

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОНСЕРВАТИВНОГО КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ АТИПИЧЕСКОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ И ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

А.И. Пашов^{1,3}, Е.Н. Сивова^{2,4}, А.В. Букреев^{2,3}, А.П. Фокина⁴

¹ ФГАОУ ВПО Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта
Министерства образования и науки РФ

² ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения РФ

³ ФГБУ Калининградский многопрофильный центр Министерства здравоохранения РФ

⁴ КГБУЗ Красноярская межрайонная клиническая больница № 4 Министерства здравоохранения РФ

Цель исследования. Разработка научно обоснованного алгоритма самостоятельной гормонотерапии у пациенток с атипической гиперплазией эндометрия (АГЭ) и высокодифференцированной аденокарциномой эндометрия (ВДА) до 40 лет с нереализованной репродуктивной функцией.

Материалы и методы. Исследование включало 50 жительниц г. Красноярска и Красноярского края в возрасте от 18 до 40 лет с морфологически подтвержденным диагнозом АГЭ или ВДА и с нереализованной репродуктивной функцией, которым применялись аналоги гонадотропного рилизинг-гормона (ГнРГ) и внутриматочная левоноргестрел рилизинг система. Перед началом лечения проводили ультразвуковое исследование с цветовым доплеровским картированием (УЗИ с ЦДК), магнитно-резонансную томографию, гистероскопию с фракционным раздельным диагностическим выскабливанием полости матки, морфологическое исследование соскобов и аспиратов эндометрия, а также их иммуногистохимическое исследование с использованием следующей панели антител: ER, PR, Ki 67, Vcl — 2, p 53, E — cadherin.

Результаты. Полный ответ на лечение был достигнут в 100% случаев. С 2008 года по настоящее время у пролеченных пациенток рецидива заболевания не возникало, пятилетняя выживаемость составила 100%. У 12/50 (24,0 ± 4,9%) пациенток наступила спонтанная беременность с последующими родами.

Выводы. Результаты комбинированного лечения показали высокую эффективность данного способа, применяемого у пациенток с атипической гиперплазией и высокодифференцированной аденокарциномой эндометрия.

Ключевые слова: атипическая гиперплазия эндометрия, высокодифференцированная аденокарцинома эндометрия, аналоги ГнРГ, внутриматочная левоноргестрел рилизинг система, иммуногистохимические маркеры.

IMMUNOHISTOCHEMICAL ASPECTS OF CONSERVATIVE COMBINATON TREATMENT OF ATYPICAL ENDOMETRIAL HYPERPLASIA AND WELL-DIFFERENTIATED ADENOCARCINOMA OF THE ENDOMETRIUM IN WOMEN OF YOUNG AGE

A.I. Pashov^{1,3}, E.N.Sivova^{2,4}, A.V. Bukreev^{2,3}, A.P. Fokina⁴

¹ Federal State Autonomous Educational Institution of the Higher Professional Education «Immanuel Kant Baltic Federal University» of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation

² State Budgetary Educational Institution of the Higher Professional Education Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voyno-Yasenetskiy of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

³ Federal State Budgetary Institution «Kaliningrad Multi-profile Center» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

⁴ Regional State Budgetary Healthcare Institution «Krasnoyarsk inter-regional clinical hospital № 4» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Objective of the study. *The development of an evidence-based algorithm of carrying out hormonal therapy only in patients with atypical endometrial hyperplasia and well-differentiated adenocarcinoma of the endometrium who are under 40 years of age whose reproductive function remains unrealized.*

Materials and Methods. *The present study included 50 residents of the city of Krasnoyarsk and Krasnoyarsk region at the age from 18 to 40 years with morphologically verified diagnosis of atypical endometrial hyperplasia and well-differentiated adenocarcinoma of the endometrium who hadn't fulfilled their reproductive function. They received the gonadotropine-releasing hormone analogue (GnRH) and levonorgestrel-releasing intrauterine system. Ultrasound scan with colour Doppler imaging, magnetic resonance tomography (MRT), hysteroscopy with fractional separate diagnostic curettage of uterine cavity, morphological assessment of endometrial scraping cytology and endometrial aspirates as well as their immunohistochemical evaluation using the following antibody panel: ER, PR, Ki 67, Bcl — 2, p53, E-cadherin had been performed before the treatment.*

