

Алгоритм діагностики доброякісних захворювань матки на основі даних імуногістохімічного аналізу

М.В. Макаренко, Д.О. Говсеєв, С.В. Грідчин, Р.М. Ворона

Київський міський пологовий будинок № 5

У статті висвітлено питання діагностики доброякісних захворювань матки імуногістохімічним методом.

Мета дослідження: сформувати алгоритм діагностики доброякісних захворювань матки на підставі гістероскопічної біопсії з подальшим імуногістохімічним дослідженням біоптатів.

Матеріали та методи. У проведеному дослідженні брала участь 31 пацієнтка репродуктивного та постменопаузального віку віком від 26 до 70 років. Відповідно до запропонованого алгоритму діагностики проведено гістероскопічну біопсію з подальшим імуногістохімічним дослідженням біоптатів. Усі жінки включені в дослідження згідно з даними УЗД мали підозру на доброякісні захворювання матки. Відповідно до результатів імуногістохімічного дослідження експресії гормонів естрогену та прогестерону для зручності в практичній роботі основні групи були поділені на 3 підгрупи за альтернативним принципом.

Результати. З 31 жінки у 12 випадках діагностовано гіперплазію ендометрія, в 11 поліп ендометрія, у 4 лейоміому матки, хронічний ендометрит був виявлений у 2 пацієнтів, по 1 випадку аденоміозу та атрофії ендометрія.

Заключення. Нами сформовано власний алгоритм діагностичного пошуку доброякісних захворювань матки на підставі імуногістохімічного дослідження біоптатів, взятих під час гістероскопії.

Ключові слова: імуногістохімічне дослідження, гістероскопія, рівень рецепторів естрогену та прогестерону в ендометрії.

Ендометрій людини є динамічною реконструктивною тканиною, яка, реагуючи на статеві стероїдні гормони, зазнає циклічного росту, трансформації, відторгаючись та регенеруючись більше 400 разів протягом активного репродуктивного періоду жінки. Ці зміни носять циклічний характер і контролюються гормональним впливом [5].

Існує два варіанти внутрішньоклітинних рецепторів стероїдних гормонів: цитоплазматичні рецептори, які вважаються посередниками в транслокації гормонів з цитоплазми в ядро, і ядерні рецептори, при взаємодії з якими інформація передається на генетичний апарат клітини. Є дані, що найбільш високий рівень естрогенових і прогестеронових рецепторів визначається у функціональному шарі ендометрія в дні матки, а найбільш низьким – у базальному шарі ендометрія, особливо в зонах, ближчих до шийки матки [1].

При вивченні естроген- і прогестерон-рецепторної системи протягом менструального циклу встановлено, що відбуваються зміни показників як сумарного вмісту рецепторів, так і кількості рецепторів естрогену і прогестерону в цитоплазмі і в ядрах клітин ендометрія. Рівень естрогенів цитоплазми підвищується у фолікуліновій фазі, а в лютеїновій фазі поступово знижується. Щодо рівня прогестерону цитоплазми – максимум відзначається у середині циклу, мінімум – у середині лютеїнової фази. Рівні естрогену і прогестерону ядра змінюються за аналогічною динамікою, однак максимальних показників вони досягають на кілька днів пізніше [2].

У літературі останніх років велике значення в розвитку гормонозалежних захворювань матки надають ролі тканинних рецепторів стероїдних гормонів. Синтез рецепторів у

матці має гормонозалежний характер і відбувається під впливом багатьох факторів: кількості і співвідношення статевих гормонів і факторів росту, фази менструального циклу, ступеня ураження патологічним процесом органа-мішені, порушення обміну речовин і дисбалансу інших гормонів.

Застосовувана в даний час гормональна терапія має різну ефективність, аж до повної нечутливості до лікування гормонами, що пояснюється не тільки різним вмістом сироваткових статевих гормонів, а й станом рецепторного апарату матки. Відсутність ефекту від проведеної консервативної терапії часто закінчується гістеректомією в репродуктивному віці з усіма наслідками прогресуючого дефіциту естрогенів [6].

