

А.В. Евсеев, М.М. Баударбекова, И.А. Кузьо

Особенности гормонально-рецепторного статуса и пролиферативной активности эндометриальных полипов

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: полип эндометрия, иммуногистохимия, рецепторы эстрогена и прогестерона, пролиферативная активность.

Рассмотрены особенности экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, а также маркера пролиферации Ki-67 на гистологических срезах полипов эндометрия с помощью иммуногистохимического метода с использованием моноклональных антител. Установлены различия в их экспрессии между гиперпластическими и железисто-фиброзными полипами, а также влияние функциональной морфологии фонового эндометрия на гормонально-рецепторный статус и пролиферативную активность полипов. Выявлено изменение нормального цикл-зависимого индекса клеточной пролиферации в фоновом эндометрии вследствие наличия эндометриального полипа в полости матки.

Особливості гормонально-рецепторного статусу та проліферативної активності ендометріальних поліпів

А.В. Євсєєв, М.М. Баударбекова, І.О. Кузьо

Розглянуто особливості експресії рецепторів естрогену та прогестерону, а також маркера проліферації Ki-67 на гістологічних зрізах поліпів ендометрію за допомогою імуногістохімічного методу з використанням моноклональних антитіл. Встановлено розбіжності в їх експресії між гіперпластичними й залозисто-фіброзними поліпами, а також вплив функціональної морфології фонового ендометрію на гормонально-рецепторний статус і проліферативну активність поліпів. Виявлено зміни нормального цикл-залежного індексу клітинної проліферації у фоновому ендометрії внаслідок наявності ендометріального поліпа в порожнині матки.

Ключові слова: поліп ендометрію, імуногістохімія, рецептори естрогену та прогестерону, проліферативна активність.

Патологія. – 2011. – Т.8, №2. – С. 114–117

The features of hormone-receptor status and proliferative activity of endometrial polyps

A.V. Evseyev, M.M. Baudarbekova, I.A. Kuzyo

The features of estrogen and progesterone receptors expression as well as proliferation marker Ki-61 on histological sections of endometrial polyps by means of the immunohistochemical method using monoclonal antibodies are considered in the work. The differences of their expression in hyperplastic and glandular-fibrous polyps, as well as the influence of the functional morphology of background endometrium in hormone-receptor status and proliferative activity of polyps were established. The change of the normal cycle-dependent cell proliferation index in the background endometrium due to the presence of endometrial polyps in the uterus was identified.

Key words: endometrial polyp, immunohistochemistry, estrogen and progesterone receptors, proliferative activity.

Pathologia. 2011; 8(2): 114–117

Гиперпластические процессы эндометрия, в том числе полипы эндометрия (ПЭ), являются распространенной гинекологической патологией и наблюдаются у 40–70% женщин в перименопаузальном периоде [6,8,10,12], а также у пациенток репродуктивного возраста. Они относятся к гиперпластическим процессам эндометрия, но в отличие от железистой гиперплазии эндометрия (ЖГЭ), их возникновение не связано с гиперэстрогенией. В последние годы отмечается рост заболеваемости гиперпластическими процессами и раком эндометрия, что связывают как с увеличением средней продолжительности жизни, так и с неблагоприятной экологической обстановкой, ростом числа хронических соматических заболеваний и со снижением иммунитета у женщин [1].

ПЭ обычно развиваются путем пролиферации эпителия желез базального слоя эндометрия. Вначале разрастающиеся железы и окружающая их строма образуют полиповидный вырост на широком основании, позднее

формируется ножка различной толщины, в которую могут быть втянуты мышечные волокна. Железы и строма ПЭ могут иметь разнообразную гистологическую структуру [4,5,8–11], на основании которой выделяют несколько морфологических форм ПЭ, их морфологические признаки часто сочетаются, вследствие чего эта классификация не имеет особого клинического значения.

