

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

ХАСХАЧИХ Д.А., ПОТАПОВ В.О.

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,
кафедра акушерства та гінекології, м. Дніпро

ВПЛИВ РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ РЕЦЕПТОРІВ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ГОРМОНАЛЬНОГО ЛІКУВАННЯ ГІПЕРПЛАЗІЇ ЕНДОМЕТРІЯ БЕЗ АТИПІЇ

В даний час вважається, що провідна роль у розвитку ГЕ належить надлишковій естрогенній стимуляції в поєднанні з недостатністю прогестеронового впливу. Однак, не тільки концентрація гормонів в крові і тканинах визначає ступінь їх впливу на клітини, а в першу чергу, реакція клітин залежить від експресії рецепторів до них.

Матеріали та методи. Проведено проспективне імуногістохімічне дослідження експресії рецепторів естрогенів і прогестерону у 45 жінок репродуктивного віку з гістологічно підтвердженою гіперплазією ендометрія без атипії в зразках зішкрібів з порожнини матки. Всі жінки отримували терапію мікронізованим прогестероном в безперервному режимі на протязі 6 місяців з подальшим морфогістологічним дослідженням зішкрібів ендометрія. За рівнем експресії рецепторів прогестерону всі жінки були розподілені на дві групи: з низькою і високою експресією рецепторів.

Результати дослідження та їх обговорення. Отримані дані показали, що у всіх групах жінок з гіперплазією спостерігалася висока експресія рецепторів естрогенів. В групі жінок з високою експресією рецепторів прогестерона, після проведеної терапії, во всіх випадках спостерігалася нормалізація трофіки ендометрія, яка характерна фазі менструального циклу. В групі жінок з низькою експресією рецепторів прогестерону спостерігалася в 13,2% прогресія, в 57,8% повторно діагностована гіперплазія без атипії, в 29% нормалізація гістологічної картини.

Висновки. Рівень експресії рецепторів прогестерону потрібно враховувати при призначенні гормональної терапії та виборі лікувальної тактики у хворих з ГЕ без атипії. Низька експресія рецепторів прогестерону в ендометрії призводить до зниження ефекту проведення терапії з застосуванням прогестинів та потребує вибору іншої тактики лікування.

Ключові слова: гіперплазія ендометрія без атипії, рецептори естрогенів, рецептори прогестерону, гормональна терапія.

Гіперпластичні процеси ендометрія являють собою достатньо поширену патологію жіночої репродуктивної системи і в структурі гінекологічної патології їх питома вага складає 8,7 – 30,6% [1,2,3].

Не зважаючи на впровадження розроблених діагностично-лікувальних методів відзначається зростання захворюваності у жінок репродуктивного віку. Спостерігається великий відсоток рецидивів 2,5–64,7%, навіть на фоні проведення патогенетично зумовленої гормональної терапії гіперплазії ендометрія [1,3,4].

Відомо, що більшість хворих з гіперпластичними процесами ендометрія зазнають гормонального лікування з застосуванням препаратів прогестерону, ефективність якого залежить на-

самперед від молекулярних характеристик ендометрія, які опосередковують його відповідь на супресивні агенти, але достатньо високий відсоток рецидивів свідчить про наявність гормонально резистентних форм гіперплазії ендометрія, що свідчить про наявність іншого патогенетичного механізму розвитку гіперплазії.

Найбільш поширена терапія з застосування препаратів прогестерону іноді видається не ефективною, що може бути пов'язано з наступними факторами: неправильне формування прогестеронових рецепторів, що розвивається в результаті нестачі або відсутності впливу естрогенів в першу і в другу фази МЦ, що призводить до дисфункції рецепторів плазматичних мембран і мітохондріального апарату клітин ендометрія, таким чином,

навіть при достатньої кількості прогестерону в крові спостерігається його недостатність. Зміни концентрації і чутливості естрогенових рецепторів (ЕР) та прогестеронових рецепторів (ПР) коливаються від наявності патологічного процесу в слизовій оболонці матки. Всі перераховані фактори можуть призводити до зниження експресії рецепторів статевих гормонів при ГЕ [5].

