



УДК 616-007.61:618.14:615.357:577.171.6:612.63.03

**DETERMINATION OF THE MOST INFORMATIVE
IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF ENDOMETRIAL
HYPERPLASIA FOR THE CHOICE OF TREATMENT STRATEGY IN
WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE**

**ВИЗНАЧЕННЯ НАЙБІЛЬШ ІНФОРМАТИВНИХ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ
МАРКЕРІВ ГІПЕРПЛАЗІЇ ЕНДОМЕТРІЯ ДЛЯ ВИБОРУ ЛІКУВАЛЬНОЇ СТРАТЕГІЇ
У ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ**

Khaskhachykh D.A./ Хасхачих Д.А.

s.med.s., as.prof. / к.мед.н., доц.

ORCID: 0000-0001-5097-6667

Potarov V.O. / Потапов В. О.

d.med.s., prof. / д.мед.н., проф.

ORCID: 0000-0001-7498-7416

Kukina G.A./ Кукіна Г.А.

PhD Applicant / Здобувач ступеня доктор філософії

ORCID: 0000-0002-0745-0632

Garonova E.V./ Гапонова О.В.

PhD Applicant / Здобувач ступеня доктор філософії

ORCID: 0000-0002-6644-7628

Dnipro State Medical University,

9 Volodimira Vernadskoho str., Dnipro, Ukraine, 49044

Дніпровський державний медичний університет,

вул. Володимира Вернадського, буд. 9, м. Дніпро, Україна, 49044

Анотація. В статі розглянуті найбільш інформативні імуногістохімічні маркери гіперплазії ендометрію (ГЕ) без атипії, які мають удосконалити методи діагностики, для призначення терапії. До таких маркерів за даними багатьох досліджень може стати збільшення індексу Ki-67, експресії GLUT1 і FASN при переході від гіперплазії ендометрію до карциноми. Втрата В-клітинної лімфоми-2 (Bcl-2) є маркером передракового стану ендометрію з високою специфічністю і високою діагностичною точністю. Експресія Nip88 може бути пов'язана з виникненням раку ендометрію і передракових уражень та може бути корисним біомаркером для предзлоякісних уражень і раку ендометрію на ранніх стадіях. Молекулярні мутації KRAS та PTEN, нестабільність мікросателітів MSI та метилування відбуваються на ранніх стадіях пухлинного процесу. Зниження експресії 15-LOX-1 та Hand2 в ендометрії свідчить про розвиток онкогенезу в ендометрії. Зміни в експресії HE4 можуть передбачити відповідь на терапію або вказати резистентність до прогестину при гіперплазії ендометрію. Рівні експресії коактиваторів стероїдних рецепторів SRC-1, p300 та CBP відмічалися при карциномі ендометрію в порівнянні з нормальним і гіперпластичним ендометрієм. При визначенні прогнозу ефективності патогенетично обумовленої терапії за застосуванням прогестинів може стати визначення експресії рецепторів до прогестерону в клітинах ендометрія та їх співвідношення з експресією естрогенових рецепторів в залозах та стромі. Проте, необхідні більш ретельні дослідження для підтвердження корисності цих та додаткових маркерів в діагностичній панелі.

Ключові слова: гіперплазія ендометрія без атипії та з атипією, карцинома ендометрія, імуногістохімія, маркери, рецептори, діагностика.

Вступ.

Гіперплазія ендометрія займає значне місце серед гінекологічних



захворювань жінок репродуктивного віку і є однією із частих причин госпіталізації у гінекологічний стаціонар. Своєчасна діагностика й лікування даної патології є однією з актуальних проблем сучасної гінекології й має важливе значення в онкопрофілактиці ендометрія [1,2,3]. саме гіперпластичні процеси ендометрія у 50,0% випадків стають причиною розвитку раку ендометрія у жінок. При цьому, слід відмітити, що частота аденокарциноми ендометрія, що займає перше місце серед злоякісних новоутворень геніталій, не тільки залишається високою, але і останнім часом має тенденцію до істотного зростання в багатьох країнах світу, у тому числі і в Україні, і згідно довгостроковому прогнозу, не буде зменшуватись найближчим часом. Висока частота рецидивів та можливість їх злоякісної трансформації вимагають удосконалювання методів діагностики даної патології [4].

Мета дослідження.

Визначення найбільш інформативних імуногістохімічних маркерів гіперплазії ендометрію (ГЕ) без атипії, що до прогнозування реакції на терапію з застосуванням прогестинів та ризику прогресування інвазивного захворювання.

Дизайн дослідження.