По морфогенезу можно выделить два типа ПЭ: содержащие элементы функционирующего эндометрия и полипы, состоящие из желез базального типа. Первые реагируют на действие эстрогенов и прогестерона, как и окружающая их ткань эндометрия, в то время как вторые слабее отвечают на действие прогестерона. Вопрос о возможности малигнизации полипов вплоть до настоящего времени остается неясным. Однако отмечено, что в полипах иногда обнаруживаются аденокарциномы эндометриоидного и серозного типов, а также саркомы и смешанные опухоли [2].

Несмотря на наличие большого числа исследований, вопросы своевременной диагностики и лечения гиперпластических процессов эндометрия не теряют своей актуальности, что обусловлено, в первую очередь, риском развития на их фоне рака эндометрия. Известно, что эндометрий является гормонально чувствительной тканью, реагирующей на воздействие половых гормонов (эстрогенов и прогестерона) вследствие наличия в клетках специфических рецепторов. При этом гормональная заместительная терапия не является фактором риска развития ПЭ [3,7]. Несмотря на то, что экспрессия рецепторов эстрогена (ER), прогестерона (PR) и маркера пролиферации клеток Ki-67 в нормальном и гиперпластическом эндометрии, а также при различных новообразованиях изучена достаточно хорошо, в специальной литературе практически отсутствуют данные об изменениях экспрессии этих молекул в ПЭ.

Цель работы

Изучение профиля экспрессии гормональных рецепторов (ER и PR) и антигена клеточной пролиферации Ki-67 в ПЭ, сравнительный анализ их экспрессии во фрагментах ПЭ и эндометрия вне полипа, а так же выявление корреляционной зависимости между экспрессией рецепторов стероидных гормонов и пролиферативной активностью клеток ПЭ и фонового эндометрия.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на материале соскобов эндометрия 80 женщин в возрасте от 24 до 52 лет (средний возраст составил $37,6 \pm 0,96$ лет) с патогистологически верифицированным диагнозом ПЭ. Диагноз «железисто-фиброзный» и «гиперпластический полип» установлен у 43 и 37 женщин соответственно. Исследовали патоморфологические особенности ПЭ и эндометрия вне полипов (фон). Материал разделен на 2 группы в соответствии с установленными диагнозами, в каждой из которых, в зависимости от функциональной морфологии фонового эндометрия, выделялись соответствующие подгруппы. В парафиновых срезах определяли содержание ER и PR, а также показатель клеточной пролиферации с помощью иммуногистохимической (ИГХ) реакции с использованием моноклональных антител. Для этого проводили депарафинизацию и регидратацию срезов толщиной 4–5 мкм, полученных с помощью прецизионного ротационного микротомы HM 500 O («MICROM Laborgeräte GmbH», Германия) и помещенных на адгезивные стекла Super Frost Plus («Menzel Glaser», Германия). После высокотемпературной демаскировки в Трис-ЭДТА буфере pH 9,0 на срезы наносили первичные антитела против рецепторов эстрогена (Mo a-Hu Estrogen Receptor, Clone 1D5), рецепторов прогестерона (Mo a-Hu Progesterone Receptor, Clone PgR 636) и маркера клеточной пролиферации Ki-67 (Mo a-Hu Ki-67 Antigen, Clone MIB-1). Визуализацию продуктов реакции проводили с использованием системы детекции EnVision+ с хромогеном DAB+ (все реактивы фирмы «ДАКО», США). Препараты докрасивали гематоксилином Майера, заключали в бальзам и оценивали результаты ИГХ-реакции с по-

мощью светового микроскопа Axioplan 2 («Carl Zeiss», Германия).

