDOMETRIAL HYPERPLASIA

The Odessa City Centre of Climacterical Problems, Odessa, Ukraine

Objective: Studying development and expression proliferation marker Ki-67, ER, PR in epithelial and stromal endometrium at hyperplasia processes and their prognostic significance determination.

Materials and methods. An immunohistochemical investigation of endometrium was done in 74 women. The main group consisted of 60 women with hyperplasia of endometrium and adenocarcinoma (11 — simple hyperplasia without atypia, 18 — complex hyperplasia without atypia, 10 — simple hyperplasia with atypia, 13 — complex hyperplasia with atypia, 8 — adenocarcinoma), the control group consisted of 15 patients with morphological unchanged endometrium (proliferation stage n=6, secretion stage n=9). We defined proliferation markers Ki67 and ER, PR in epithelial and stromal endometrium by using immunohistochemical methods.

Results and discussion. Increasing expression of the protein Ki-67 by the progression of stage of the proliferative process was identified as a result of immunohistochemical research. The receptor apparatus of endometrium was characterized by a predominance PR over ER by the simple and complex hyperplasia and predominance ER over PR by the atypical form.

Conclusions. Estrogens, in case of their own receptor predominance over progesterone receptors, have uncontrolled proliferative influence which is accompanied by elevated levels of expression of the proliferation marker Ki-67.

Key words: endometrial hyperplasia, immunohistochemistry, proliferation, Ki-67, ER, PR.

Вступление

Гиперплазия эндометрия (ГЭ), являясь гетерогенной группой патологических изменений слизистой оболочки матки, вызывает постоянный интерес у исследователей на протяжении уже многих десятилетий. Несмотря на значительные успехи в изучении этиологии и патогенеза данного заболевания, многие вопросы остаются нерешенными [1; 8], а высокая

частота рецидивирования — от 30 % после лечения до 50 % без лечения (Е. М. Вихляева, 1990) — и возможность малигнизации, в зависимости от предшествующей формы от 1–5,6 % до 30–45 % (Я. В. Бохман и соавт., 1995; D. M. Gruber et al., 1999; Г. Е. Чернуха, 2009), диктуют поиск новых критериев в оценке состояния эндометрия, эффективности консервативной терапии, а также выбора тактики лечения.

Роль несбалансированного гормонального влияния в развитии ГЭ хорошо известна, уровень рецепторного аппарата изменяется не только от фазы менструального цикла [2; 3], но и от наличия пролиферативного процесса, хотя данные исследований о содержании рецепторов к эстрогенам (ER) и прогестерону (PR) крайне мозаичны и противоречивы. Установлено наличие высокого содержания рецепторов



к половым стероидам при простой ГЭ с тенденцией к уменьшению при комплексной и значительным уменьшением — при атипической [5; 10], другими исследователями существенных изменений в рецепторном аппарате эндометрия при пролиферативных процессах обнаружено не было [7].

Определенная роль в возникновении ГЭ и ее последующем поведении отводится пролиферативной активности клеток [9]. Одним из наиболее распространенных и перспективных маркеров пролиферации служит Ki-67 как антиген, который экспрессируется практически во всех фазах клеточного цикла (G_1 , S, G_2 , M, кроме G_0), что позволяет судить о величине пролиферативного пула и использовать данный протеин для оценки темпов роста, онкологической сущности и агрессивности опухоли [4].

Несмотря на огромный интерес исследователей к данной проблеме, эффективность применения отдельных иммуногистохимических маркеров и их сочетаний для диагностики ГЭ все еще остается недостаточно изученной, как и их роль в биомолекулярных механизмах развития различных форм пролиферативных процессов эндометрия и оценке перспективы их озлокачествления.

