

ІМУНО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЯ

ВСТУП

Гіперпластичні процеси ендометрія являють собою велику медико-біологічну та соціально-економічну проблему. У структурі гінекологічної патології проліферативні захворювання, до яких відносять гіперплазію ендометрія, посідають друге місце (до 40%) після інфекційно-запальних уражень, а при поєднанні з міомою матки і аденоміозом (30–76,8%) за тяжкістю наслідків виходять на перше місце [1–3]. В останні роки відзначається зростання захворюваності на гіперплазію ендометрія, що пов'язують зі змінами у суспільному житті жінок та підвищенням їх активності, використанням різних видів контрацепції, широким розповсюдженням штучного переривання вагітності, зростанням числа соматичних захворювань і обмеженими можливостями консервативного лікування, зумовленими протипоказаннями до гормонотерапії [4]. На гіперплазію ендометрія страждають до 50% жінок пізнього репродуктивного та перименопаузального віку та від 15 до 40% жінок у постменопаузі [4], однак ця патологія досить часто зустрічається і у молодших жінок.

АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ ТА ПОСТАНОВКА ЗАВДАННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ

Тривалий час існувало уявлення про те, що основною причиною розвитку гіперпластичних процесів ендометрія є порушення гормональних співвідношень у вигляді гіперестрогенії. Проте дослідження останнього десятиліття [5–8] доводять можливість їх розвитку і при нормальному двофазному менструальному циклі. Цими дослідженнями доведено наявність змін рецепторного фенотипу клітин гіперпластично зміненого ендометрія.

У розвитку і прогресії патологічної трансформації ендометрія важливе місце посідають порушення функції імунного нагляду [8–10]. Основна роль у забезпеченні цієї функції в контролі проліферації клітин належить макрофагам, NK-клітинам (натуральним кілерам), антигенспецифічним ефекторним Т-лімфоцитам, а також антигенпрезентуючим клітинам [10, 11].

У здійсненні контрольної-регуляторної функції велике значення мають фактори росту і цитокіни імунного походження [6, 8], які впливають на процеси проліферації та диференціювання різних клітин. Зміна синтезу і виділення

цитокінів може не тільки спричинити порушення імуноезу [6], але й мати пряму чи опосередковану антигіперпластичну дію на інші клітини-мішені через вплив на швидкість їх переходу з фази G₀ в наступні фази циклу поділу клітини [12], а також через включення програми апоптозу [13].

Метою дослідження була оцінка імуні-морфологічних особливостей розвитку гіперпластичних процесів ендометрія шляхом визначення експресії дендритних клітин CD56+, CD83+, CD1a+ та факторів апоптозу Bcl-2 і Вах у тканинах простої та атипової залозисто-кістозної гіперплазії ендометрія.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведені в 2010-2011 рр. на базі обласної клінічної лікарні (м. Одеса) та на клінічних базах кафедри акушерства та гінекології № 1 Одеського національного медичного університету. Комплексно обстежені відповідно до вимог чинних клінічних протоколів, регламентованих наказами МОЗ України № 620 від 29.12.2003 «Про організацію надання стаціонарної акушерсько-гінекологічної та неонатологічної допомоги в Україні» та № 676 від 31.12.2004 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги» [14, 15] 50 жінок із гіперпластичними процесами ендометрія, в тому числі 25 – з простою гіперплазією (I група) та 25 – з атиповою залозисто-кістозною гіперплазією (II група). Середній вік обстежених склав 33,6 ± 0,8 років. У якості контролю були обстежені 20 практично здорових жінок того ж віку.

Визначення вмісту дендритних клітин в біоптатах ендометрія проведено імуногістохімічним методом із використанням моноклональних антитіл LIR, Dardilly (Франція) до CD56+, CD83+, CD1a+. Матеріал для досліджень одержували шляхом виконання біопсії слизової оболонки тіла матки пацієнток за 2–3 дні до передбачуваного терміну менструації кюреткою типу Пайпель або фракційного лікувально-діагностичного вишкрібання слизової оболонки порожнини матки і цервікального каналу.