Перевірені роками методи діагностики, які починаються зі збору анамнезу, включають достатньо інформативне ультразвукове дослідження, гістоскопію та морфологічне дослідження, повинні бути доповнені сучасними молекулярними технологіями насамперед імуногістохімічним дослідженням. Воно дозволяє отримати цінну інформацію про так званий молекулярний профіль гіперплазованого епітелія, який є індивідуальним для кожної хворої [6,7].

На даний час не існує доступних критеріїв для прогнозування чутливості рецепторів до гормонів, так як дані літератури про зміст ЕР і ПР при ГЕ вкрай суперечливі [2].

Вище зазначене обумовлює необхідність розробки нових або вдосконалення існуючих підходів до діагностично-лікувальних критеріїв даного захворювання з урахуванням сучасних даних про етіопатогенетичні механізми його виникнення, новітніх технологій морфо і імуногістохімічних досліджень в тканині гіперплазованого епітелія.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Покращення якості лікування ГЕ без атипії у жінок репродуктивного віку на основі використання мікронізованого прогестерону з урахуванням клініко-морфологічних та імуногістохімічних даних. Дослідити вплив експресії рецепторів естрогенів та прогестерону в гіперплазованому ендометрії без атипії у жінок репродуктивного віку на ефективність проведеної терапії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведено проспективне дослідження у 60 пацієнток репродуктивного віку (35-46 років) з аномальними матковими кровотечами (АМК). За результатами гістологічного дослідження зішкрібів ендометрія у 45 пацієнток була діагностована гіперплазія ендометрія без атипії, які склали основну групу дослідження. Ця група була поділена на 2 підгрупи за рівнем експресії прогестеронових рецепторів: 1 група з низьким рівнем і 2 група з високим рівнем. Контрольну групу

склали 15 жінок репродуктивного віку, у яких за результатами дослідження була виявлена трансформація ендометрія відповідно фазі менструального циклу. Всі пацієнтки отримували лікування мікронізованим прогестероном в дозі 400 мг/добу в безперервному режимі протягом 6 місяців з подальшим гістологічним дослідженням ендометрія шляхом зішкрібання порожнини матки в пізню секреторну фазу та повторним імуногістохімічним дослідженням експресії ПР. Ефективність терапії оцінювали за морфологічним критерієм. Задовільним результатом лікування вважалося відновлення фізіологічної трофіки ендометрія.

Дослідження рецепторів прогестерону проводилось імуногістохімічним методом в лабораторії імуногістохімії ДДМА. Для цього біоматеріал зішкрібів порожнини матки фіксували в 10% розчині забуферованого формаліну протягом 12-24 годин, і після стандартної обробки заливали в парафін. Імуногістохімічне дослідження рецепторів прогестерону проводили стрептавидин-біотин-пероксидазним методом на серійних парафінових зрізах товщиною 5 мкм за допомогою моноклональних антитіл (фірма «ДАКО») з попереднім високотемпературним демаскуванням антигенів в тканинах шляхом кип'ятіння в 0,01 М цитратному буфері під тиском в скороварці. Далі зрізи інкубували з нормальною неімунною сироваткою, первинними (специфічними) антитілами, вторинними біотинілікованими антитілами і зі стрептавидин-біотин-пероксидазним комплексом. Виявлення пероксидази проводили за допомогою діаміно-бензидина (фірма «ДАКО»). Прояв реакції контролювали під мікроскопом протягом 3 хв. з наступним промиванням у дистильованій воді, дозабарвленням гематоксилином Майєра, дегідратацією зрізів і зануренням в канадський бальзам [8].

Позитивним результатом вважалося специфічне забарвлення ядер в коричневий колір. Кількісна оцінка ступеня експресії рецепторів прогестерону проводилася за системою Hystochemical score (H-score) [9].

Система підрахунку проводилася за інтенсивністю імуногістохімічної забарвлення, що оцінюється за 3-х бальною шкалою і відсотку забарвлених клітин. Підрахунок проводився в трьох когортах по 100 клітин в різних полях зору об'єктивом Ч 40. Інтенсивність забарвлення оцінювалася таким чином:

0 - немає фарбування, 1 - слабе фарбування, 2 - помірне і 3 - сильне фарбування.

