International journal of endocrinology

Оригинальные исследования
/Original Researches/

УДК 618.14-006-036

ДАНИЛЮК С.В.
Харківська медична академія післядипломної освіти

РЕЦЕПЦІЯ СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ, ОСОБЛИВОСТІ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА АПОПТОЗУ В КАРЦИНОМАХ ЕНДОМЕТРІЮ В ПАЦІЄНТОК ІЗ ФЕНОМЕНОМ МІКРОСАТЕЛІТНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ

Резюме. *На операційному матеріалі вивчено морфологічні особливості раку ендометрію з мікросателітною нестабільністю. Наявність у пацієнток цього феномена обумовлює переважання ендометріоїдних форм карцином, позитивний рецепторний статус, підвищення проліферативної активності пухлинних клітин, зниження здатності до апоптозу.*

Ключові слова: *карциноми ендометрію, рецепція естрогену та прогестерону, проліферативна активність, апоптоз.*

Рак ендометрію (РЕ) посідає сьоме місце серед причин смертності від злоякісних новоутворень у Європі, зокрема і в Україні, і становить 1–2 % від усіх смертей внаслідок ракових захворювань [1, 2]. У 20 % випадків РЕ діагностують у дітородному віці, і тенденція до зростання захворюваності в цей період продовжує збільшуватися [4].

Різні фактори ризику, гістопатологічні варіанти та молекулярні механізми розвитку пухлини призводять до двох патогенетичних варіантів РЕ. Перший патогенетичний варіант — гормонозалежний, в основному пухлини ендометріоїдного типу будови (на тлі ожиріння, безплідності, пізнього настання менопаузи, цукрового діабету, тривалого безконтрольного впливу гормональних препаратів, що містять естрогени). Другий патогенетичний варіант — автономний, для нього більш притаманні неендометріоїдні пухлини [3, 6, 7]. Обидва варіанти характеризуються різними молекулярно-генетичними порушеннями. Одним із них є RER+ (replication error)-фенотип, що називають також мікросателітною нестабільністю (МСН), що відображає дефект репарації неспарених основ ДНК [5, 8, 9]. Дослідження в галузі молекулярної біології патогенезу карцином ендометрію остаточно не з'ясовані, що вказує на можливість використання МСН для оцінки перебігу, прогнозу та особливостей лікування цього захворювання. Тому метою нашої роботи було вивчити морфологічні особливості РЕ у хворих із МСН.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження стали спостереження РЕ переважно I–II стадії в пацієнток, які перенесли радикальні хірургічні втручання в Харківському обласному клінічному онкологічному центрі.

Для виявлення МСН у всіх хворих у тканині пухлини був використаний метод полімеразно-ланцюгової реакції [10]. Дослідження проводили в лабораторії «Вірола», ХМАПО.

Для вивчення морфологічних особливостей РЕ нами було проведено гістологічне дослідження оперативно видалених пухлин тіла матки в 342 пацієнток. Посічені фрагменти пухлин фіксували в 10% розчині забуферованого формаліну та заливали в парафін. З приготованих парафінових блоків виготовляли серійні зрізи товщиною 3–4 мкм, що поміщали на предметні скельця для стандартного забарвлення гематоксиліном і еозином і на адгезивні скельця для імуногістохімічного дослідження.

Імуногістохімічним методом виявляли в пухлинних клітинах експресію рецепторів естрогену, прогестерону, маркера проліферативної активності Ki-67 (Mib-1) і маркера апоптозу bcl-2 (124) з використанням первинних моноклональних антитіл (МКАТ), Rady-to-Use та системи детекції LSAB-2 System, HRP+DAB, фірма DAKO (Данія). Комплекс морфологічних і морфометричних досліджень проводився на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) з використанням програм AxioCam (ERc 5s) і Microsoft Excel.

Адреса для листування з автором:
Данилюк С.В.
E-mail: DanilyukSvetlana@yandex.ru

© Данилюк С.В., 2015
© «Міжнародний ендокринологічний журнал», 2015
© Заславський О.Ю., 2015

Результати дослідження та їх обговорення

На частку ендометріоїдного раку з 342 спостережень припадало 275 випадків (80,4 %), тоді як решта 67 (19,6 %) пухлин не демонстрували ендометріоїдних ознак.

Серед пацієнток з ендометріоїдним раком аденокарцинома різного ступеня диференціювання зафіксована в 249 випадках (90,5 %). Найбільш часто відмічалася аденокарцинома помірного — 37,8 % (G2) і високого ступеня диференціювання — 33,7 % (G1). Трохи менше 1/3 ендометріоїдних аденокарцином відносилися до низькодиференційованого (G3) раку (28,5 %). Аденосквамозний рак і аденоакантома відмічалися лише в 15 і 11 випадках відповідно, що в межах групи становило 5,5 і 4,0 %.