Цель исследования — установить уровни экспрессии протеина Ki-67, рецепторов эстрогена и прогестерона в эпителии и строме эндометрия при гиперпластических состояниях и определить их прогностическую значимость.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на материале соскобов эндометрия 60 женщин в возрасте от 36 до 57 лет (средний возраст $47,3 \pm 4,5$ года) с патогистологически верифицированным диагнозом гиперплазия эндометрия и 15 образцов

эндометрия, полученного в процессе подготовки к вспомогательным репродуктивным технологиям (контрольная группа). В результате дифференциации пролиферативных процессов согласно классификации, разработанной субкомитетом по телу матки Международного общества гинекологов-патологов (1994), были сформированы следующие группы: I группа — простая гиперплазия эндометрия без атипии (ПГ) — 11, II группа — комплексная гиперплазия без атипии (КГ) — 18, III группа — простая гиперплазия с атипией (ПГА) — 10, IV группа — комплексная гиперплазия с атипией (КГА) — 13, V группа — аденокарцинома (АК) — 8, VI группа (контрольная) — морфологически неизменный эндометрий — 15 (фаза пролиферации — 6, фаза секретиции — 9).

Перед проведением иммуногистохимического исследования полученный материал фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине и заливали в парафиновые блоки, после чего готовили гистологические срезы на микротоме HESTION ERM3100 (Япония) толщиной 4–5 мкм (не менее двух срезов на каждое гистологическое стекло), окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы наклеивались на высокоадгезивные предметные стекла Super Frost Plus (Германия). После высокотемпературной демаскировки в Трис-ЭДТА буфере pH 9,0 на срезы наносили первичные антитела против ER (Moа-Hu Estrogen Receptor), PR (Moа-Hu Progesterone Receptr). В качестве первичных специфичных антител использовали антитела к Ki-67 (DAKO, Германия). Визуализацию продуктов реакции проводили с использованием системы детекции EnVision+ с хромогеном DAB+ (все реактивы фирмы DAKO, США). Препараты докрашивали гематоксилином,

заклучали в бальзам и оценивали результаты иммуногистохимической реакции с помощью светового микроскопа N306 (Япония) с цифровой фотокамерой DM800 (Япония). Оценку результатов проводили полуколичественным методом путем подсчета процента позитивно окрашенных ядер (отдельно в эпителии желез и строме эндометрия) и интенсивности окрашивания, которую оценивали визуально. Результаты реакции для ER и PR оценивали в баллах по шкале Allred — сумма баллов количества иммуноокрашенных клеток и интенсивность окрашивания: (-) — негативная реакция, H < 50, (+) — H от 50 до 100, (++) — H от 100 до 200, (+++) — H от 200 до 300 единиц.

Числовые результаты исследования обрабатывали статистически с помощью вариационной статистики с критерием Стьюдента, используя стандартные компьютерные программы.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате количественного анализа экспрессии маркера пролиферации Ki-67 в эндометриальной ткани было выявлено, что при ПГ показатели данного маркера были ниже, чем в контрольной группе, как в клетках эпителия, так и в строме, что составило $(6,38 \pm 2,33)$ и $(1,43 \pm 1,03)$ % соответственно. При КГ экспрессия протеина Ki-67 достоверно не отличалась от группы контроля и в эпителии желез была выявлена в $(9,36 \pm 2,13)$ %, а стромальных — $(2,04 \pm 1,08)$ %. При ПГА, КГА, а также АК наблюдается увеличение данного показателя по мере прогрессирования степени пролиферативного процесса. Экспрессия данного маркера была более выраженной в эпителиальных клетках желез, нежели в стромальных (табл. 1), и проявлялась выраженной оча-



**Экспрессия протеина Ki-67, рецепторов к эстрогену и прогестерону
в эндометриальной ткани, M±m**

Маркер	Группа					
	I, n=11	II, n=18	III, n=10	IV, n=13	V, n=8	VI, n=15
Ki-67, %						
Э	6,38±2,33	9,36±2,13	11,04±1,75	15,05±2,78	45,81±3,01	8,01±1,02
С	1,43±1,03	2,04±1,08	3,28±1,34	5,81±2,43	8,43±2,98	2,03±0,02
ER (H-score)						
Э	215,01±8,33	243,26±7,85	259,41±5,41	263,05±9,34	185,51±7,03	269,02±13,21
С	165,33±9,01	174,85±8,37	208,31±7,69	210,47±6,34	149,64±4,31	213,10±7,35
PR (H-score)						
Э	269,03±4,08	239,65±5,69	234,43±9,81	221,65±6,83	217,91±7,01	291,18±9,12
С	254,28±6,03	244,53±5,56	225,43±6,45	219,57±7,43	179,31±6,81	275,04±8,3

Примечание. Э — эпителиальные клетки; С — стромальные клетки.