Results. *Complete response to the treatment was achieved in 100% of cases. From 2008 to the present no recurrence has occurred in patients who had undergone the treatment, the 5-year survival was 100%. Spontaneous pregnancy with subsequent delivery occurred in 12 patients of 50 ($24 \pm 4,9\%$).*

Conclusions. *Results of the combination treatment demonstrated the high effectiveness of this type of treatment used for the patients with atypical endometrial hyperplasia and well-differentiated adenocarcinoma of the endometrium.*

Key words: *atypical endometrial hyperplasia, well-differentiated adenocarcinoma of the endometrium, gonadotropine-releasing hormone analogue (GnRH), levonorgestrel-releasing intrauterine system, immunohistochemical markers.*

Гиперплазия эндометрия (ГЭ) как возможная основа для формирования рака эндометрия (РЭ) представляет собой важнейшую медико-социальную проблему и является одной из самых актуальных в современной гинекологии, так как занимает высокий удельный вес в гинекологической заболеваемости. Патологические гиперпластические изменения слизистой тела матки являются предшественниками эндометриальной аденокарциномы (ЭК) [2, 4, 5, 6, 9,10,11, 14, 15, 16,19, 20, 23,24].

По данным зарубежных авторов, в 8–30% случаев наблюдается трансформация атипической гиперплазии в РЭ в течение четырех лет [13, 16, 17, 22, 23, 25].

Потери от злокачественных новообразований в репродуктивном возрасте (20–44 года) в женской популяции РФ составили 15,7%. В России прирост абсолютного числа заболевших ЭК составил 15,6%, а за 20 лет прирост заболеваемости составил 63,5%. На данный момент эндометриальная карцинома занимает второе место среди опухолей женской половой сферы во всех возрастных группах. Средний возраст снизился на шесть лет во всех возрастных группах [1].

В Красноярском крае за последние 15 лет отмечается устойчивая тенденция роста заболеваемости ЭК. Прирост заболеваемости составил 93,1%. Темпы роста заболеваемости ЭК среди женщин до 29 лет увеличились в девять раз, до 40 лет — в 2,8 раза [3].

«Золотым стандартом» лечения тяжелой атипической гиперплазии (АГЭ) и высокодифференцированной аденокарциномы эндометрия (ВДА) является пангистерэктомия, которая приводит к потере фертильности.

Цель настоящего исследования — разработка научно обоснованного алгоритма самостоятельной гормонотерапии в виде комбинированного применения аналогов ГнРГ и внутриматочной левоноргестрел рилизинг системы у пациенток с АГЭ и ВДА до 40 лет с нереализованной репродуктивной функцией.

Материалы и методы. Настоящее исследование было выполнено в 2008–2014 гг. на клинических базах Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого: в гинекологическом отделении Красноярского краевого клинического онкологического диспансера им. А.И. Крыжановского, в Красноярской межрайонной клинической больнице № 4. Самостоятельная гормонотерапия заключалась в сочетанном применении агониста гонадолиберина и внутриматочной левоноргестрел рилизинг системы.

Критерии включения пациентов в исследование — лица женского пола различной национальной принадлежности, жители г. Красноярска и Красноярского края в возрасте от 18 до 40 лет; морфологическое заключение соскоба или аспирата эндометрия — АГЭ и ВДА; нереализованная репродуктивная функция; наличие заключения онкогинеколога о возможности

провести консервативное органосохраняющее лечение; подписанное пациенткой информированное добровольное согласие на проведение данного вида терапии; категорический отказ от оперативного лечения [3, 15]. Всего в программу были включены 50 пациенток.

В объем проводимого исследования входили: анализ жалоб пациенток и анамнеза основного заболевания; ультразвуковое исследование с цветовым доплеровским картированием (УЗИ с ЦДК); томографический метод — МРТ, эндоскопический метод — гистероскопия с фракционным раздельным диагностическим выскабливанием полости матки; лабораторные методы — морфологическое исследование соскобов и аспиратов эндометрия, иммуногистохимическое исследование с использованием следующей панели антител: ER, PR, Ki 67, Vcl — 2, p 53, E — cadherin [3, 15].