Серед неендометріоїдних пухлин понад 2/3 новоутворень відносилося до серозно-папілярного раку (45 випадків або 67,2 %), у 22 випадках (32,8 %) нами виявлено світлоклітинну карциному ендометрію.

Наявність МСН у хворих на РЕ встановлено в 115 випадках із 342 (33,6 %), до того ж переважна їх кількість відносилася до групи ендометріоїдних новоутворень — 40,4 %.

При ендометріоїдних неоплазмах найчастіше МСН була встановлена при аденосквамозному раці (у 66,7 % випадках). Практично в рівних частках (39,0 і 36,4 %) МСН виявлена при ендометріоїдній аденокарциномі та аденоакантомі, однак найбільш вірогідними ці значення виявилися при аденокарциномі.

Частота МСН при РЕ неендометріоїдних гістологічних форм не перевищувала 6,0 % (4 спостереження з 67). На серозно-папілярний рак і світлоклітинну карциному з МСН припадало по 2 випадки (4,5 і 9,1 % відповідно).

За ступенем диференціювання МСН+-ендометріоїдні аденокарциноми розподілилися у такий спосіб. МСН+-пухлинні тканини в 3,1 раза частіше виявлялися в групі аденокарцином G3, ніж G1: 42 випадки з 71 (59,2 %) проти 16 із 84 (19,0%), і в 2,2 раза частіше, ніж при ступені диференціювання пухлин G2 — у цій групі МСН+-карциноми виявилися в 41,5 % випадків (39 із 94). Таким чином, можна відзначити, що найбільш часто МСН виявляється в низькодиференційованих ендометріоїдних раках і аденосквамозних пухлинах.

Імуногістохімічні особливості РЕ тісно пов'язані з їх гістологічною формою та ступенем їх морфологічного диференціювання. Дослідження рецепторного статусу (естрогену (ER) і прогестерону (PR)), проліферативної активності (Ki-67) і особливостей апоптозу (bcl-2) в пухлинах проведено нами в 61 випадку. З них 53 карциноми були представлені ендометріоїдними формами, у тому числі МСН+ (27 пухлин), МСН– (26), 8 — неендометріоїдними як МС+, так і МСН– (по 4 спостереження).

Близько 70 % ендометріоїдних РЕ мали позитивний рецепторний статус, до того ж рецептори естрогену виявлялися з певною сталістю як в МСН+-, так і в МСН(–)-пухлинній тканині: 19 спостережень із 27 (70,4 %) і 18 із 26 (69,2 %) відповідно. Прогестеронпозитивні новоутворення з МСН+-статусом тканини виявлялися частіше — 77,8 проти 65,4 %.

Значення вказаних показників мали суттєві коливання при різних ступенях диференціювання ендометріоїдних карцином. Так, 75,0 і 77,8 % естрогенпозитивних неоплазм були аденокарциномами G1 і G2. І якщо при G2 частки МСН+- і МСН(–)-пухлин були рівними (по 7 спостережень із 9 у кожній групі — 77,8%), то при аденокарциномі G1 естрогенпозитивними були переважно МСН(–)-пухлини (80,0 проти 70,0 %). У групі низькодиференційованих ендометріоїдних аденокарцином чутливість до естрогену показали тільки 5 із 15 РЕ (33,4 %), і переважна їх кількість мала МСН+-статус (50,0 проти 14,3 %).

Частота новоутворень, чутливих до прогестерону, прогресивно зменшувалася зі зниженням ступеня диференціювання ендометріоїдних форм РЕ і становила відповідно 16 із 20 — 80,0 ± 8,9 % (G1), 11 із 18 — 61,2 ± 11,5 % (G2) і 7 із 15 — 46,7 ± 12,9 % (G3). Найбільше число прогестеронпозитивних пухлин виявилося в групі G1, причому з МСН+-карциноми їх було 90,0 %, тоді як прогестеронпозитивні МСН(–)-пухлини становили 70,0 %. Помірно диференційовані аденокарциноми демонстрували як меншу варіабельність величини досліджуваного показника, так і незвичність його частоти виявлення: у 66,7 % випадках це були спостереження з МСН(–)-статусом. 55,6 % пухлин належали до МСН+-тканини. У групі аденокарцином G3 число прогестеронпозитивних МСН+ РЕ було більше ніж удвічі вищим порівняно з МСН– (62,5 проти 28,6 %).