Було оцінено імуногістохімічну експресію рецептора естрогену (ER) і рецептора прогестерону (PR), Hand2, PTEN, мутації KRAS, нестабільність мікросателітів (MSI), метилування генів з розбіжністю репарацій, Ki67, NLR, GLUT1 і FASN, Bcl-2, Nup88, 15-LOX-1, у пацієнтів з гіперплазією ендометрію (ЕН) з/ без атипії в порівнянні з ендометріюїдною карциномою ендометрію типу 1.

Результати дослідження.

Одним з найбільш інформативних біохімічних маркерів проліферації ендометрія при гіперпластичних процесах є поступове збільшення індексу Ki-67 з 2,6% при, при гіперплазії без атипії відбувалося збільшення цього індексу до 17%, при атипової гіперплазії 36% і 60% при раку ендометрію. Таким чином, індекс мічення Ki-67 є корисним методом, що дозволяє відрізнити секреторну фазу не зміненого ендометрія та гіперплазію без атипії від попередників раку ендометрія [5].

Співвідношення нейтрофільних лімфоцитів $NLR \geq 4$ має прогностичне значення і може бути використаний в якості потенційного гематологічного маркера злоякісної пухлини ендометрію [6].

Втрата В-клітинної лімфоми - 2 (Bcl-2) була вивчена, як імуногістохімічний маркер з ціллю покращення диференційної діагностики між доброякісною та предраковою злоякісною гіперплазією. Дійшли висновку, що втрата В-клітинної лімфоми-2 є маркером передракового стану ендометрію з високою специфічністю і високою діагностичною точністю [7].

При вивченні GLUT1 і FASN виявили, що ти їх експресія демонструє поступове збільшення при переході від гіперплазії ендометрію до карциноми. Ці дані свідчать про те, що імуногістохімія, як GLUT1, так і FASN може використовуватися в якості доповнення при диференціації між атиповою гіперплазією ендометрія і карциномою ендометрію в складних випадках [8].



Експресія Nip88 може бути пов'язана з виникненням раку ендометрію і передракових уражень та може бути корисним біомаркером для предзлоякісних ураженнях і раку ендометрію на ранніх стадіях [9].

Вивчаючи наявність експресії 15-ліпоксигенази-1 (15-LOX-1) дійшли висновку, що тригером може бути зниження експресії 15-LOX-1 в процесі онкогенезу ендометрію, починаючи з нормального ендометрія до гіперплазії і раку ендометрію, але необхідні подальші дослідження [10].

Оцінюючи гіперпластичну тканину і тканину ЕК, одних і тих же хірургічних зразків, на предмет мутацій KRAS, нестабільність мікросателітів (MSI), метилування генів з розбіжністю репарацій і результатів. Визначили, що молекулярні зміни мутації KRAS, MSI та метилування відбуваються на ранніх стадіях пухлинного процесу [11].

Порівнюючи імуногістохімічну експресію, PTEN, PE- α і PP, то PE- α та PP можуть бути корисними маркерами, прогножуючи терапевтичну відповідь при GE, а PTEN представляє собою сильний прогностичний фактор, який може допомогти визначити ризик прогресування на пізніх стадіях EG, особливо з атипічними цитологічними ознаками [12].

Виявили, що Hand2 експресується в стромі доброякісного ендометрію, таким чином, відсутність експресії Hand2 може бути корисним біомаркером для атипової гіперплазії і ендометріюїдної карциноми [13].

Спостерігається більш висока експресія стероїдних рецепторів при гіперплазії і раку, ніж при непухлинному ендометрії, і дисбаланс ER / PR при раку. За результатами дослідження жінок з відсутністю ефекту від проведеної терапії, на відміну від жінок з ефективною проведеною терапією, спостерігалось зниження експресії рецепторів до PP на 45%. У незміненому ендометрії відбувається переважання ER над PP як в залозах, так і в стромі [14].

Vcl-2 мав сильну експресією при гіперплазії і раку в порівнянні з непухлинним ендометрієм і стромальною тканиною [15].

Вивчено експресію галектина-1 і -9 і клініко-патологічні особливості при карциномі ендометрію (KE). Дійшли висновку, що галектин-1 і -9 можуть надавати посилення для раннього скринінгу і вказувати на прогноз ураження ендометрію, який має велике значення для якості життя пацієнтів [16].

Здатність відрізнити типову від атипової гіперплазії ендометрія можна за допомогою експресії Маспіна. Позитивність по Маспіна може розглядатися, як потенційно корисний прогностичний параметр в тих випадках, коли аденокарциноми добре диференційовані [17].

Зміни в тканинній експресії специфічного для епідідіміса білка 4 (HE4) людини прогноз резистентності до терапії і рецидиву після гормональної терапії прогестином для гіперплазії ендометрію. Зміни в експресії HE4 під час схем прогестинової терапії можуть передбачити відповідь на терапію або вказати на резистентність до прогестину при гіперплазії ендометрію із середнім і низьким ризиком [18].