Результаты и обсуждение. Возраст женщин варьировал от 20 до 40 лет. Медиана возраста в исследуемой группе составила 32 [26,7:36]. Динамическое наблюдение осуществляли с помощью широко распространенных инструментальных методов исследования: УЗИ с ЦДК ежемесячно в течение первых шесть месяцев, затем, с интервалом два месяца, в последующие шесть месяцев. Гистероскопию с прицельной биопсией/выскабливанием эндометрия или Pipelle/IPAS диагностику осуществляли после дозы достижения эффекта — атрофии/гипотрофии эндометрия (11,25 мг), а также по завершении онкологического этапа лечения [3, 15].

Результаты многочисленных исследований, проведенных в мире, свидетельствуют о том, что существует множество иммуногистохимических маркеров, которые позволяют прогнозировать течение заболевания и эффективность проводимого лечения. Однако в литературе нет единого мнения об их прогностической роли, именно поэтому необходимо пристально изучать данную проблему [4, 7, 8].

В своем исследовании мы использовали для иммуногистохимического исследования показатели экспрессии ER, PR, Ki-67, Vcl-2, p 53, E-cadherin.

Показатель экспрессии ER при АГЭ был выше, чем при ВДА. Медиана значения экспрессии ER 8,0 [7,0: 8,0]. Среднее значение экспрессии ER при АГЭ было 7,6, а при ВДА 7,5. Медиана

на значения экспрессии PR составила 7,5 [7: 8]. Значение экспрессии PR при АГЭ было выше (7,2), чем при ВДА (7,1).

Ядерный белок Ki-67 рассматривают как «золотой стандарт» оценки пролиферативной активности клетки. Он отражает количество митотически активных клеток, так как экспрессируется во всех фазах клеточного цикла. Экспрессия Ki-67 начинается в конце G1 фазы клеточного цикла и достигает максимума в его митотическую фазу, таким образом, интенсивность ядерного окрашивания может быть вариабельной. Для оценки пролиферативной активности клеток эндометрия чаще всего используют именно маркер Ki-67, несмотря на то, что истинная роль этого белка в регуляции клеточного цикла до конца не ясна [4, 12, 17, 18].

Медиана значения экспрессии Ki-67 составила 40 [20: 60]. Значение экспрессии Ki-67 при АГЭ было ниже (34,9), чем при ВДА (70,0), и сопоставимо с мировыми данными [4, 12].

p 53 — это полифункциональный белок, основная функция которого реализуется в ядре. Считается, что иммуногистохимическая положительная реакция полностью зависит от наличия мутантного типа mt 53. Мутантная форма белка p 53 уже не выполняет своих функций, и деление клеток ставится неуправляемым процессом. Полагают, что мутации p 53 могут инициировать канцерогенез или определять его начальные этапы, также в процессе роста опухоли обеспечивать ее новые агрессивные свойства [25].

Распределение экспрессии p 53 в зависимости от морфологического заключения выглядело так: при АГЭ — 17,8; при ВДА — 49,1.

Во всем мире молекулы клеточной адгезии, такие как кадгерины, признаны в качестве важных маркеров дифференцировки опухоли. Они регулируют адгезию эпителиальных, эндотелиальных и нервных клеток с различной экспрессией кадгеринов в разных типах клеток. E-cadherin, связываясь с катенинами, регулирует адгезивные свойства клетки. Адгезивность клетки улучшается, когда E-cadherin связывается с a-catenin [7, 8, 18, 21, 22].

Снижение экспрессии E-cadherin *in vitro* коррелирует с агрессивным фенотипом раковых клеток. Большинство исследователей считают, что изменение экспрессии может иметь

важную прогностическую роль [7, 8, 18]. Полученные нами в ходе исследования данные не противоречат зарубежным: среднее значение экспрессии E-cadherin при АГЭ составило 2,7 баллов, а при ВДА — 1,7 баллов.

Проведя анализ результатов иммуногистохимического исследования, мы выявили корреляционную связь между показателями экспрессии ER, PR, Ki-67, Bcl-2, p 53, E-cadherin и временем достижения атрофии эндометрия.

Прямая корреляционная связь отмечалась в отношении экспрессии Ki-67, Bcl-2, p 53, обратная корреляционная связь наблюдалась относительно экспрессии E-cadherin. Статистически значимых результатов значений экспрессии ER, PR на время достижения атрофии эндометрия мы не выявили ($p > 0,05$).