говостью. Интенсивность экспрессии белка Ki-67 представлена на рис. 1, 2.

В результате проведенного анализа рецепторного статуса нормального, гиперплазированного и неоплазированного эндометрия было установлено, что наибольший уровень экспрессии ER отмечался при атипичической ГЭ, как простой, так и комплексной: в эпителиальных клетках — 259,41±5,41 и 263,05±9,34 соответственно; в стромальных — 208,31±7,69 и 210,47±6,34. Самая низкая экспрессия ER была выявлена при АК, что составило в эпителии 185,51±7,03, а в строме — 149,64±4,31. Более выраженная экспрессия ER наблюдалась в эпителиальных клетках, чем в стромальных, независимо от формы ГЭ. Интенсивность экспрессии ER при различных видах ГЭ представлена нами на рис. 3, 4. Наиболее высокий уровень экспрессии PR был отмечен при ПГ (269,03±4,08 и 254,28±6,03 в эпителиальных и стромальных клетках соответственно), несколько ниже — при КГ (239,65±5,69 и 244,53±5,56), значительно ниже — при атипичической ГЭ, как простой, так и комплексной, что в эпителиальных клетках составило 234,43±9,81 и 221,65±6,83, а в стромальных — 225,43±6,45 и 219,57±7,43 соответственно, и самый низкий при АК — 217,91±

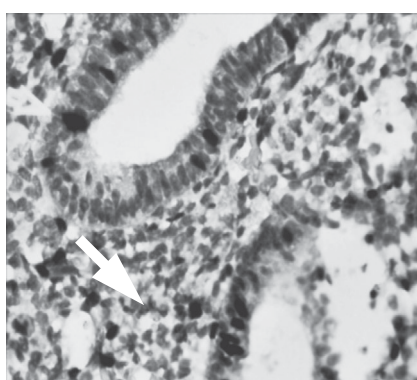


Рис. 1. Комплексная гиперплазия. Экспрессия маркера Ki-67 от 15 до 23 %. ×40

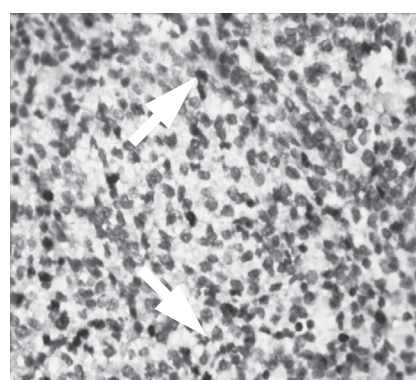


Рис. 2. Комплексная атипичическая гиперплазия. Экспрессия Ki-67 в стромальных клетках от 27 до 39 %. ×40

±7,01 и 179,31±6,81. Интенсивность экспрессии PR представлена на рис. 5, 6.

При ПГ, КГ, ПКА, КГА сохранялось преобладание выраженности рецепторного аппарата в эпителиальных клетках по сравнению со стромальными

ми, в отличие от малигнизированного эндометрия, где данное распределение было проведено условно.

Анализ распределения ER и PR в клетках эндометрия в процентном отношении представляет состояние рецептор-

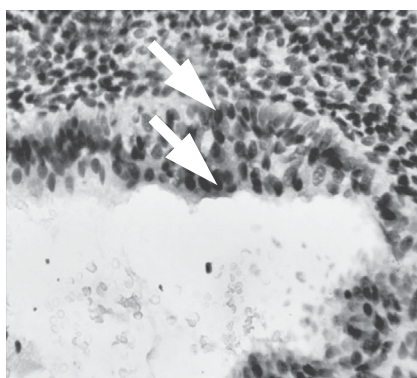


Рис. 3. Комплексная гиперплазия. Экспрессия ER (+++) N=270 в 65 % клеток эпителия. ×40