Половина всіх ендометріоїдних РЕ демонстрували позитивну реакцію з маркером проліферативної активності Ki-67 (50,9 %). Слід відзначити, що з них число МСН+-пухлин було в 1,5 раза меншим, ніж МСН– (40,7 і 61,5 %). Величина цього показника зростала зі зниженням ступеня диференціювання ендометріоїдних карцином від 40,0 до 60,0 %. Якщо в групі G1 із 8 Ki-67-позитивних пухлин тільки дві мали МСН+-характеристику (20,0 %), то в групі G2 аналогічних утворень було вже 44,5 %, при низькодиференційованих ендометріоїдних раках число таких новоутворень зросло більше ніж утричі (до 62,5 %).

Дещо іншим було виявлення в ендометріоїдних раках маркера апоптозу bcl-2. Загалом ми виявили цей антиген у 38 спостереженнях із 53 (71,7 %). Однак частка bcl-2-позитивних пухлин зменшувалася в групі G2 і зростала при низького ступеня диференціюванні аденокарцином: 14 із 20 спостережень — 70,0 %, 8 із 18 — 44,5 % і 9 із 15 — 60,0 % відповідно. Незважаючи на своєрідний «провал» величини цього показника у випадках по-

мірно диференційованих карцином, частота bcl-2-позитивної МСН+-пухлинної тканини завжди була вищою, ніж частота bcl-2-негативної МСН(–)-тканини. При G1 це відмічалося в 80,0 % випадків проти 60,0 %, при G2 — в 66,7 % проти 22,3 % (саме зниження значення останнього показника призвело до різкого «провалу» значення в цілому в групі G2) і 75,0 % аденокарцином G3.

Зміни кількісних імуногістохімічних характеристик ендометріоїдних форм РЕ супроводжувалися і відповідними переміщеннями якості експресії досліджуваних маркерів. Досить висока чутливість до стероїдних гормонів в 80,0 % високодиференційованих новоутворень із МСН+-статусом підтверджувалася стійкою дифузною позитивною реакцією до досліджуваних МКАТ. Аденокарциноми G2 демонстрували різну рецепторну чутливість як для естрогенів, так і для прогестерону; у 75,0 % спостережень вона була помірною, частково нерівномірною. Низькодиференційовані ендометріоїдні карциноми в переважній більшості випадків показували помірну та слабку ядерну експресію стероїдних гормонів із вираженою вогнищевістю забарвлення. Лише в одному спостереженні аденокарциноми G3 ми виявили стійке позитивне фарбування 80 % ядер пухлинних клітин при реакції з МКАТ до PR.

Інтенсивність реакції з МКАТ до Ki-67 у всіх спостереженнях була практично однаковою, однак нами оцінювалася кількість проліферуючих пухлинних клітин. Аденокарциноми G1 виявляли низьку проліферативну активність (про це згадувалося вище) з величиною цієї характеристики не більше 4 %; чисельність клітин, здатних до розмноження, наростала із зниженням ступеня диференціювання новоутворень і в 65 % карцином G3 досягла 70–80 %.

Якість і вираженість експресії маркера апоптозу bcl-2 знижувалися пропорційно зниженню ступеня диференціювання РЕ — від вираженої стійкої в карциномах G1 до слабкої нерівномірної при G3.

Серед неендометріоїдних форм рецептори естрогену ми не виявили, рецептори прогестерону виявлені тільки в одному випадку РЕ серозно-папілярного типу. Ця пухлина мала МСН+-статус, і число прогестеронпозитивних клітин не перевищувало 1 %.

Сім із восьми неендометріоїдних раків (87,5 %) демонстрували проліферативну активність різного ступеня. Усі спостереження з МСН+-пухлинної тканиною виявилися Ki-67-позитивними, тоді як МСН(–)-карциноми показували позитивну реакцію до МКАТ до Ki-67 у 3/4 випадків (3 із 4 — 75,0 %).

Частота виявлення маркера апоптозу bcl-2 не перевищувала загалом 50,0 %, і, як у групі ендометріоїдних раків, він частіше виявлявся в МСН+-пухлинній тканині (75,0 проти 25,0 %), до того ж за різницею величин його показники були ближчими до аденокарцином G2 (66,7 проти 22,3 %).

Якісні характеристики досліджуваних маркерів були близькими до таких при ендометріоїдних формах РЕ.