В исследуемой группе атрофия эндометрия на фоне проводимого лечения у 30/50 ($60 \pm 6,9\%$) женщин наступила через три месяца, у 12/50 ($24,0 \pm 6,0\%$) — через 6 месяцев, у 7/50 ($14,0 \pm 4,9\%$) — через девять месяцев и у 1/50 ($2,0 \pm 2,0\%$) — через 12 месяцев.

Медиана времени достижения атрофии эндометрия при АГЭ составила 3 [3,0; 6,0], а при ВДА — 6 [6,0; 6,0]. Мы выявили статистически значимые отличия по времени наступления атрофии эндометрия при АГЭ и ВДА ($p < 0,001$).

У пациенток с АГЭ и ВДА, которым проводилось органосохраняющее лечение, атрофия эндометрия была достигнута в 50/50 ($100,0 \pm 0,0\%$) случаев. Пятилетняя выживаемость

составила 100,0%. Данных за рецидив заболевания среди пролеченных женщин не получено. У 12/50 ($24,0 \pm 4,9\%$) пациенток после лечения наступила желанная беременность.

Заключение. АГЭ можно рассматривать как начальный этап формирования ЭК, поэтому при ЭК ожидаемый эффект от лечения, т.е. достижение атрофии эндометрия, наступает позже, чем при АГЭ. При исследовании иммуногистохимических маркеров было выявлено, что значение экспрессии ER, PR при ВДА ниже значений экспрессий ER, PR при АГЭ. Показатели экспрессии маркера пролиферации (Ki-67), маркера апоптоза (Bcl-2), маркера регуляции клеточного цикла (p 53) при ВДА в два раза превышали показатели экспрессии данных маркеров при АГЭ. На фоне проводимого лечения значения экспрессии исследуемых маркеров снижались в 10–12 раз. Таким образом, комбинированное гормональное лечение влияет только на процессы регуляции клеточного цикла и апоптоза.

Наши данные позволяют сделать вывод, что иммуногистохимическое исследование соскобов эндометрия перед выбором предстоящего лечения необходимо для подтверждения морфологического диагноза, дифференциальной диагностики, уточнения дифференцировки опухоли и возможного прогноза заболевания. Исследование иммуногистохимических маркеров актуально на этапе диагностики заболевания, а также на фоне проводимого лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женской половой сферы // Онкогинекология. — 2012. — № 1. — С. 18–23.
2. Лысенко О.В. Классификация и гормональная терапия гиперпластических процессов эндометрия // Охрана материнства и детства. — 2008. — № 2. — С. 100–115.
3. Пашов А.И., Цхай В.Б., Дыхно Ю.А. Проллиферативные процессы эндометрия: Патогенез, прогнозирование, ранняя диагностика. — Новосибирск, 2013. — 260 с.
4. Чернышова А.Л., Коломиец Л.А., Бочкарева Н.В. Иммуногистохимические критерии прогноза при раке эндометрия // Сиб. онкол. журн. — 2010. — № 37. — С. 79–84.
5. Шахламова М.Н., Исаева Э.А., Панкратов В.В. Этиология и патогенез гиперпластических процессов эндометрия в постменопаузе // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2011. — Т. 10. — № 4. — С. 76–84.
6. Шешукова Н.А., Макаров О.И., Фомина М.Н. Гиперпластические процессы эндометрия: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение // Акушерство и гинекология. — 2011. — № 4. — С. 16–21.
7. Ahmed R.H. Ahmed, Eman M.S. Muhammad. E-cadherin and CD 10 expression in atypical hyperplastic and malignant endometrial lesions // J Egypt Nation Can Inst. — 2014. — Vol. 26. — № 4. — P. 211–217.
8. Carico E., Atlante M., Giarhieri E., Raffa S. E-Cadherin and Alpha-Catenin Expression in Normal, Hyperplastic and Neoplastic Endometrium // Antican Research. — 2010. — Vol. 30. — № 12. — P. 4993–4997.