Оценку результатов ИГХ-реакции проводили полуквантитативным методом путем подсчета процента позитивно окрашенных ядер (отдельно в железах и строме ПЭ и фонового эндометрия) и интенсивности окрашивания, которую оценивали визуально. В каждом случае оценивали от 1000 до 1500 клеток. Результаты ИГХ-реакции для ER и PR оценивали в баллах по шкале Allred (сумма баллов количества иммуноокрашенных клеток и интенсивности окрашивания). Для этого количество ИГХ-позитивных клеток оценивали в баллах следующим образом: 0=0% клеток, 1=0,1–1% клеток, 2=2–10% клеток, 3=11–33% клеток, 4=34–66% клеток, 5=67–100% клеток, а интенсивность окрашивания оценивали в баллах следующим образом: 0 – отсутствие окрашивания, 1 – слабое, 2 – умеренное, 3 – выраженное окрашивание. Оценку результатов ИГХ-реакции для антигена Ki-67 оценивали в баллах следующим образом: 0=0–5% клеток, 1=6–25% клеток, 2=26–50% клеток, 3=51–75% клеток, 4=76–100% клеток. Числовые результаты исследования обрабатывали статистически с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение

В результате количественного анализа (табл. 1) экспрессии ER и PR в железах и строме ПЭ выявлено, что наибольшее содержание рецепторов эстрогенов ($3,67 \pm 0,17$ баллов) и прогестерона ($6,0 \pm 0,26$ баллов) отмечалось в эпителиоцитах эндометриальных желез железисто-фиброзных ПЭ, а наименьший их уровень наблюдался в строме гиперпластических ПЭ ($1,67 \pm 0,07$ и $4,5 \pm 0,21$ баллов соответственно). Интенсивность ИГХ-окрашивания ER в большинстве иммунопозитивных случаев была слабо- или умеренно-выраженной (рис. 1, цв. вкладка 4), в отличие от PR, для которых характерным было наличие умеренного или выраженного окрашивания (рис. 2, цв. вкладка 4). При этом следует отметить, что экспрессия ER в железах и строме ПЭ выявлялись далеко не у всех больных с позитивной экспрессией PR, т. е. в ряде случаев наблюдался фенотип ER-/PR+, который имел место в 71,43% случаев гиперпластических и в 24,53% железисто-фиброзных ПЭ (рис. 3, цв. вкладка 4). Фенотип ER+/PR+ имел место в 28,57% гиперпластических и 54,72% железисто-фиброзных ПЭ. В 20,75% железисто-фиброзных ПЭ экспрессия гормональных рецепторов отсутствовала – тип ER-/PR-. Обращает на себя внимание, что ни в одном из образцов не отмечен профиль экспрессии рецепторов по типу ER+/PR-.

Количественный анализ маркера пролиферации Ki-67 в ПЭ показал, что уровень его экспрессии несколько выше в гиперпластических ПЭ, по сравнению с железисто-фиброзными ПЭ (табл. 1). Экспрессия данного маркера также была более выражена в эндометриальных железах полипов в сравнении с их стромой (рис. 4, цв. вкладка 4). Так, гиперпластические ПЭ имели средний индекс клеточной пролиферации (в баллах) $1,67 \pm 0,08$ в железах и $0,83 \pm 0,04$ в строме, а железисто-фиброзные

– 1,29±0,05 и 0,55±0,02 соответственно. При этом экспрессия Ki67 отсутствовала или наблюдалась лишь в небольшом проценте (0–1 балла) клеток желез 57,14% всех гиперпластических и 60,38% – железисто-фиброзных ПЭ. Высокий индекс пролиферации (3–4 балла) отмечен в железах лишь 14,29% гиперпластических и 18,87% железисто-фиброзных ПЭ.

Так же проведен корреляционный анализ между экспрессией гормональных рецепторов и индексом клеточной пролиферации в структурах ПЭ. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии сильной связи между этими показателями. Так, отмечена средняя связь между экспрессией рецепторов и Ki-67 в ядрах клеток желез ПЭ (коэффициент Пирсона $r=0,63$ для ER и $r=0,62$ для PR). В строме полипов корреляционная связь между этими показателями была слабой ($r=0,07$ для ER и $r=0,13$ для PR).