У теперішній час імуногістохімічним методом з використанням специфічних моноклональних антитіл можна виявити зміни чутливості ендометрія до стероїдів за рахунок безпосередньої візуалізації ядерних рецепторів до естрогену та прогестерону, як в окремих клітинах залоз ендометрія, так і в його стромальних елементах [3].

Імуногістохімічне дослідження (ІГХД) – це метод визначення наявності та точної локалізації клітинних і тканинних компонентів (антигенів) в гістологічних препаратах. Імуногістохімічний метод є доповненням до основного гістологічного дослідження, суть якого полягає у проведенні на гістологічному зрізі реакції антиген–антитіло. При цьому антитіло мічене флюорохромом або ферментом, який виявляється за допомогою гістохімічної реакції. Антигеном може виступати будь-який клітинний або тканинний компонент: поверхневі рецептори клітин, гормони, фактори росту та їхні рецептори, онкопротеїни, антигени збудників інфекційних хвороб та інші. Якщо потрібний антиген міститься в тканині, що досліджується, то створений комплекс антиген–антитіло вкаже на його локалізацію [4].

Мета дослідження: сформувати алгоритм діагностики доброякісних захворювань матки на підставі гістероскопічної біопсії з подальшим ІГХД біоптатів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

На базі Київського міського пологового будинку № 5 було проведено дослідження 31 пацієнтки репродуктивного та постменопаузального віку віком від 26 до 70 років (середній вік 46,4 року). Пацієнти пред'являли скарги на безпліддя первинне, вторинне; кровотечу у міжменструальний період, постменопаузі; ниючий біль низу живота. У пацієнтів було проаналізовано анамнестичні та клініко-лабораторні дані. Усі жінки, включені в дослідження, згідно з даними УЗД мали підозру на доброякісні захворювання матки: поліп, гіперплазію, лейоміому, аденоміоз, атрофію, хронічний ендометрит. Відповідно до запропонованого алгоритму діагностики проведено гістероскопічну біопсію з подальшим ІГХД біоптатів. Пацієнтки поділені на дві групи, враховуючи вік:

- група 1 – репродуктивний вік, в яку увійшла 21 пацієнтка, віком від 26 до 47 років (середній вік 42,4 року);
- група 2 – менопаузальний вік, в яку увійшли 10 пацієнтів віком від 52 до 70 років (середній вік 61,5 року).

Згідно з результатами ІГХД експресії гормонів естрогену та прогестерону для зручності в практичній роботі основні

Результати ІГХД рівня експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів у доброякісних захворюваннях матки

| Нозологічна одиниця | Кількість пацієнтів | Підгрупа | Результати імуногістохімії | | | Група 1 Репродуктивний вік | | Група 2 Менопаузальний вік | |
|-------------------------|---------------------|----------|----------------------------|-----------------------------|----|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|--|
| | | | Кількість пацієнтів | Рівень експресії рецепторів | | Кількість пацієнтів | Тактика лікування | Кількість пацієнтів | Тактика лікування |
| | | | | ER | PR | | | | |
| 1. Гіперплазія | 12 | I | 7 | + | + | 4 | Консервативне лікування | 3 | Оперативне лікування |
| | | II | 5 | - | + | 3 | Консервативне лікування | 2 | Консервативне лікування |
| | | III | 2 | + | - | 1 | Консервативне лікування | 1 | Консервативне лікування |
| 2. Поліп | 11 | I | 4 | + | + | 2 | Консервативне лікування | 2 | Оперативне лікування (рецидив) |
| | | II | 4 | - | + | 2 | Консервативне лікування | 2 | Консервативне лікування |
| | | III | 3 | + | - | 1 | Консервативне лікування | 2 | Консервативне або оперативне лікування |
| 3. Лейоміома | 4 | I | 3 | + | + | 2 | Консервативне лікування | 1 | Консервативне лікування |
| | | II | 1 | - | + | 1 | Консервативне лікування | 0 | Консервативне лікування |
| | | III | 0 | + | - | 0 | Спостереження | 0 | Спостереження |
| 4. Хронічний ендометрит | 2 | I | 1 | + | + | 1 | Консервативне лікування | 0 | Консервативне лікування |
| | | II | 0 | - | + | 0 | Консервативне лікування | 0 | Консервативне лікування |
| | | III | 1 | + | - | 1 | Консервативне лікування | 0 | Консервативне лікування |
| 5. Аденоміоз | 1 | I | 1 | + | + | 1 | Консервативне лікування | 0 | Консервативне лікування |
| | | II | 0 | - | + | 0 | Консервативне лікування | 0 | Консервативне лікування |
| | | III | 0 | + | - | 0 | Консервативне лікування | 0 | Консервативне лікування |
| 6. Атрофія | 1 | I | 1 | + | + | 1 | Консервативне лікування | 0 | Спостереження |
| | | II | 0 | - | + | 0 | Консервативне лікування | 0 | Спостереження |
| | | III | 0 | + | - | 0 | Консервативне лікування | 0 | Спостереження |