Зіскрібки з порожнини матки з незмінним ендометрієм у різні фази менструального циклу і гістологічні зрізи хворих із гіперплазією ендометрія досліджували імуногістохімічним



В.М. ЗАПОРОЖАН
д. мед. н., професор, акад. НАМНУ,
ректор Одеського національного
медичного університету, завідувач
кафедрою акушерства та
гінекології № 1

С.А. ФЕТЕСКУ
кафедра акушерства та гінекології
№ 1 Одеського національного
медичного університету

Контакти:
Запорожан Валерій Миколайович
Одеський національний
медичний університет, кафедра
акушерства та гінекології № 1
65000, Одеса,
пров. Валіховський, 2
тел.: +38 (048) 723-33-24
e-mail: rector@odmu.edu.ua



Результати дослідження показали доцільність застосування оцінки функціонального стану антигенпрезентуючих дендритних клітин у діагностичному алгоритмі у пацієнток із гіперпластичними процесами ендометрія

методом. З фіксованих у нейтральному формаліні та залитих у парафін шматочків тканини робили зрізи товщиною 4–5 мкм і поміщали по 3–4 на скельця, покриті полі-L-лізином.

Виявлення тканинних антигенів проводили авідин-біотиновим методом, в якому біотиніловані вторинні антитіла реагують із відповідними молекулами стрептавідіна, кон'югованого з пероксидазою. Метод має високу чутливість і дозволяє візуально виявити місця розташування антигенів. При постановці імуногістохімічної реакції використовували універсальний пероксидазний DAKO LSAB+ kit (Dako corporation, USA).

Експресія антиапоптозного білка Bcl-2 і проапоптозного білка Вах спостерігалася в цитоплазмі клітин, відрізнялася за інтенсивністю фарбування при застосуванні імуногістохімічного методу. Оцінка результатів дослідження виражалася у балах: 0 – відсутність реакції, 1 – слабка реакція, 2 – помірна реакція, 3 – сильна реакція.

Статистична обробка одержаних результатів проведена методами дисперсійного та кореляційного аналізу з використанням програмного забезпечення Statistica 10.0 [16].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У хворих із гіперплазією ендометрія перебіг захворювання був стереотипним. Менометрорагії спостерігалися у 20 (80,0%) жінок I групи та у 21 (84%) II групи, гіперполіменорея й альгоменорея – відповідно у 32% та 36% пацієнток I та II групи. Тривале (більше 5 років) використання внутрішньоматкової системи мало місце у 6 (24%) жінок I групи та у 4 (16%) – II групи, більше трьох штучних абортів в анамнезі було зареєстровано у 9 (36%) хворих із простою залозистою гіперплазією ендометрія та у 10 (40%) з атиповою гіперплазією. Обтяжений за онкопатологією спадковий анамнез відзначався у 12 (48%) пацієнток I групи, у 11 (44%) – II групи та у 3 (15%) у групі контролю. Статистично значущі відмінності між пацієнтками I та II групи були відсутні ($p > 0,05$). Клінічні прояви у жінок із різними формами гіперплазії ендометрія були подібними.

При імуногістохімічному дослідженні біопатів ендометрія жінок, хворих на атипову гіперплазію, встановлено, що дендритні клітини, які експресували антигени CD1a+, CD56+ та CD83+, демонстрували високий рівень експресії у порівнянні з контролем ($p < 0,05$) (таблиця).

При цьому глибина і характер імунологічних порушень, що супроводжують патологічну трансформацію ендометрія, залежали не тільки від тяжкості його морфологічних змін, але й від тривалості перебігу процесу ($r = 0,61$) та наявності супутньої патології ($r_A = 0,66$).

Водночас встановлено, що ступінь експресії факторів Bcl-2 та Вах була слабкою або помірною у жінок із простою та атиповою гіперплазією ендометрія та негативною – у здорових жінок.

При простій гіперплазії зміни експресії маркерів дендритних клітин були помірними та мало розходилися з контрольними значеннями, але достовірно відрізнялися від значень, одержаних у II групі.

При цьому рівень експресії маркерів апоптозу у пацієнток II групи корелював ($r = 0,54$) із вираженістю експресії незрілих дендритних клітин CD1a+. Це свідчить про суттєву роль функціонального стану дендритних клітин в регуляції клітинної проліферації та активності апоптозу у жінок із гіперпластичними процесами ендометрія. Іншими словами, активація апоптозу забезпечує «утилізацію» атипових клітин ендометрія та тісно пов'язана з ефективністю антигенпрезентації, яка є властивістю дендритних клітин.

ВИСНОВКИ

1. Дендритні клітини в ендометрії пацієнток із атиповою гіперплазією ендометрія (CD1a+, CD56+ і CD83+) демонструють достовірно високий рівень експресії за досліджуваними показниками.

2. Рівень експресії маркерів апоптозу (Bcl-2 та Вах) у жінок із атиповою гіперплазією ендометрія корелює ($r = 0,54$) із вираженістю експресії незрілих дендритних клітин CD1a+.