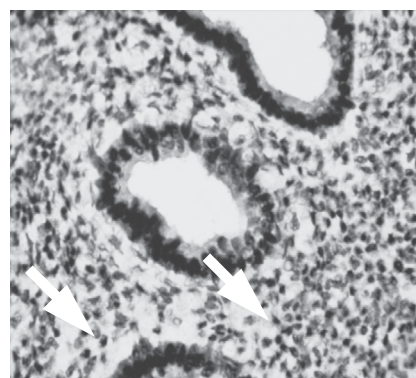


Рис. 4. Комплексная гиперплазия. Экспрессия PR (+++) N=280 в 85 % клеток стромы. ×40

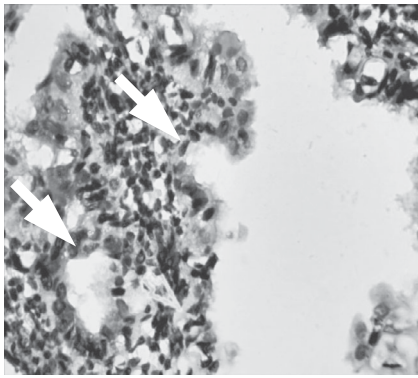


Рис. 5. Аденокарцинома эндометрия. Экспрессия ER (++) N=180 в 55 % клеток эпителия. ×40

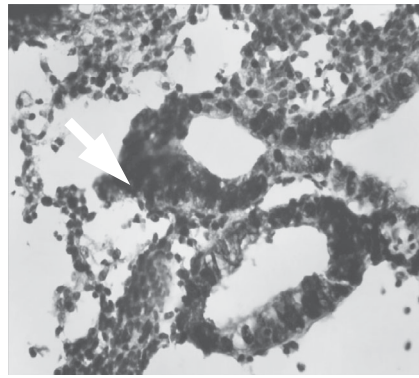


Рис. 6. Аденокарцинома эндометрия. Экспрессия PR (++) N=180 в 47 % клеток стромы. ×40

ного аппарата слизистой оболочки и характеризует функциональную активность каждого вида рецепторов по отношению к состоянию гормонального баланса (рис. 7, 8).

Выводы

Следует полагать, что эстрогены в условиях преобла-

дания собственных рецепторов над рецепторами прогестерона оказывают неконтролируемое пролиферативное действие, сопровождающееся повышенными уровнями экспрессии маркера пролиферации Ki-67. Для ER и PR наряду с Ki-67 характерна очаговая экспрессия