Рівні експресії кофакторів стероїдних рецепторів, таких як коактиватори (коактиватор стероїдних рецепторів 1 [SRC-1] і p300 / білок, що зв'язує циклічний АМР-відповідний елемент (p300 / CBP)) і корепресора (ядерний



рецептор корепресора [NCoR] і медіатор мовчання для рецепторів ретиноїдних і тиреоїдних гормонів [SMRT]). Поточне дослідження показало, що рівні експресії коактиваторів стероїдних рецепторів SRC-1 і p300 / CBP були нижче при карциномі ендометрію в порівнянні з нормальним і гіперпластичним ендометрієм. Відповідно, обмежена реакція на статеві стероїди у пацієнтів з карциномою ендометрію може бути приписана дисоціації кофакторів і ER / PR [18,20].

Імуногістохімічна експресія MIG6 була підвищена в ранніх і середніх секреторних фазах нормального ендометрія, а також при гіперплазії ендометрію після терапії медроксипрогестерону ацетату (МРА). Виявили, що MIG6 з використанням siRNA усуває опосередковане P4 зниження життєздатності клітин KE, що вказує на те, що MIG6 є важливим компонентом пригнічення росту, опосередкованого РР [21].

Висновок.

Терапія гіперплазії ендометрія без атипії препаратами прогестерону неефективна при низькій експресії рецепторів до прогестерону в клітинах ендометрія та співвідношенням PR-A:PR-B \leq 1 в залозах і стромі ендометрія. Тому при вирішенні питання про призначення препаратів для лікування неатипової гіперплазії ендометрія рекомендовано дослідження експресії рецепторів в клітинах ендометрія. Визначення PTEN має найбільший потенціал для діагностичної корисності при визначенні проліферативного потенціалу та прогнозуванні розвитку атипії. Втрата Bcl-2 при гіперплазії ендометрію та може бути новим показанням до лікування, коли передракові ознаки неоднозначні під час гістологічного дослідження. Проте, необхідні більш однакові і ретельні дослідження для підтвердження корисності цих та додаткових маркерів в діагностичній панелі.

Література

1. Хасхачих Д.А. Диференційований підхід до лікування гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку // Д.А. Хасхачих, В.О. Потапов, Г.О.Кукіна // «Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології».- 2019.- 2(24).- С. 149-154. DOI: 10.11603/24116-4944.2019.2.10935
2. Хасхачих Д.А. Значення експресії рецепторів прогестерона (PR-A і PR-B) як предикторів рецидиву гіперплазії ендометрія після терапії з використанням прогестинів // Д.А. Хасхачих, В.О. Потапов, Г.О.Кукіна, О.В. Гапонова // «Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології».- 2020.- 2(46).- С. 71 DOI: [https://doi.org/10.35278/2664-0767.2\(46\).2020.219475](https://doi.org/10.35278/2664-0767.2(46).2020.219475)
3. В. О. Бенюк, Я. М. (2012). Сучасні аспекти діагностики гіперпластичних. // Таврический медико-биологический вестник .-2012.- 1 (56). - С.20-25.
4. Zauber P, D. T.-S. (2015, Jun). Strong correlation between molecular changes in endometrial carcinomas and concomitant hyperplasia. Retrieved from pabmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25768080>
5. Хасхачих Д.А. Таргетний підхід в терапії гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку//Д.А. Хасхачих, Г.О.Кукіна, О.В. Гапонова, Е.В. Пеннер, І.С. Гарагуля / Научный взгляд в будущее.- Вып. 19.



T.1.- Одесса: Куприенко СВ, 2020- С.114-120. DOI:10/30888/2415-7538/2020-19-01-048

6. Uchikawa J, S. T. (2003, Nov 15). Expression of steroid receptor coactivators and corepressors in human endometrial hyperplasia and carcinoma with relevance to steroid receptors and Ki-67 expression. Retrieved from pabmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14601091>

7. Travaglino A, R. A. (2018, Dec). Loss of B-cell lymphoma 2 immunohistochemical expression in endometrial hyperplasia: A specific marker of precancer and novel indication for treatment: A systematic review and meta-analysis. Retrieved from pubmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30168854>

8. Sun XF, D. S. (2019, Sep). The Significance of Galectin-1 and Galectin-9 Expression in Endometrial Carcinoma. Retrieved from pabmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31487707>

9. Sak ME, A. I. (2016). The role of 15-lipoxygenase-1 expression and its potential role in the pathogenesis of endometrial hyperplasia and endometrial adenocarcinomas. Retrieved from pabmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27048107>

10. Pieczyńska B, W. S. (2011, Sep). Analysis of PTEN, estrogen receptor α and progesterone receptor expression in endometrial hyperplasia using tissue microarray. Retrieved from pubmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22102068>