При сравнении количественных данных экспрессии изучаемых антигенов в ПЭ с таковой в фоновом эндометрии принималось во внимание его функционально-морфологическое состояние. Так, гиперпластические ПЭ развивались, как правило, на фоне ЖГЭ – 71,43%; в 28,57% случаев они определялись рядом с фрагментами эндометрия секреторного типа. Спектр функциональной морфологии эндометрия, служившего фоном для железисто-фиброзных ПЭ, был достаточно широким, и включал в себя пролиферативный (43,39%), секреторный (18,87%), позднепролиферативный/раннесекреторный (15,09%), десквамативный (5,67%) и инволютивный (3,77%) эндометрии. В 13,21% железисто-фиброзные ПЭ развивались на фоне ЖГЭ.

Полученные данные говорят о достоверных отличиях в экспрессии маркеров в ПЭ, в зависимости от морфологии фонового эндометрия. Как видно из *табл. 1*, при гиперпластических ПЭ наибольшие различия наблюдались в экспрессии ER, которая в железах составляла 6,5±0,29 баллов в том случае, когда полип имел место на фоне секреторного эндометрия, и 0,4±0,02 баллов – на фоне

ЖГЭ. Экспрессия Ki-67 в этих ПЭ достоверно различалась в железах (2,0±0,08 и 1,2±0,05 балла соответственно) и, особенно, в строме ПЭ (2,0±0,09 и 0,2±0,01 баллов соответственно). Различия в экспрессии PR значительно менее выражены. Динамика изменения экспрессии исследуемых маркеров в структурах гиперпластических ПЭ и фонового эндометрия в большинстве случаев была сходной, наибольшие различия отмечались в экспрессии Ki-67 в тех случаях, когда ПЭ обнаруживались на фоне секреторного эндометрия (2,0±0,08 балла в железах ПЭ против 0,5±0,02 баллов в железах эндометрия). Также обращает на себя внимание крайне низкий уровень экспрессии ER в железах и строме гиперпластических ПЭ на фоне ЖГЭ с одновременным снижением его экспрессии в гиперпластически измененном эндометрии.

Значительно большие различия в экспрессии маркеров наблюдались при железисто-фиброзных ПЭ. Отчасти это обусловлено тем, что эти ПЭ обнаруживались на фоне широкого спектра функционально-морфологических изменений фонового эндометрия – от пролиферативного до десквамативного и инволютивного, а также ЖГЭ. Наибольшее количество ER в структурах этих полипов отмечалась в тех случаях, когда последние обнаруживались на фоне эндометрия фазы десквамации (5,5±0,24 баллов в железах и 4,5±0,19 баллов в строме), а наименьшее – на фоне инволютивного эндометрия (1,0±0,04 и 3,0±0,12 баллов соответственно). Максимально выраженная экспрессия PR в ПЭ наблюдалась на фоне ЖГЭ (7,43±0,32 баллов в железах и 6,14±0,27 баллов в строме) и эндометрия поздней стадии фазы пролиферации – начала секреции (7,13±0,32 и 7,11±0,31 баллов соответственно). Индекс клеточной пролиферации, определяемый по экспрессии Ki-67, в большинстве случаев определялся как низкий с достоверным значительным преобладанием экспрессии этого антигена в железах ПЭ по сравнению со стромой (*табл. 1*).

При сравнении показателей экспрессии ER, PR и Ki-67 в структурах ПЭ и фонового эндометрия выявлены

Таблица 1

Экспрессия гормональных рецепторов и маркера клеточной пролиферации в ПЭ и фоновом эндометрии

