



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

**TARGETED APPROACH IN THE TREATMENT OF ENDOMETRIAL  
HYPERPLASIA WITHOUT ATYPIA IN WOMEN OF REPRODUCTIVE  
AGE****ТАРГЕТНИЙ ПІДХІД В ТЕРАПІЇ ГІПЕРПЛАЗІЇ ЕНДОМЕТРІЯ БЕЗ АТИПІЇ У  
ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ****Khaskhachykh D.A./ Хасхачих Д.А.***c.med.s., as.prof. / к.мед.н., доц.*

ORCID: 0000-0001-5097-6667

**Kukina G.A./ Кукина Г.А.***PhD Applicant / Здобувач ступеня доктор філософії*

ORCID: 0000-0002-0745-0632

**Garopova E.V./ Гапонова Е.В.***PhD Applicant / Здобувач ступеня доктор філософії*

ORCID: 0000-0002-6644-7628

**Penner E.V./ Пеннер Е.В.***PhD Applicant / Здобувач ступеня доктор філософії*

ORCID: 0000-0001-8974-4505

**Garagulya I.S./Гарагуля И.С.***c.med.s., as.prof. / к.мед.н., доц.**Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine,**9 Volodimira Vernadskoho str., Dnipro, Ukraine, 49044**Державний заклад "Дніпропетровська медична академія МОЗ України",**вул. Володимира Вернадського, буд. 9, м. Дніпро, Україна, 49044*

**Анотація.** В роботі розглядаються питання щодо покращення ефективності лікування гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку з застосуванням прогестинів, як патогенетично обумовленої терапії та повинно носити персоналізований (таргетний) характер з урахуванням рецепторної чутливості тканини ендометрія до впливу прогестинів. Позитивні ефекти від застосування прогестинів здебільше обумовлені експресією прогестеронових рецепторів в тканині ендометрія, яку потрібно враховувати при проведенні гормональної терапії. Проведено проспективне дослідження у 60 пацієнток репродуктивного віку з аномальними маточними кровотечами, у яких за результатами гістологічного дослідження тканини ендометрія була діагностована гіперплазія ендометрія без атипії. Всі пацієнтки отримували лікування мікронізованим прогестероном в дозі 400 мг/добу в безперервному режимі на протязі 6 міс. Для визначення ефекту від використання прогестинів проводилося дослідження експресії рецепторів до естрогенів (EP) та прогестерону (PP) в гістологічних блоках ендометрію імуногістохімічним методом. У всіх жінок спостерігалася значна експресія EP в клітинах ендометрію, що обумовлювало його проліферативну активність на тлі зниження експресії рецепторів до прогестерону на 65%, що обумовлювало відсутність ефекту від терапії у 25% жінок. 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.

**Ключові слова:** гіперплазія ендометрію без атипії, імуногістохімія, рецептори прогестерону, прогестеронна терапія, резистентність до прогестерону.



## Вступ.

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].

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 [2].

Відомо, що більшість хворих з гіперпластичними процесами ендометрія зазнають гормонального лікування з застосуванням препаратів прогестерону, ефективність якого залежить насамперед 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 достатній кількості прогестерона 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 [3].

Перевірені роками методи діагностики, які починаються зі збору анамнезу, включають достатньо інформативне ультразвукове дослідження, гістероскопію 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 [4].

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 [5].

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 пацієток репродуктивного віку (35-46 років) з аномальними матковими кровотечами (АМК). За результатами гістологічного дослідження зішкрібів ендометрія у 45 пацієток 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 пацієтки 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-пероксидазного 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 [6].

Позитивним результатом вважалося специфічне забарвлення ядер в коричневий колір. Кількісна оцінка ступеня експресії рецепторів прогестерону проводилася за системою Histochemical score (H-score) [7].

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  $\times 40$ . Інтенсивність забарвлення оцінювалася таким чином:

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

Формула підрахунку:



$$H \text{ score} = \sum P_i \times i,$$

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

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.

**Таблиця 1**

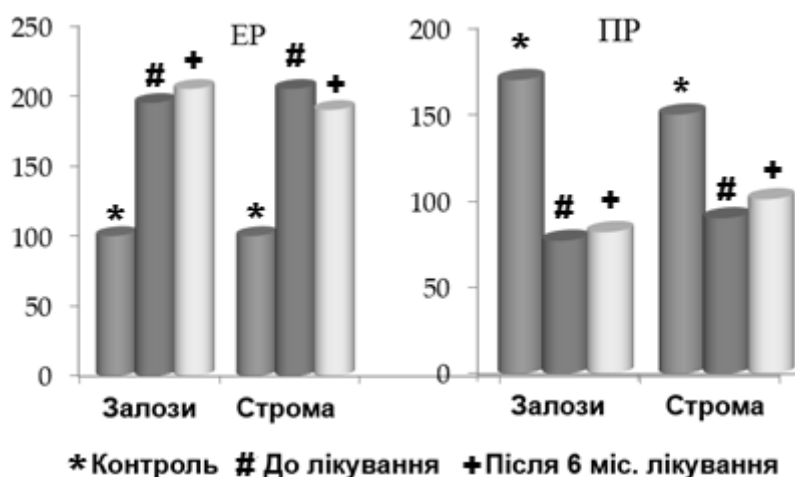
### Експресія рецепторів естрогенів та прогестерону у жінок з ГЕ без атипії до та після лікування мікронізованим прогестероном, H-score, M±m