групи були поділені на 3 підгрупи за альтернативним принципом («+» – висока експресія; «-» – низька експресія). I підгрупа мала високу експресію естрогенових (+) і прогестеронових (+) рецепторів; II підгрупа – високу експресію прогестеронових (+) і малу естрогенових (-) рецепторів; III підгрупа мала високий рівень експресії естрогенових (+) та малу прогестеронових (-) рецепторів.

Патоморфологічне дослідження препаратів проводили у патоморфологічному відділенні клініко-діагностичного центру «CSD Health Care» (м. Київ). Матеріал відразу після забору поміщали у розчин забуференого нейтрального формаліну. У лабораторії матеріал поміщали у гістологічні касети HistoStream і продовжували фіксацію в автоматичному гістопроекторі Milestone Logos (Італія). Тривалість фіксації складала не менше 24 год і не більше 36 год. Для проводки використовували патентований розчин для проведення JFC фірми Milestone. Матеріал просочували парафіном Paraplast Pro (Німеччина). Нарізання зрізів товщиною 4 мкм проводили на ротаційному мікротомі фірми Hestion (Австралія). Зрізи для забарвлення гематоксиліном і еозином поміщали на адгезивні скельця SuperFrost (фірма Menzel, Німеччина). Препарати забарвлювали гематоксиліном і еозином за стандартною методикою з використанням реактивів фірми Kaltek (Італія). Під

час дослідження вибирали блоки для подальшого ІГХД. Зрізи, призначені для ІГХД, поміщали на адгезивні скельця SuperFrost Plus (фірма Menzel, Німеччина). Відновлення антигенності виконували в апараті DAKO PT Module у буфері TRS High pH (DAKO, Данія), тривалість відновлення за температури 97 °С – 40 хв. Після цього на автостейнері DAKO Autostainer Plus виконували забарвлення. Використовували наступні первинні антитіла: до білка естроген-рецепторів альфа – моноклональні кролячі клону EP1 фірми DAKO (Данія), до білка прогестерон-рецепторів – моноклональні мишачі клону PgR 636 фірми DAKO. В якості дефект-системи використовували систему DAKO FLEX+ фірми DAKO (Данія). Забарвлені зрізи заключали у покривне середовище фірми Kaltek (Італія). Дослідження препаратів виконували за допомогою мікроскопу Olympus CX31, фотографування – за допомогою цифрової камери Canon EOS REBEL T3i.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З 31 жінки у 12 випадках діагностовано гіперплазію ендометрія, в 11 поліп ендометрія, у 4 лейоміому матки, хронічний ендометрит був виявлений у 2 пацієнтів, по 1 випадку аденоміозу та атрофії ендометрія.

У групи 1 виявлено 8 пацієнтів з гіперплазією ендометрія, з яких у I підгрупі було 4 пацієнтки; 3 пацієнтки у II підгрупі; 1 пацієнтка у III підгрупі. У групі 2 виявлено 6 пацієнок з гіперплазією ендометрія, з яких у I підгрупі 3 пацієнтки; у II підгрупі 2 пацієнтки; у III підгрупі 1 пацієнтка.