Фоновый эндометрий	ER		PR		Ki-67	
	железы	строма	железы	строма	железы	строма
Гиперпластические полипы:						
Секреция	6,5/5,5	3,0/2,0	7,0/4,0	4,0/2,0	2,0/0,5	2,0/1,0
Железистая гиперплазия	0,4/0,4	0,8/1,2	6,6/6,0	5,2/3,0	1,2/1,2	0,2/0,2
ВСЕГО	2,5/1,86	1,67/1,43	6,5/5,43	4,5/2,71	1,67/1,0	0,83/0,43
Железисто-фиброзные полипы:						
Пролиферация	4,35/4,0	3,57/3,3	6,91/6,65	5,35/5,22	1,61/1,74	0,74/0,52
Пролиферация/секреция	5,25/5,25	4,38/4,75	7,13/7,5	7,11/6,75	1,88/1,25	0,63/0,25
Секреция	1,6/1,8	1,2/1,4	3,0/1,9	5,2/3,0	0,6/0,1	0,3/0,1
Десквамация	5,5/1,5	4,5/3,5	4,5/1,0	6,5/3,5	0/0	0/0
Инволюция	1,0/1,5	3,0/3,0	2,0/1,5	5,5/5,0	0/0	0/0
Железистая гиперплазия	3,57/3,86	4,29/4,14	7,43/7,57	6,14/5,86	1,71/1,86	0,86/0,29
ВСЕГО	3,67/3,49	3,33/3,21	6,0/5,55	5,59/4,98	1,29/1,23	0,55/0,32

Примечание: в ячейках таблицы через знак дроби указана экспрессия маркеров в структурах полипа и фоновом эндометрии (в баллах), $p<0,05$.

определенные особенности. Так, количество ER мало отличалось в структурах ПЭ, по сравнению с фоновым эндометрием во всех группах, за исключением тех случаев, когда фоном полипа был эндометрий фазы десквамации ($5,5 \pm 0,24$ баллов в железах ПЭ против $1,5 \pm 0,07$ баллов в железах эндометрия). Аналогичная ситуация наблюдалась и при анализе экспрессии PR ($4,5 \pm 0,18$ баллов в железах ПЭ против $1,0 \pm 0,04$ баллов в железах десквамативного эндометрия). Корреляционный анализ выявил сильную связь между экспрессией гормональных рецепторов в структурах ПЭ и фоновом эндометрии (коэффициент Пирсона $r=0,8-1,0$). Изменения индекса клеточной пролиферации носили более обширный характер (табл. 1); разница в экспрессии Ki-67 в структурах ПЭ и фонового эндометрия возрастала при изменении типа последнего с пролиферативного на секреторный, а также была относительно большей в строме, по сравнению с железами. При этом определялась умеренная корреляционная связь между экспрессией Ki-67 в структурах ПЭ и эндометрия ($r=0,37-0,69$). Обращает на себя внимание, с одной стороны, влияние функционально-морфологического состояния эндометрия на показатель пролиферации клеток ПЭ, а с другой – изменение нормальных значений индекса клеточной пролиферации в фоновом эндометрии, обусловленное наличием в полости матки ПЭ. Так, более высокий показатель пролиферативной активности клеток имели ПЭ на фоне пролиферативного, позднепролиферативно/раннесекреторного эндометрия и ЖГЭ ($1,61 \pm 0,08$, $1,88 \pm 0,09$ и $1,71 \pm 0,08$ баллов соответственно), а клетки ПЭ на фоне десквамативного и инволютивного эндометрия вообще не показывали пролиферативной активности, как и клетки фонового эндометрия. Напротив, при наличии ПЭ на фоне эндометрия, имеющего морфологию пролиферативного, который в норме должен иметь самый высокий индекс клеточной пролиферации (3–4 балла), отмечалось достоверное снижение этого показателя до $1,74 \pm 0,07$ баллов в железах и $0,72 \pm 0,03$ баллов в строме. Детальное изучение и молекулярно-морфологическое обоснование данного феномена будет целью наших дальнейших исследований.

Выводы

Количественный анализ распределения ER, PR и Ki-67 показал существенные различия их экспрессии в структурах гиперпластических и железисто-фиброзных ПЭ.

Сравнительный и корреляционный анализ данных маркеров показал достоверные отличия их экспрессии в ПЭ, в зависимости от функциональной морфологии фонового эндометрия.