Формула підрахунку:

$$H \text{ score} = \sum P_i \cdot C_i,$$

де:

P_i - відсоток клітин, забарвлених з різною інтенсивністю,

i - інтенсивність фарбування, виражена в балах від 0 до 3.

Про ступінь експресії рецепторів прогестерону судили по результату H-score: 0-100 - низька, 101 і більше - висока [8].

Значимість відмінностей оцінювали за критерієм Стюдента, вважаючи статистично достовірним значення $p < 0,05$. коефіцієнти кореляції розраховували за методом Пірсона, відмінності вважали достовірними при $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Експресія рецепторів статевих гормонів в основній групі залежала від морфологічних і функціональних властивостей залозистого епітелію. При наявності великої кількості кістозно-змінених залоз з сплосченим індіферентним епітелієм рівень рецепторів був нижче, ніж в ділянках ендометрія з морфологічно нормальною будовою залозистого компонента. Таким чином, звертала на себе увагу мозаїчність експресії рецепторів до стероїдних гормонів, як клітинами епітелію залоз, так і клітинами строми.

В табл.1 наведені дані дослідження експресії рецепторів за показником H-score у жінок з морфологічно підтвердженою ГЕ до, та після терапії мікронізованим прогестероном на протязі 6 місяців.

Таблиця 1

Експресія рецепторів естрогенів та прогестерону у жінок з ГЕ без атипії до та після лікування мікронізованим прогестероном, H-score, M±m

Показник	ЕР залози	ЕР строма	ПР залози	ПР строма
Контроль	54,36±0,13	91,4±8,6	174±10,1	240,5±13,6
ГЕ до лікування	203,7±14,44*	155±16,82*	145,1±6,22*	173,8±15,50*
ГЕ після Лікування	73,67±16,89*	113,83±20,48*	195,17±15,13	210,17±15,72*

*- показник статистично достовірний відрізняється від норми ($p < 0,05$)

Ступінь експресії статевих гормонів відповідала високим показникам H-score. Так, середнє значення ЕР склало $179,2 \pm 6,5$ ($p > 0,05$), та середнє значення ПР $159,45 \pm 4,9$ ($p > 0,05$). Звертає на себе увагу збільшення експресії ЕР в 1,7- 4 рази як залозах так і в стромі в порівнянні контрольною групою, що обумовлювало його проліферативну активність з формуванням ГЕ ($p < 0,001$). Кількість ПР була меншою в основній групі, в залозах на 17% та в стромі на 28% в порівнянні з контролем. Під впливом гормонального лікування через 6 міс. відбулося зменшення експресії ЕР в залозах

практично в 3 рази в залозах та на 28% в стромі. В той же час, на фоні гормонального лікування збільшилася експресія ПР як в залозах, так і в стромі в 1,3 рази ($p < 0,001$).

За результатами дослідження жінок з відсутністю ефекту від проведеної терапії, на відміну від жінок з ефективною проведеною терапією, спостерігалось зниження експресії рецепторів до ПР на 45% (рис.1). У незміненому ендометрії нами виявлено достовірне переважання ЕР над ПР як в залозах, так і в стромі ендометрія ($p < 0,001$).

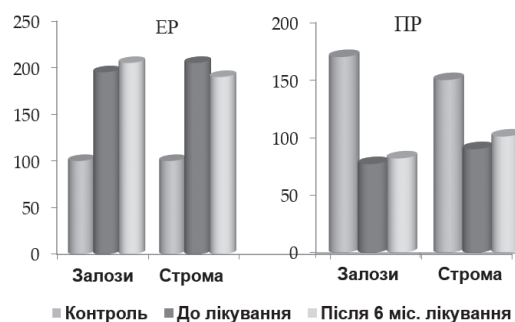


Рис. 1. Експресія рецепторів ЕР та ПР за показником H –score до та через 6 міс. лікування мікронізованим прогестероном в групі жінок з низькою експресією ПР.