3. Глибина і характер імунологічних порушень, що супроводжують патологічну трансформацію ендометрія, залежать не тільки від тяжкості його морфологічних змін (зміни співвідношення між стромальним та залозистим компонентом, поліморфізм ядер), але й від тривалості перебігу процесу ($r = 0,61$) та наявності супутньої патології ($r_A = 0,66$).

4. Наведене свідчить про доцільність застосування в діагностичному алгоритмі у пацієнток із гіперпластичними процесами ендометрія оцінки функціонального стану антигенпрезентуючих дендритних клітин.

ТАБЛИЦЯ. ЕКСПРЕСІЯ МАРКЕРІВ АНТИГЕНПРЕЗЕНТУЮЧИХ КЛІТИН І МАРКЕРІВ КЛІТИННОЇ ПРОЛІФЕРАЦІЇ У ХВОРИХ НА ГІПЕРПЛАСТИЧНІ ПРОЦЕСИ ЕНДОМЕТРІЯ

Показники	Проста гіперплазія	Атипова гіперплазія	Контроль
CD1a+	1,3 ± 0,2*	2,2 ± 0,2*	0,9 ± 0,1
CD56+	1,5 ± 0,2	1,9 ± 0,2*	1,3 ± 0,1
CD83+	1,6 ± 0,1*	2,1 ± 0,2*	1,2 ± 0,1
Bcl-2	1,6 ± 0,1	1,8 ± 0,2	-
Вах	1,3 ± 0,1	1,5 ± 0,2	-

* відмінності з контролем є достовірними ($p < 0,05$)

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Татарчук, Т.Ф.

К вопросу о лечении гиперплазии эндометрия / Т.Ф. Татарчук, Л.В. Калугина // Репродуктивная эндокринология. — 2012. — № 2 (4). — С. 88–90.

Tatarchuk, T.F., Kalugina, L.V.

“Question of the endometrial hyperplasia treatment.” *Reproductive Endocrinology*, 2(4) (2012): 88–90.

2. Дубинина, В.Г.

Иммуно-эндокринные взаимоотношения у женщин репродуктивного возраста с различными видами трансформации эндометрия / В.Г. Дубинина, А.И. Рыбин // Буковинський медичний вісник. — 2002. — Т. 6, № 3. — С. 215–220.

Dubinina, V.G., Rybin, A.I.

“Immune-endocrine relationships among women of reproductive age with different kinds of endometrium transformation.” *Bukovynskiy Medical Bulletin*, 3(6) (2002): 215–220.

3. Бурлев, В.А.

Гиперплазия эндометрия: атипия и ангиогенез / В.А. Бурлев, С.Е. Саркисов, Н.А. Ильасова, А.В. Бурлев // Проблемы репродукции. — 2007. — № 5. — С. 21–27.

Burlev, V.A., Sarkisov, S.E., Iliasova, N.A., Burlev, A.V.

“Eutopic endometrial hyperplasia: atypia and angiogenesis.” *Reproduction Problems*, 5(2007): 21–27.

4. Носенко, Е.Н.

Некоторые характеристики рецептивности и реактивных свойств эндометрия у пациенток с простой неатипической гиперплазией эндометрия / Е.Н. Носенко, Ю.А. Малова, И.Ю. Гошкостеря и др. / Вестник неотложной и восстановительной медицины. — 2008. — Т. 9, № 2. — С. 179–183.

Nosenko, E.N., Malova, Y.A., Goshkosteria, I.J. et al.

“Some characteristics of receptivity and reactive properties of the endometrium in patients with simple non-atypical endometrial hyperplasia.” *Bulletin of Emergency and Rehabilitation Medicine*, 2(9) (2008): 179–183.

5. Запорожан, В.Н.

Роль интерферирующей РНК в регуляции иммунного надзора и пролиферативных процессов на примере экспериментальной модели рака эндометрия в условиях патологии щитовидной железы / В.Н. Запорожан, А.С. Маринюк, Е.Л. Холодкова, Д.Ю. Андронов // Казанский медицинский журнал. — 2013. — Т. 94, № 3. — С. E01.

Zaporozhan, V.N., Marinyuk, A.S., Kholodkova, E.L., Andronov, D.Y.

“Role of the interfering RNA in the regulation of immune surveillance and proliferative processes on the example of an experimental model of endometrial cancer in pathological conditions of the thyroid gland.” *Kazan Medical Journal*, 94(3) (2013): E01.

6. Zaporozhan, V.N., Marichereda, V.G., Dimcheva, L.I.

“Risk factors for tumor progression of neoplastic cervical lesions.” *Journal of Health Sciences*, 11(3) (2013).