9. *Craig A.M., Hou J.Y., Goldberg G.L., Kuo D.Y.S.* Angiogenesis and its modulation in the pathophysiology and treatment of endometrial carcinoma // *Oncol. Rev.* — 2011. — Vol. 5. — P. 43–48.
10. *Epplein M., Reed S.D., Voigt L.F., Newton K.M., Holt V.L., Weiss N.S.* Risk of complex and atypical hyperplasia in relation to anthropometric measures and reproductive history // *Am. J. Epidemiol.* — 2008. — Vol. 168 — № 6. — P. 563–570.
11. *Liang Y.L., Hao Q., Zhang H.-M. Wu YZ., Wang J.D.* Insulin-like growth factors in endometrioid adenocarcinoma: Correlation with clinico-pathological features and estrogen receptor expression // *BMC Cancer.* — 2012. — Vol. 12. — № 1. — P. 262–273.
12. *Lie D.I., Georgescu C.V., Simionescu C., Braila A.D., Braila M.* Immunohistochemical aspects of endometrium hyperplasia in perimenopause // *Cur Heal Scien J.* — 2011. — Vol. 37. — № 2. — P. 85–91.
13. *Haola Z.J., Walker K.F., Powell M.C.* Levonorgestrel intra-uterine system as a treatment option for complex endometrial hyperplasia // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* — 2011. — Vol. 159 — № 1. — P. 176–179.
14. *Linkov F., Edwards R., Balk J., Yurkovetsky Z., Stadterman B., Lokshin A., Taioli E.* Endometrial hyperplasia, endometrial cancer and prevention: gaps in existing research of modifiable risk factors // *Eur. J. Cancer.* — 2008. — Vol. 44. — № 12. — P. 1632–1644.
15. *Pashov A.I., Tshay V.B., Ionouchene S.V.* The combined GnRH-agonist and intrauterine levonorgestrel-releasing system treatment of complicated atypical hyperplasia and endometrial cancer: a pilot study // *Gynecol. Endocrinol.* — 2012. — № 2. — P. 559–561.
16. *Ovigstad E., Lieng M.* Surgical Treatment of Endometrial Cancer and Atypical Hyperplasia: A Trend Shift from Laparotomy to Laparoscopy // *Obstet. Gynecol. Int.* — 2011. — Vol. 2011. — № 5. — P. 1–5.
17. *Reed S.D., Voigt L., Newton K.M., Garcia R.H., Allison H.K., Epplein M., Jordan D., Swisher E., Weiss N.S.* Progestin therapy of complex endometrial hyperplasia with and without atypia // *Obstet. Gynecol.* — 2009. — Vol. 113. — № 3. — P. 655–662.
18. *Rodriguez F.J., Lewis-Tuffin L.J., Anastasiadis P.Z.* E-cadherin's dark side: Possible role in tumor progression // *Bioch Bioph Acta Rev Can.* — 2012. — Vol. 1826. — № 1. — P. 23–31.
19. *Sorosky J.I.* Endometrial cancer // *Obstet. Gynecol.* — 2012. — Vol. 120. — № 2 (P.1). — P. 383–397.
20. *Trimble C.L., Method M., Leitao M., Lu K., Ioffe O., Hampton M., Higgins R., Zaino R., Mutter G.L.* Management of Endometrial Precancers // *Obst Gynec.* — 2012. — Vol. 120. — № 5. — P. 1160–1175.
21. *Van Roy F.* Beyond E-cadherin: roles of other cadherin superfamily members in cancer // *Nat Rev Can.* — 2014. — Vol. 14. — P. 121–134.
22. *Van Roy F., Berx G.* The cell-cell adhesion molecule E-cadherin // *Cell Mol Life Sci.* — 2008. — Vol. 65. — № 23. — P. 3756–3788.
23. *Varma R.* The effectiveness of a levonorgestrel-releasing intrauterine system (LNG-IUS) in the treatment of endometrial hyperplasia — a long-term follow-up study // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reproduct. Biology.* — 2008. — Vol. 139. — P. 169–175.
24. *Viola A.S., Gouveia D., Andrade L.* Prevalence of endometrial cancer and hyperplasia in non-symptomatic overweight and obese women // *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* — 2008. — Vol. 48. — № 2. — P. 207–213.
25. *Wang S., Wang Z., Mittal K.* Concurrent endometrial intraepithelial carcinoma (EIC) and endometrial hyperplasia // *Hum Pathol.* — 2015. — Vol. 2. — № 1. — P. 1–4.