При порівнянні показників експресії рецепторів статевих гормонів в гіперплазованому ендометрії з високою експресією ПР та їх рівнем в незміненому ендометрії в проліферативну фазу циклу, було встановлено наступне: концентрація ЕР в залозах в 1,8 рази ($p < 0,001$), а в стромі в

2,5 рази ($p < 0,001$) при гіперплазії нижче, ніж в ендометрії фази проліферації. При порівнянні експресії ПР не виявлено значущих відмінностей при гіперплазії ендометрія і ендометрієм фази проліферації пацієток в контрольній групі (рис.2).

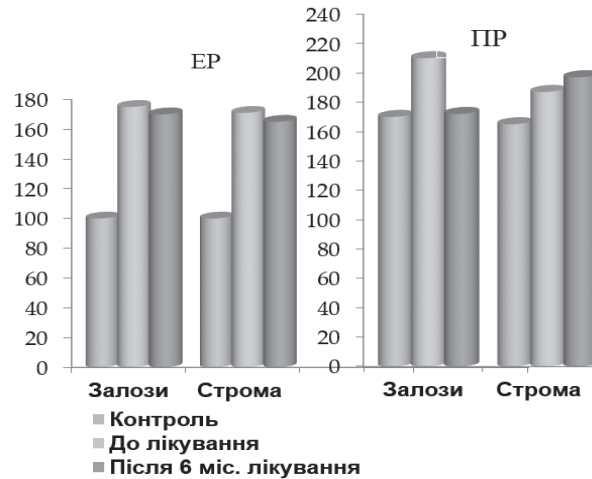


Рис. 2. Експресія рецепторів ЕР та ПР за показником H –score до та через 6 міс. лікування мікронізованим прогестероном в групі жінок з високою експресією ПР

ВИСНОВКИ

Проведені дослідження показали, що при вирішенні питання про призначення мікронізованого прогестерону для лікування гіперплазії ендометрія без атипії рекомендовано дослідження експресії рецепторів до прогестерона в тканині ендометрія для уточнення можливості фармакологічного ефекту. Терапія гіперплазії ендометрія без атипії препаратами прогестерона не ефективна при низькій експресії рецепторів прогестерона в тканині ендометрія. На основі цього, можна виділити групу жінок з прогестерон резистентною формою гіперплазії, які потребують застосування інших методів лікування.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Татарчук, Т.Ф. Медикаментозна терапія гіперпроліферативних процесів ендометрія / Т.Ф. Татарчук, О.В. Бурлака, К.О. Корінна // Ліки та життя. — 2015. — № 1. — С. 100–101.
2. Григоренко А.Н. Гиперплазия эндометрия: вопросов больше, чем ответов / А.Н. Григоренко, А. Б. Гордийчук // Репродуктивна гінекологія.- 2017.- №3(35).- С.31-43.
3. Clark TJ. The management of endometrial hyperplasia: An evaluation of current practice. / T.J. Clark, D. Neelakantan, J.K. Gupta // Eur J of Obstet Gynecol and Rep. Bio 2006;125:259-264 Endometrial intraepithelial neoplasia /ACOG Committee Opinion. №641 //Obstet Gynecol, 125(2015): 1272–1278.
4. Dolapcioglu K. The efficacy of intrauterine versus oral progestin for the treatment of endometrial hyperplasia.A prospective randomized comparative study / K. Dolapcioglu, A. Boz Baloglu, A. Clin // Exp Obstet Gynecol 2013;40(1):122-126.
5. Shao R. Progesterone receptor isoforms A and B: new insights into the mechanism of progesterone resistance for the treatment of endometrial carcinoma /Shao R. // Ecancermedicallscience. - 2013 Dec 18;7:381.
6. Veriede A.B. Effect of levonorgestrel IUD and oral medroxyprogesterone acetate on glandular and stromal progesterone receptors (PRA and PRB), and estrogen receptors (ER- alpha and ER-beta) in human endometrial hyperplasia /A.B. Veriede, T. Kaino, et al. // Gynecol Oncol.- 2006.- Vol.101.- №2.-P.214-223.
7. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. – Казань, 2004. – 456 с.
8. Хариет Э.Р. Иммуноцитохимия: электронная микроскопия / Э.Р. Хариет, К.С. Гаттер //Молекулярная клиническая диагностика. Методы: Пер. с англ. / Под ред. С. Херрингтон, Дж. Макги.– М.: Мир, 1999. – 558 с.
9. McClelland R.A. A multicentre the reliability of steroid receptor immunocytochemical assay quantification /R.A. McClelland, D. Willson, R. Leake et al. // Europ.J. Cancer. – 1991. – Vol. 27. – P. 711–715.