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*

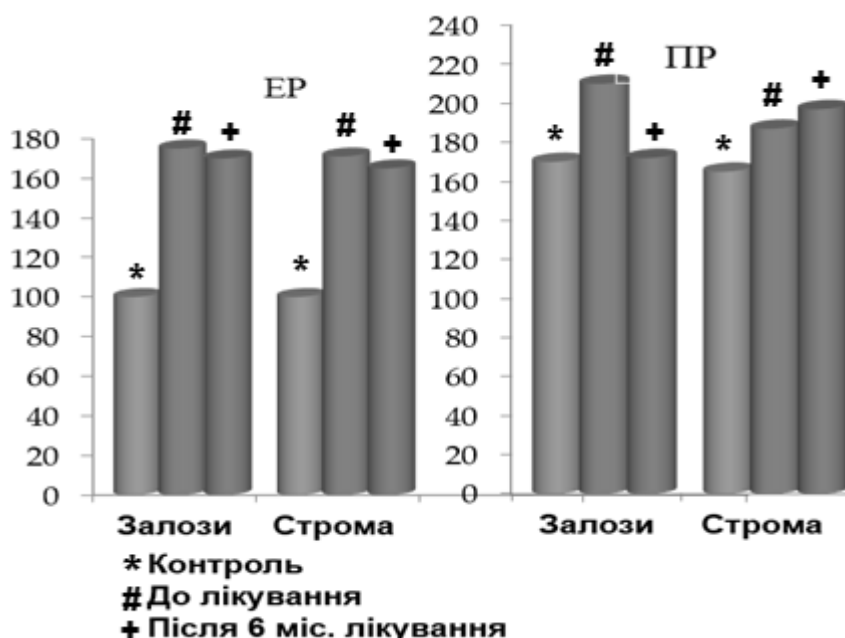
\*- показник статистично достовірний відрізняється від норми ( $p < 0,05$ )

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. Ступінь експресії статевих гормонів відповідала високим показникам H-score. Так, середнє значення ЕР склало 179,2±6,5 ( $p > 0,05$ ), та середнє значення ПР 159,45±4,9 ( $p > 0,05$ ). Звертає на себе увагу збільшення експресії ЕР в 1,7- 4 рази як в 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 ER та PR за показником H –score до та через 6 міс. лікування мікронізованим прогестероном в групі жінок з низькою експресією PR.



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

При порівнянні показників експресії рецепторів статевих гормонів в гіперплазованому ендометрії з високою експресією PR та їх рівнем в незміненому ендометрії в проліферативну фазу циклу, було встановлено наступне: концентрація ER 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 PR не виявлено значущих відмінностей при гіперплазії ендометрія і ендометрієм фази проліферації пацієток в контрольній групі (рис.2).



## 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.

## Література

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. Shao R. Progesterone receptor isoforms A and B: new insights into the mechanism of progesterone resistance for the treatment of endometrial carcinoma /Shao R. // Ecancermedalscience. - 2013 Dec 18;7:381
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. 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.
6. 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.
7. McClelland R.A. A multicentre the reliability of steroid receptor immunocytochemical assay quantification /R.A. McClelland, D. Willson, R.

***Abstract.** The paper considers the issues of improving the effectiveness of treatment of endometrial hyperplasia without atypia in women of reproductive age with the use of progestins as a pathogenetic therapy and should be personalized (targeted) taking into account the receptor sensitivity of endometrial tissue to progestins. The positive effects of progestin use are mainly due to the expression of progesterone receptors in the endometrial tissue, which must be taken into account during hormone therapy. A prospective study was performed in 60 patients of reproductive age with abnormal uterine bleeding, who were diagnosed with endometrial hyperplasia without atypia based on histological examination of endometrial tissue. All patients were treated with micronized progesterone at a dose of 400 mg / day continuously for 6 months. To determine the effect of the use of progestins was performed by studying the expression of receptors for estrogen (ER) and progesterone (PR) in histological blocks of the endometrium by immunohistochemistry. In all women there was a significant expression of EP in endometrial cells, which led to its*



*proliferative activity against the background of reduced expression of progesterone receptors by 65%, which caused no effect of therapy in 25% of women. Studies have shown that when deciding on the appointment of micronized progesterone for the treatment of endometrial hyperplasia without atypia, it is recommended to study the expression of progesterone receptors in endometrial tissue to clarify the possibility of a pharmacological effect. Treatment of endometrial hyperplasia without atypia with progesterone drugs is not effective in low expression of progesterone receptors in endometrial tissue. Based on this, we can identify a group of women with progesterone-resistant hyperplasia who require other treatments.*

**Key words:** *endometrial hyperplasia without atypia, immunohistochemistry, progesterone receptors, hormone therapy, progesterone resistance.*

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

Статья отправлена: 20.11.2020 г.

© Хасхачих Д.А.