Выявлено взаимное влияние функционально-морфологического состояния фонового эндометрия на пролиферацию клеток ПЭ и изменение нормальной экспрессии Ki-67 в фоновом эндометрии, обусловленное наличием ПЭ.

Литература

1. Антонова И.Б. Индивидуализация диагностической и лечебной тактики при гиперпластических процессах эндометрия в периоде перименопаузы: автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Антонова И.Б. – 2000. – 18 с.
2. Чепик О.Ф. Морфогенез гиперпластических процессов эндометрия / Чепик О.Ф. // Практическая онкология. – 2004. – Т. 5, №1. – С. 9–15.
3. Bakour S.H. Risk factors associated with endometrial polyps in abnormal uterine bleeding / Bakour S.H., Gupta J.K., Khan K.S. // Int. J. Gynaecol. Obstet. – 2002. – Vol. 76. – P. 165–168.
4. Buckley C.H. Biopsy pathology of the endometrium / Buckley C.H., Fox H. – 2nd ed. – London: Arnold, 2002.
5. Dallenbach-Hellweg G. Histopathology of the endometrium / Dallenbach-Hellweg G. – 4th ed. – NY: Springer-Verlag, 1987.
6. Dueholm M. Transvaginal sonography combined with saline contrast sonohysterography in premenopausal patients with abnormal uterine bleeding / Dueholm M., Forman A., Jensen M.L. et al. // Ultrasound Obstet Gynecol. – 2001. – Vol. 18. – P. 54–61.
7. Perrone G. Hysteroscopic findings in postmenopausal abnormal uterine bleeding: a comparison between HRT users and non-users / Perrone G., DeAngelis C., Critelli C. et al. // Maturitas. – 2002. – Vol. 43. – P. 251–255.
8. Peterson W.F. Endometrial polyps / Peterson W.F., Novak E.R. // Obstet. Gynecol. – 1956. – Vol. 8. – P. 40–49.
9. Schlaen I. Endometrial polyps: A study of 204 cases / Schlaen I., Bergeron C., Ferenczy A. et al. // Surg. Pathol. – 1988. – Vol. 1. – P. 375–382.
10. Sherman M.E. Benign diseases of the endometrium / Sherman M.E., Mazur M.T., Kurman R.J. // Kurman R.J., ed. Blaustein's pathology of the female genital tract / Kurman R.J., ed. – 5th ed. – NY: Springer-Verlag. – 2002. – P. 421–466.
11. Silverberg S.G. Tumors of the uterine corpus and gestational trophoblastic disease. Atlas of tumor pathology / Silverberg S.G., Kurman R.J. – 3rd series, Fascicle 3. – Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1992.
12. Van Bogaert L.-J. Clinicopathologic findings in endometrial polyps / Van Bogaert L.-J. // Obstet. Gynecol. – 1988. – Vol. 71. – P. 771–773

Сведения об авторах:

Евсеев А.В., к. мед. н., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.

Баударбекова М.М., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.

Кузьо И. А., студентка 3 курса медицинского факультета ЗГМУ.

Адрес для переписки:

Евсеев Антон Владимирович. 69035, г. Запорожье, пр. Маяковского, 26.