РЕЗЮМЕ

ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГОРМОНАЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ БЕЗ АТИПИИ

ХАСХАЧИХ Д.А., ПОТАПОВ В.А.

В настоящее время считается, что ведущая роль в развитии ГЭ принадлежит избыточной эстрогенной стимуляции в сочетании с недостаточностью прогестеронового воздействия. Однако, не только концентрация гормонов в крови и тканях определяет степень их влияния на клетки, а в первую очередь реакция клеток зависит от экспрессии рецепторов к ним.

Материалы и методы. Проведено проспективное иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона в 45 женщин репродуктивного возраста с гистологически подтвержденной гиперплазией эндометрия без атипии в образцах соскобов из полости матки. Все женщины получали терапию микронизированным прогестероном в непрерывном режиме в течение 6 месяцев с последующим морфогистологическим исследованием выскаб эндометрия. По уровню экспрессии рецепторов прогестерона все женщины были разделены на две группы: с низкой и высокой экспрессией рецепторов.

Результаты исследования и их обсуждение. Полученные данные показали, что во всех группах женщин с гиперплазией наблюдалась высокая экспрессия рецепторов эстрогенов. В группе женщин с высокой экспрессией рецепторов прогестерона, после проведенной терапии, во всех случаях наблюдалась нормализация трофики эндометрия, которая характерна фазе менструального цикла. В группе женщин с низкой экспрессией рецепторов прогестерона наблюдалась в 13,2% прогрессия, в 57,8% повторно диагностирована гиперплазия без атипии, в 29% нормализация гистологической картины.

Выводы. Уровень экспрессии рецепторов прогестерона нужно учитывать при назначении гормональной терапии и выборе лечебной тактики у больных с ГЭ без атипии. Низкая экспрессия рецепторов прогестерона в эндометрии приводит к снижению эффекта проведения терапии с применением прогестинов и требует выбора другой тактики лечения.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия без атипии, рецепторы эстрогенов, рецепторы прогестерона, гормональная терапия.

SUMMARY

INFLUENCE LEVEL OF EXPRESSION OF SEX HORMONES RECEPTORS ON THE EFFECTIVENESS OF HORMONAL TREATMENT OF ENDOMETRIAL HYPERPLASIA WITHOUT ATYPIA

KHASKHACHIKH D., POTAPOV V.

It is now believed that the leading role in the development of EH belongs to excessive estrogen stimulation, combined with a lack of progesterone effects. However, not only the concentration of hormones in the blood and tissues determines the degree of their effect on cells, but in the first place the cell's response depends on the expression of the receptors to them.

Materials and methods. A prospective immunohistochemical study of expression of estrogen receptors and progesterone in 45 women of reproductive age with histologically confirmed endometrial hyperplasia without atypia in specimens of uterine cavity scars was performed. All women received micronized progesterone therapy in continuous mode for 6 months, followed by morphohistological examination of endometrial scabies. By the level of expression of progesterone receptors, all women were divided into two groups: low and high expression of receptors.

Results of the research and their discussion. The obtained data showed that in all groups of women with hyperplasia, high expression of estrogen receptors was observed. In the group of women with high expression of progesterone receptors, after treatment, in all cases normalization of the trophic endometrium, which is characteristic of the phase of the menstrual cycle, was observed in all cases. In the group of women with low expression of progesterone receptors, a 13.2% progression was observed, 57.8% had re-diagnosed hyperplasia without atypia, and 29% normalized the histological picture.

Conclusions. The level of expression of progesterone receptors should be taken into account in the appointment of hormonal therapy and the choice of therapeutic tactics in patients with EH without atypia. Low expression of progesterone receptors in the endometrium leads to a reduction in the effect of treatment with progestogens and requires the choice of another treatment tactic.

Key words: endometrial hyperplasia without atypia, estrogen receptors, progesterone receptors, hormonal therapy.