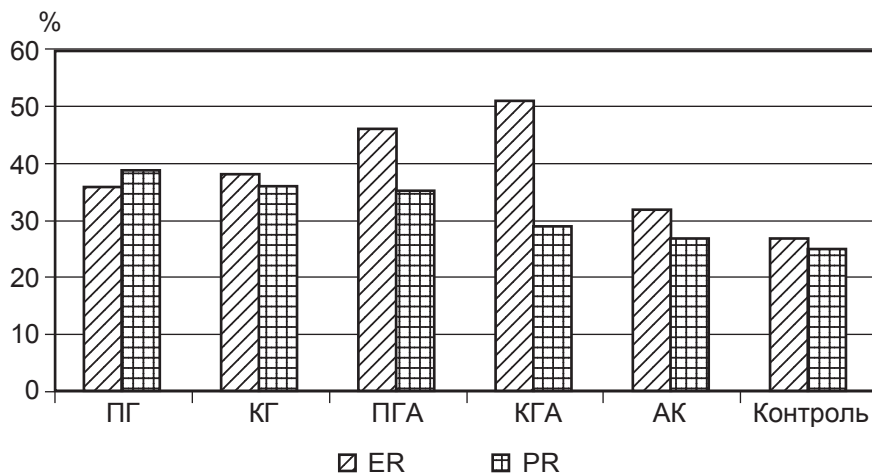


Рис. 7. Экспрессия ER и PR в эпителиальных клетках эндометрия

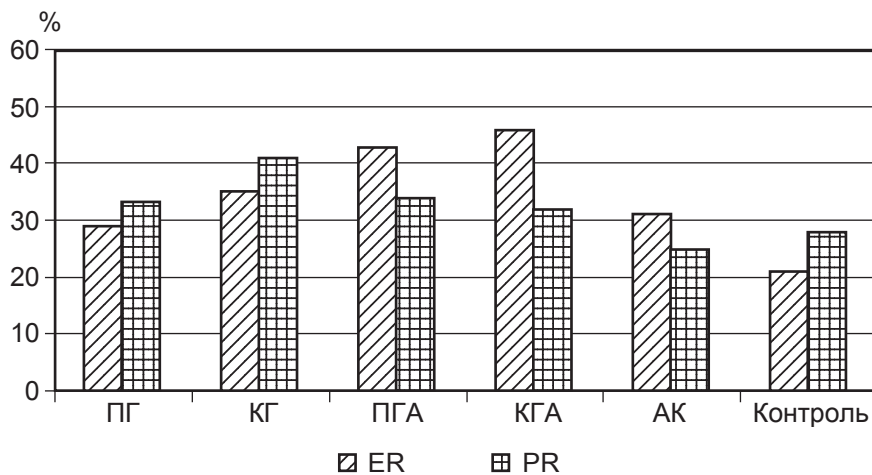


Рис. 8. Экспрессия ER и PR в стромальных клетках эндометрия

с ее преобладанием в поверхностных слоях эндометрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захарцева Л. М. Морфологические и иммуногистохимические критерии прогноза при раке эндометрия / Л. М. Захарцева, Л. И. Воробьева, Е. П. Манжура // Онкология. – 2001. – Т. 3, № 4. – С. 252–256.
2. Клещев М. А. Возрастные особенности гиперплазии эндометрия / М. А. Клещев, М. Ю. Смирнова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2010. – Т. 22, № 93. – С. 3–8.
3. Евсеев А. В. Особенности гормонально-рецепторного статуса и пролиферативной активности эндометриальных полипов / А. В. Евсеев, М. М. Баударбекова, И. А. Кузьо // Патология. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 114–117.
4. Ильясова Н. А. Гиперплазия эндометрия: индекс пролиферативной активности и экспрессия рецепторов и их субтипов к эстрогенам и прогестерону / Н. А. Ильясова, В. А. Бурлеев, С. Э. Саркисов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2009. – Т. 8, № 5. – С. 15–22.
5. Чернуха Г. Е. Гиперплазия эндометрия: перспективы развития проблемы / Г. Е. Чернуха // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 4. – С. 11–15.
6. Expression of estrogen receptors b end в protein in endometrial carcinoma / Cai Hong-bing, Zhou Yun-feng, Wang Bi-cheng [et al.] // Cancer Therapy. – 2008. – Vol. 6. – P. 907–912.
7. Immunohistochemical analysis of steroid receptors, proliferation markers, apoptosis related molecules, and gelatinases in non-neoplastic and neoplastic endometrium / C. Amalinei, C. Cianga, R. Balan [et al.] // Ann. Anat. – 2011. – Vol. 193 (1). – P. 43–45.
8. Obeidat B. The diagnosis of endometrial hyperplasia in curettage: how reliable is it? / B. Obeidat, A. Mohtaseb, I. Mataka // Arch. Gynecol. Obstet. – 2009. – Vol. 279, N 4. – P. 489–492.
9. PCNA and Ki67 in endometrial hyperplasia's and evaluation of the potential of malignancy / F. Abike, O. L. Tapisiz, S. Zergeroglu [et al.] // Eur. J. Gynaecol. Oncol. – 2011. – Vol. 32 (1). – P. 77–80.
10. Endometrial carcinomas: correlation between ER, PR, Ki67 status and histopathological prognostic parameters / S. C. Stoian, C. Siminescu, C. Mărgăritescu [et al.] // Rom. J. Morphol. Embriol. – 2011. – Vol. 52 (2). – P. 631–636.