Тел.: (061) 766 32 04. E-mail: evseevanton@ukr.net

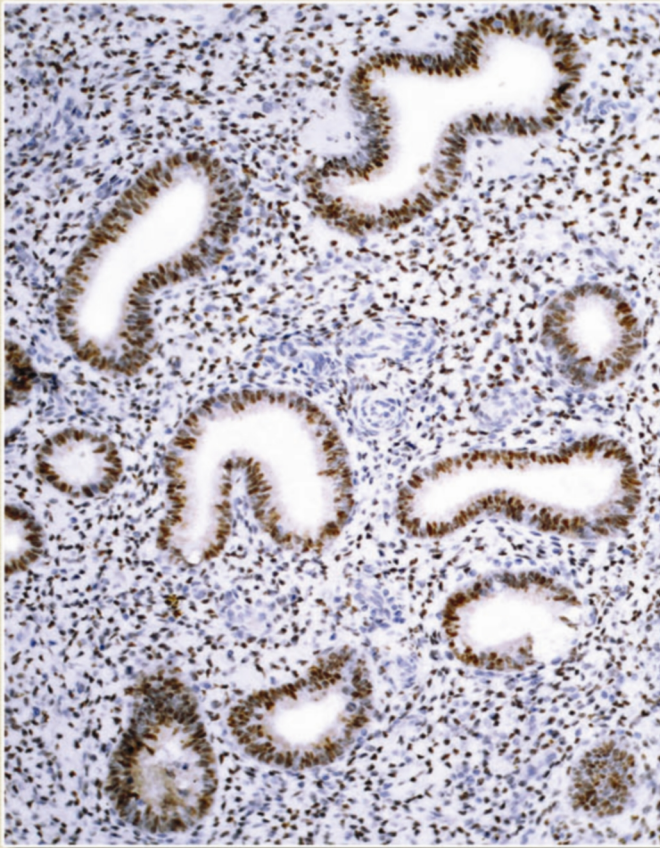


Рис. 1. Экспрессия рецепторов эстрогена в структурах гиперпластического полипа эндометрия. Индекс по шкале Allred – 6 баллов в железах, 5 баллов в строме. ИГХ реакция с антителами против ER, система визуализации DAKO EnVision+, хромоген DAB+. Ув. x 200.

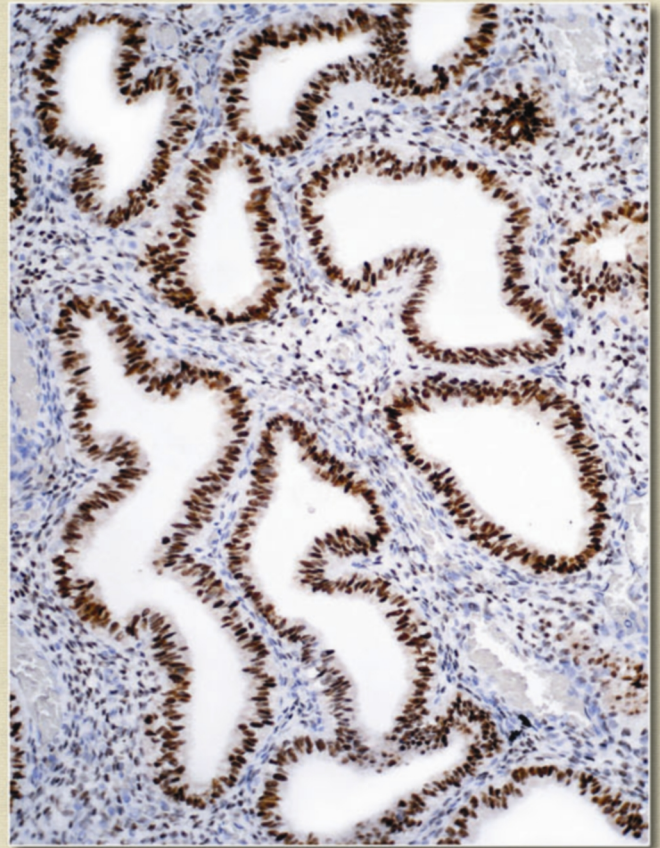


Рис. 2. Экспрессия рецепторов прогестерона в структурах гиперпластического полипа эндометрия. Индекс по шкале Allred – 8 баллов в железах, 6 баллов в строме. ИГХ реакция с антителами против PR, система визуализации DAKO EnVision+, хромоген DAB+. Ув. x 200.