11. Mylonas I1, M. J. (2004, Apr). Expression of the inhibin-alpha subunit in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue: an immunohistochemical analysis. Retrieved from pubmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15047219>

12. Li Y, Z. X. (2016, Apr). Can Nup88 expression be associated with atypical endometrial hyperplasia and endometrial cancer? A preliminary study. Retrieved from pubmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26839161>

13. E Anagnostou, D. M. (2017, Oct-Dec). Immunohistochemical investigation of metabolic markers fatty acid synthase (FASN) and glucose transporter 1 (GLUT1) in normal endometrium, endometrial hyperplasia, and endometrial malignancy. Hippokratia, 169–174. Retrieved from pubmed: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Immunohistochemical+investigation+of+metabolic+markers+fatty+acid+synthase+\(FASN\)+and+glucose+transporter+1+\(GLUT1\)+in+normal+endometrium%2C+endometrial+hyperplasia%2C+and+endometrial+malignancy](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Immunohistochemical+investigation+of+metabolic+markers+fatty+acid+synthase+(FASN)+and+glucose+transporter+1+(GLUT1)+in+normal+endometrium%2C+endometrial+hyperplasia%2C+and+endometrial+malignancy)

14. Диференціальний спосіб терапії гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку. Патент на корисну модель МПК А61N 7/00, А61В 18/00 [Текст] /Хасхачих Д.А., Потапов В.О., Кукіна Г.О, Гапонова В.О., Пеннер К.В., Громова О.Л.- №144480; заявл. 28.01.2020; опубл. 12.10.2020, Бюл. №19

15. Buell-Gutbrod R, C. A. (2015, Jan). Heart and Neural Crest Derivatives Expressed Transcript 2 (HAND2): a novel biomarker for the identification of atypical hyperplasia and Type I endometrial carcinoma. Retrieved from pabmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25473755>

16. Blandamura S, A. L. (2014, Jun). Maspin expression, subcellular localization and clinicopathological correlation in endometrial hyperplasia and endometrial adenocarcinoma. Retrieved from pabmed:



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24346847>

17. Bacanakgil BH1, K. I. (2018, Jun 25). Predictive Value of Hematological Inflammatory Markers in Endometrial Neoplasia. Retrieved from pubmed:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29936727>

18. Arnes M, L. L. (2016, Sep 6). HE4 is a novel tissue marker for therapy response and progesterin resistance in medium- and low-risk endometrial hyperplasia.

Retrieved from pabmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27537387>

19. Ando H, M. T. (2017, Aug). Carcinoma by Increasing Progesterone Receptor and Mitogen-Inducible Gene-6. Retrieved from pubmed:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28516379>

20. Amalinei C, C. C. (2011, Feb 20). Immunohistochemical analysis of steroid receptors, proliferation markers, apoptosis related molecules, and gelatinases in non-neoplastic and neoplastic endometrium. Retrieved from pabmed:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21145716>

21. Allison KH, T. E. (2008, Jul). Immunohistochemical markers in endometrial hyperplasia: is there a panel with promise? A review. Retrieved from

pubmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18528284>

Abstract. *The article considers the most informative immunohistochemical markers of endometrial hyperplasia (GE) without atypia, which should improve diagnostic methods for prescribing therapy. Such markers, according to many studies, may include an increase in the Ki-67 index, GLUT1 expression and FASN in the transition from endometrial hyperplasia to carcinoma. Loss of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) is a marker of precancerous condition of the endometrium with high specificity and high diagnostic accuracy. Nup88 expression may be associated with endometrial cancer and precancerous lesions and may be a useful biomarker for precancerous lesions and endometrial cancer in the early stages. Molecular mutations of KRAS and PTEN, instability of MSI microsatellites and methylation occur in the early stages of the tumor process. Decreased expression of 15-LOX-1 and Hand2 in the endometrium indicates the development of oncogenesis in the endometrium. Changes in HE4 expression may suggest a response to therapy or indicate progesterin resistance in endometrial hyperplasia. Expression levels of steroid receptor coactivators SRC-1, p300 and CBP were observed in endometrial carcinoma compared with normal and hyperplastic endometrium. In determining the prognosis of the effectiveness of pathogenetically induced progesterin therapy, progesterone receptor expression in endometrial cells and their relationship to estrogen receptor expression in the glands and stroma may be determined. However, more careful research is needed to confirm the usefulness of these and additional markers in the diagnostic panel.*

Key words: *endometrial hyperplasia without atypia and with atypia, endometrial carcinoma, immunohistochemistry, markers, receptors, diagnosis.*

Науковий керівник: д.мед.н., проф. Потапов В.О.