7. Shen, Z., Fahey, J.V., Bodwell, J.E., Rodriguez-Garcia, M., Rossoll, R.M., Crist, S.G., Patel, M.V., Wira, C.R.

“Estradiol regulation of nucleotidases in female reproductive tract epithelial cells and fibroblasts.” *PLoS One*, 8(7) (2013): e69854.

8. Романовский, О.Ю.

Гиперпластические процессы эндометрия в репродуктивном периоде (обзор литературы) / О.Ю. Романовский // Гинеколог. — 2005. — №8. — С. 9–20.

Romanovskiy, O.Y.

“Endometrial hyperplastic processes of reproductive age (review).” *Gynecologist*, 8(2005): 9–20.

9. Berbic, M., Fraser, I.S.

“Immunology of normal and abnormal menstruation.” *Womens Health (Lond Engl)*, 9(4) (2013): 387–395.

10. Kyurkchiev, D., Ivanova-Todorova, E., Kyurkchiev, S.D.

“New target cells of the immunomodulatory effects of progesterone.” *Reprod Biomed Online*, 21(3) (2010): 304–311.

11. Schulke, L., Berbic, M., Manconi, F., Tokushige, N., Markham, R., Fraser, I.S.

“Dendritic cell populations in the eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis.” *Hum Reprod*, 24(7) (2009): 1695–1703.

12. Kokawa, K., Shikone, T., Nakano, R.

“Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle.” *J Clin Endocrinol Metab*, 81(11) (1996): 4144–4147.

13. Jones, R.K., Searle, R.F., Bulmer, J.N.

“Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis.” *Hum Reprod*, 13(12) (1998): 3496–3502.

14. Наказ МОЗ України від 29.12.2003 № 620 «Про організацію надання стаціонарної акушерсько-гінекологічної та неонатологічної допомоги в Україні».

Режим доступу: [<http://www.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=6201>]

Order of the MOH of Ukraine of 29.12.2003 № 620 «Organization of inpatient obstetric and neonatal care in Ukraine.»

[<http://www.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=6201>]. Last accessed March 16, 2015.

15. Наказ МОЗ України від 31.12.2004 № 676 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги».

Режим доступу: [<http://www.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=15187>]

Order of the MOH of Ukraine of 31.12.2004 № 676 «Approval of clinical protocols for obstetric and gynecological care.»

[<http://www.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=15187>]. Last accessed March 16, 2015.

16. Реброва, О.Ю.

Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва // М.: МедиаСфера. — 2002. — 312 с.

Rebrova, O.Y.

Statistical analysis of medical data. Application software package STATISTICA. Moscow, MediaSphere (2002): 312 p.

European Conference on Interventional Oncology

ECIO 2015



ІМУНО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЯ

В.М. Запорожан, д. мед. н., професор, акад. НАМНУ, ректор Одеського національного медичного університету, завідувач кафедри акушерства та гінекології № 1

С.А. Фетеску, кафедра акушерства та гінекології № 1 Одеського національного медичного університету

Метою дослідження була оцінка імуно-морфологічних особливостей розвитку гіперпластичних процесів ендометрія шляхом визначення експресії дендритних клітин (CD56+, CD83+, CD1a+) та факторів апоптозу (Bcl-2 та Bax) в тканинах простої та атипової залозисто-кістозної гіперплазії ендометрія.

Матеріали та методи. Обстежено 25 жінок із простою гіперплазією (I група), 25 – з атиповою залозисто-кістозною гіперплазією ендометрія (II група), контрольну групу склали 20 практично здорових жінок. Визначення вмісту дендритних клітин в біоптатах ендометрія проведено імуногістохімічним методом із використанням моноклональних антитіл LIR, Dardilly (Франція) до CD56+, CD83+, CD1a+. Експресія антиапоптозного білка Bcl-2 і проапоптозного білка Bax спостерігалася в цитоплазмі клітин, відрізнялася за інтенсивністю фарбування.

Результати. При імуногістохімічному дослідженні біоптатів ендометрія встановлено, що дендритні клітини, які експресували антигени CD56+, CD83+, CD1a+, демонстрували високий рівень експресії. При цьому глибина і характер імунологічних порушень, що супроводжують патологічну трансформацію ендометрія, залежать не тільки від тяжкості його морфологічних змін, але й від тривалості перебігу процесу ($r = 0,61$) та наявності супутньої патології ($r_A = 0,66$). Водночас встановлено, що ступінь експресії факторів Bcl-2 та Bax була слабкою або помірною у жінок із простою та атиповою гіперплазією ендометрія та негативною – у здорових жінок. Рівень експресії маркерів апоптозу у пацієнток II групи корелював ($r = 0,54$) із вираженістю експресії незрілих дендритних клітин CD1a+. Це свідчить про суттєву роль функціонального стану дендритних клітин в регуляції клітинної проліферації та активності апоптозу у жінок із гіперпластичними процесами ендометрія.