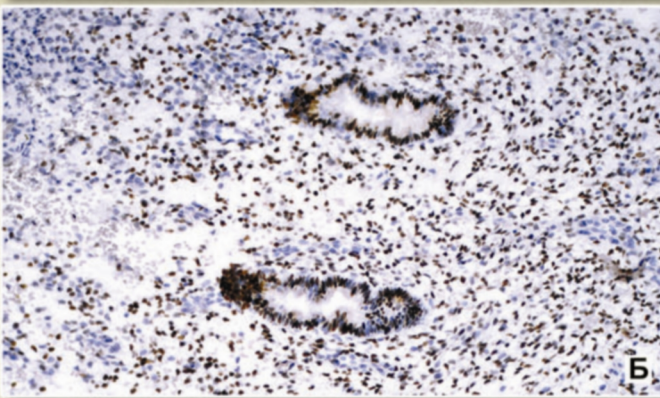
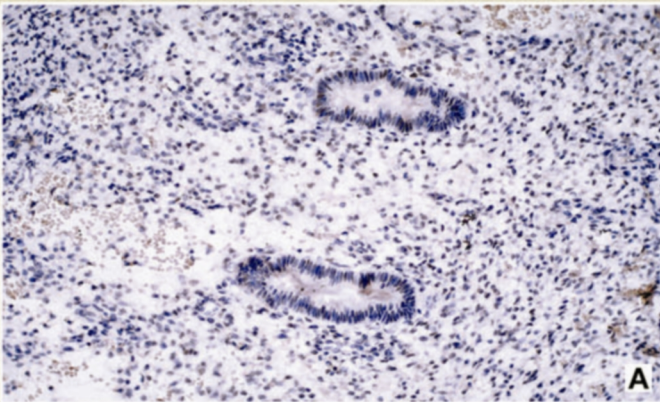


Рис. 3. Фенотип ER-/PR+ в структурах железисто-фиброзного полипа эндометрия. ИГХ реакция с антителами против ER (А) и PR (Б), система визуализации DAKO EnVision+, хромоген DAB+. Ув. x 100.

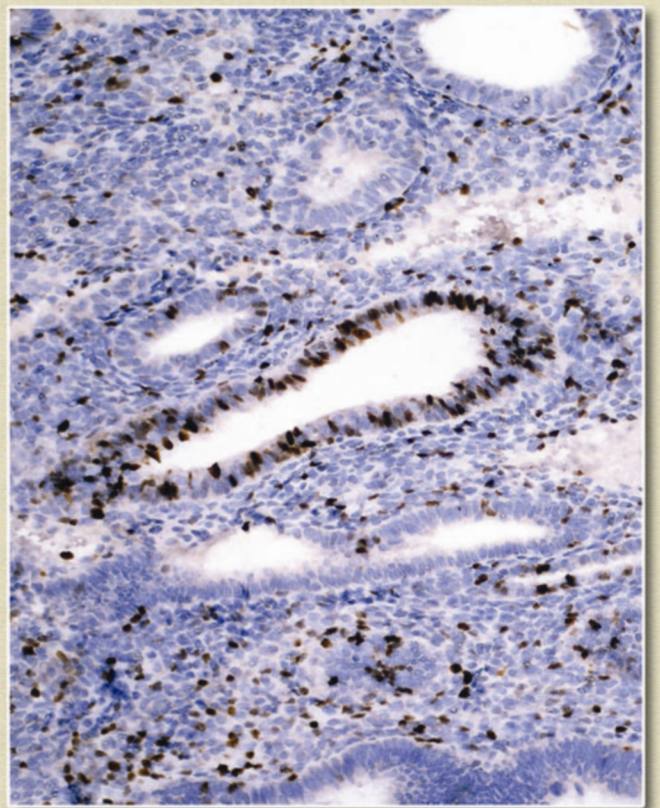


Рис. 4. Экспрессия маркера пролиферации Ki-67 в структурах железисто-фиброзного полипа эндометрия. ИГХ реакция с антителами против Ki-67 Antigen, система визуализации DAKO EnVision+, хромоген DAB+. Ув. x 400.

(Рис. 1–4 к статье А.В. Евсеева, М.М. Баударбековой, И.А. Кузьо «Особенности гормонально-рецепторного статуса и пролиферативной активности эндометриальных полипов», с. 114–117)