Висновки

Проведені дослідження показали, що морфологічні характеристики новоутворень мали значні відмінності залежно від наявності або відсутності МСН в пухлинній тканині. Переважна кількість МСН+ РЕ відносилася до групи ендометріоїдних новоутворень, до того ж найбільш часто МСН виявлялася в низькодиференційованих ендометріоїдних раках і аденосквамозних пухлинах. 3/4 МСН+-новоутворень мали позитивний рецепторний статус, причому рецептори прогестерону виявлялися нами частіше, ніж рецептори до естрогену. Найбільше число прогестеронпозитивних пухлин виявилося в групі G1, до того ж із МСН+-карцином їх було 90,0 %. Більшість естрогенпозитивних аденокарцином зі ступенем диференціювання пухлин G1 були переважно МСН(–)-пухлинами (80,0 %). Величина показника проліферативної активності, що виявлялася нами за допомогою МКАТ до Ki-67 (MIB-1), в ендометріоїдних раках наростала зі зниженням ступеня диференціювання карцином і загалом була вищою в МСН+-пухлинах. Неендометріоїдні форми карцином на нашому матеріалі мали негативний рецепторний статус і демонстрували більш високу проліферативну активність в МСН+-новоутвореннях. Частота bcl-2-позитивної МСН+-пухлинної тканини завжди була вищою, ніж частота bcl-2-негативної МСН(–)-тканини як в ендометріоїдних, так і в неендометріоїдних формах РЕ.

Список літератури

1. Берштейн Л.М., Чернобровкина А.Е., Гамаюнова В.Б. и др. Активность ароматазы, тканевое содержание эстрогенов и особенности течения рака тела матки // Вопр. онкол. — 2003. — Т. 49(1). — С. 55-59.

2. Бохман Я.В., Рыбин Е.П. Полинеоплазии органов репродуктивной системы. — СПб.: НИИО им. проф. Н.Н. Петрова, 2001. — 221 с.

3. Васильев Д.А. Активность пероксидазы в ткани рака тела матки: связь с эстрогенизацией и клинико-морфологическими особенностями опухоли: Автореф. дис... канд. мед. наук. — СПб., 2003. — 23 с.

4. Минимальные клинические рекомендации Европейского общества клинической онкологии (ESMO) / Под ред. С.А. Тюлядина, Д.А. Носова, Н.И. Переводчиковой. — М.: Издательская группа РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2010. — 436 с.

5. Double strand break repair components are frequent targets of microsatellite instability in endometrial cancer / C. Bilbao, R. Ramírez, G. Rodríguez et. al. // European Journal of Cancer Prevention. — 2010. — V. 46, № 15. — P. 2821-2827.

6. Guzeloglu Kayisli O., Kayisli U.A., A Rejjal R. et al. Regulation of PTEN (Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) expression by estradiol and progesterone in human

endometrium // J. Clin. Endocrinol. Metabol. — 2003. — V. 88. — P. 5017-5022.

7. Lukanova A., Lundin E., Micheli A. et al. Circulating levels of sex steroid hormones and risk of endometrial cancer in postmenopausal women // Int. J. Cancer. — 2004. — Vol. 108. — P. 425-432.

8. Abbaszadegan M.R. Microsatellite instability in young women with endometrioid type endometrial cancer / M.R. Abbaszadegan, H. Asadzadeh Aghdayi, F. Rastin et al. // Iranian J. Publ. Health. — 2009. — V. 38, № 3. — P. 24-30.

9. Soliman P.T. Endometrial cancer associated with defective DNA mismatch repair / P.T. Soliman, K. Lu // Obstetrics and Gynecology clinics of North America. — 2007. — V. 34, № 4. — P. 701-715.

10. Shia J. Routinely assessed morphological features correlate with microsatellite instability status in endometrial cancer / J. Shia, D. Black, A.J. Hummer et al. // Human pathology. — 2008. — V. 39, № 1. — P. 116-125.

Отримано 12.05.15

Данилюк С.В.
Харьковская медицинская академия последипломного образования

РЕЦЕПЦИЯ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ, ОСОБЕННОСТИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА В КАРЦИНОМАХ ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК С ФЕНОМЕНОМ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ

Резюме. На операционном материале изучены морфологические особенности рака эндометрия с микросателлитной нестабильностью. Наличие у пациенток этого феномена обусловливает преобладание эндометриоидных форм карцином, позитивный рецепторный статус, повышение пролиферативной активности опухолевых клеток, снижение способности к апоптозу.

Ключевые слова: карциномы эндометрия, рецепция эстрогена и прогестерона, пролиферативная активность, апоптоз.

Danyliuk S.V.
Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

RECEPTION OF STEROID HORMONES, FEATURES OF PROLIFERATION AND APOPTOSIS IN ENDOMETRIAL CARCINOMA IN PATIENTS WITH MICROSATELLITE INSTABILITY PHENOMENON

Summary. On the surgical specimen, we have studied the morphological features of endometrial cancer with microsatellite instability. The presence of this phenomenon in patients causes the prevalence of endometrioid forms of carcinomas, positive receptor status, increased proliferative activity of tumor cells, reduced ability to apoptosis.

Key words: endometrial carcinoma, reception of estrogen and progesterone, proliferative activity, apoptosis.