Ключові слова: гіперплазія ендометрія, дендритні клітини, апоптоз.

ИММУНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ

В.Н. Запорожан, д. мед. н., профессор, акад. НАМНУ, ректор Одесского национального медицинского университета, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 1

С.А. Фетеску, кафедра акушерства и гинекологии № 1 Одесского национального медицинского университета

Целью исследования была оценка иммуно-морфологических особенностей развития гиперпластических процессов эндометрия путем определения экспрессии дендритных клеток (CD56+, CD83+, CD1a+) и факторов апоптоза (Bcl-2 и Bax) в ткани простой и атипичной железисто-кистозной гиперплазии эндометрия.

Материалы и методы. Обследовано 25 женщин с простой гиперплазией (I группа), 25 – с атипичной железисто-кистозной гиперплазией эндометрия (II группа), контрольную группу составили 20 практически здоровых женщин. Определение содержания дендритных клеток в биоптатах эндометрия проведено иммуногистохимическим методом с использованием моноклональных антител LIR, Dardilly (Франция) к CD56+, CD83+, CD1a+. Экспрессия антиапоптозного белка Bcl-2 и проапоптозного белка Bax исследовалась в цитоплазме клеток, различалась по интенсивности окрашивания.

Результаты. При иммуногистохимическом исследовании биоптатов эндометрия установлено, что дендритные клетки, которые экспрессировали антигены CD56+, CD83+, CD1a+, демонстрировали высокий уровень экспрессии. При этом установлено, что глубина и характер иммунологических нарушений, сопровождающих патологическую трансформацию эндометрия, зависят не только от тяжести его морфологических изменений, но и от длительности течения процесса ($r = 0,61$) и наличия сопутствующей патологии ($r_A = 0,66$). Вместе с тем установлено, что степень экспрессии факторов Bcl-2 и Bax была слабой или умеренной у женщин с простой и атипичной гиперплазией эндометрия и отрицательной – у здоровых женщин. Уровень экспрессии маркеров апоптоза у пациенток II группы коррелировал ($r = 0,54$) с выраженностью экспрессии незрелых дендритных клеток CD1a+. Это свидетельствует о существенной роли функционального состояния дендритных клеток в регуляции клеточной пролиферации и активности апоптоза у женщин с гиперпластическими процессами эндометрия.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, дендритные клетки, апоптоз.

IMMUNO-MORPHOLOGICAL FEATURES OF ENDOMETRIAL HYPERPLASIC PROCESSES

V.M. Zaporozhan, MD, professor, academician of the NAMS of Ukraine, rector of Odesa National Medical University, head of the Obstetrics and Gynaecology Department № 1

S.A. Fetesku, the Obstetrics and Gynaecology Department № 1 of Odesa State Medical University

The aim of the study was to evaluate the immuno-morphological features of endometrial hyperplastic processes by determining the expression of dendritic cells (CD56+, CD83+, CD1a+) and apoptotic factors (Bcl-2 and Bax) in simple and atypical endometrial hyperplasia.

Materials and methods. The study involved 25 women with simple hyperplasia (group I), 25 – atypical hyperplasia (group II), control group consisted of 20 healthy women. Determination of dendritic cells in the endometrial biopsies performed by immunohistochemical method using monoclonal antibodies LIR, Dardilly (France) to CD56+, CD83+, CD1a+. Expression of the antiapoptosis protein Bcl-2 and proapoptosis protein Bax was observed in the cytoplasm of cells and differed in intensity staining.

Results. Immunohistochemical study of endometrial biopsies found that dendritic cells that expressed antigens CD56+, CD83+, CD1a+, showed a high level of expression. In this case, the severity and nature of immune disorders that accompany pathological endometrial transformation depends not only on the severity of its morphological changes, but also on the duration of the procedure ($r = 0,61$) and the presence of comorbidity ($r_A = 0,66$). At the same time we found that the degree of expression of factors Bcl-2 and Bax was weak to moderate in women with simple and atypical hyperplasia of the endometrium and negative – in healthy women. The level of expression of markers of apoptosis in group II patients correlated ($r = 0,54$) with the severity of expression of immature dendritic cells CD1a+. This demonstrates the important role of the functional state of dendritic cells in the regulation of cell proliferation and apoptosis activity in women with endometrial hyperplasia.

Keywords: endometrial hyperplasia, dendritic cells, apoptosis.