REFERENCES

1. Zahartseva L.M., Vorobeva L.I., Manzhuva E.P. Morphological and immunohistochemical criteria of prognosis at the endometrial cancer. *Onkologiya* 2001; 3 (4): 252-256.
2. Kleshchyov M.A., Smirnova M.Yu. Age features of endometrial hyperplasia. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta* 2010; 22 (93): 3-8.
3. Yevseev A.V., Baudarbekova M.M., Cuzyo I.A. Feature of hormonal-receptor status and proliferativd activity of endometrial polyps. *Patologiya* 2011; 8 (2): 114-117.
4. Ilyasova N.A., Burleev V.A., Sarkisov S.E. Endometrial hyperplasia: index of proliferative activity and expression of receptor and their subtypes to estrogens and progesterone. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii* 2009; 8 (5): 15-22.
5. Chernukha G.Ye. Endometrial hyperplasia: problem development prospects. *Akusherstvo i ginekologia* 2009; 4: 11-15.
6. Hong-bing Cai, Yun-feng Zhou, Bi-cheng Wang et al. Expression of estrogen receptors β and γ protein in endometrial carcinoma. *Cancer Therapy* 2008; 6: 907-912.
7. Amalinei C., Cianga C., Balan R. et al. Immunohistochemical analysis of steroid receptors, proliferation markers, apoptoses related molecules, and gelatinases in non-neoplastic and neoplastic endometrium. *Ann. Anat.* 2011; 193 (1): 43-45.
8. Obeidat B., Mohtaseb A., Mataka I. The diagnosis of endometrial hyperplasia in curettage: how reliable is it? *Arch. Gynecol. Obstet.* 2009; 279, 4: 489-492.
9. Abike F., Tapisiz O.L., Zergerglu S. et al. PCNA and Ki67 in endometrial hyperplasia's and evaluation of the potential of malignancy. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 2011; 32 (1): 77-80.
10. Stoian S.C., Siminescu C., Mărgăritescu C. et al. Endometrial carcinomas: correlation between ER, PR, Ki67 status and histopathological prognostic parameters. *Rom. J. Morphol. Embriol* 2011; 52 (2): 631-636.

Поступила 21.02.2014

УДК 616.711.6-073.756.8-08-035

В. И. Марамуха

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ДИНАМИКА РАЗЛИЧИЙ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ПАРАМЕТРОВ ЭЛЕКТРОМИОГРАФИИ И РЕОВАЗОГРАФИИ ПРИ РЕФЛЕКТОРНЫХ И КОМПРЕССИОННО-КОРЕШКОВЫХ СИНДРОМАХ У БОЛЬНЫХ ОСТЕОХОНДРОЗОМ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА

ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины», Запорожье, Украина

УДК 616.711.6-073.756.8-08-035

В. И. Марамуха

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ДИНАМИКА РАЗЛИЧИЙ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ПАРАМЕТРОВ ЭЛЕКТРОМИОГРАФИИ И РЕОВАЗОГРАФИИ ПРИ РЕФЛЕКТОРНЫХ И КОМПРЕССИОННО-КОРЕШКОВЫХ СИНДРОМАХ У БОЛЬНЫХ ОСТЕОХОНДРОЗОМ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА

ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины», Запорожье, Украина

Проведено комплексное обследование 120 пациентов с остеохондрозом поясничного отдела позвоночника. Выявлены достоверные разнонаправленные различия по параметрам электромиографии и реовазографии у больных с компрессионными корешковыми синдромами (наибольшее ухудшение) в сравнении с пациентами с рефлекторными синдромами. Получены достоверные различия после курса лечения, особенно в группе применения мягких методик мануальной терапии (в 98 % случаев — положительные результаты), что подтверждалось не только субъективным улучшением, но и данными положительной клинической картины (динамики данных электромиографии, реовазографии). Оценка результатов лечения указывает на необходимость применения разработанного лечебного алгоритма для лечения больных с выраженным болевым вертеброгенным синдромом в условиях стационара, что указывает на статистически обоснованную целесообразность безмедикаментозного ведения больных с рефлекторными и корешковыми синдромами поясничного остеохондроза при проведении предложенного комплекса восстановительного лечения.

Ключевые слова: остеохондроз позвоночника, мануальная терапия, электромиография, реовазография.