У групі 1 виявлено 5 пацієнок з поліпом ендометрія, з яких у I підгрупі було 2 пацієнтки; 2 пацієнтки у II підгрупі; 1 пацієнтка у III підгрупі. У групі 2 виявлено 6 пацієнок з поліпом ендометрія, з яких у I підгрупі 2 пацієнтки; у II підгрупі 2 пацієнтки; у III підгрупі 2 пацієнтки.

У групі 1 було виявлено 3 лейоміоми матки, з них у I підгрупі 2 жінок; у II підгрупі 1 жінка. У III підгрупі групи 1 лейоміоми виявлені не були. У групі 2 виявлена 1 пацієнтка, яка потрапила в I підгрупу.

Хронічний ендометрит був виявлений у 2 пацієнок з групи 1, в I та II підгрупі по 1 жінці. У III підгрупі групи 1 та групи 2 хворих не було.

Алгоритм диагностики доброкачественных заболеваний матки на основе данных иммуногистохимического анализа
М.В. Макаренко, Д.А. Говсеев, С.В. Гридчин, Р.М. Ворона

В статье освещены вопросы диагностики доброкачественных заболеваний матки иммуногистохимическим методом.

Цель исследования: сформировать алгоритм диагностики доброкачественных заболеваний матки на основании гистероскопической биопсии с последующим иммуногистохимическим исследованием биоптатов.

Материалы и методы. В проведенном исследовании принимала участие 31 пациентка репродуктивного и постменопаузального возраста в возрасте от 26 до 70 лет. Согласно предложенному алгоритму диагностики проведена гистероскопическая биопсия с последующим иммуногистохимическим исследованием биоптатов. Все женщины, включенные в исследование, по данным УЗИ имели подозрение на доброкачественные заболевания матки. Согласно результатам иммуногистохимического исследования экспрессии гормонов эстрогена и прогестерона для удобства в практической работе основные группы были разделены на 3 подгруппы по альтернативному принципу.

Результаты. В группе из 31 женщины в 12 случаях диагностирована гиперплазия эндометрия, в 11 случаях полип эндометрия, в 4 случаях лейомиома матки, хронический эндометрит был обнаружен у 2 пациентов, по 1 случаю аденомиоза и атрофии эндометрия.

Заключение. Нами сформирован собственный алгоритм диагностического поиска доброкачественных заболеваний матки на основании иммуногистохимического исследования биоптатов, взятых при гистероскопии.

Ключевые слова: иммуногистохимические исследования, гистероскопия, уровень рецепторов эстрогена и прогестерона в эндометрии.

Аденомиоз був виявлений у 1 пацієнтки групи 1 I підгрупи. Атрофія ендометрія також була виявлена у 1 пацієнтки групи 1 I підгрупи.

Усім пацієнткам призначено індивідуальне лікування (консервативне чи оперативне) або спостереження протягом 3 міс відповідно (таблиця)

ВИСНОВКИ

Нами сформовано власний алгоритм діагностичного пошуку доброякісних захворювань матки (поліп, гіперплазія, лейомиома, аденомиоз, атрофія, хронічний ендометрит) на підставі імуногістохімічного дослідження біоптатів, взятих під час гістероскопії. Цей алгоритм допоможе швидше верифікувати діагноз та дозволить призначити патогенетично зумовлене консервативне чи оперативне лікування або спостереження за перебігом даного захворювання.

Algorithm diagnosis of benign uterine disease, based on immunohistochemical analysis
M.V. Makarenko, D.A. Govseev, S.V. Gridchin, R.M. Vorona

This article deals with the diagnosis of benign uterine diseases by immunohistochemistry.

Purpose of the research. Generate diagnostic algorithm for benign diseases of the uterus based hysteroscopic biopsy followed by immunohistochemical examination of biopsies.

Materials and methods. A study was conducted on 31 patients of reproductive age and postmenopausal aged 26 to 70 years. Under the proposed diagnostic algorithm performed hysteroscopic biopsy followed by immunohistochemical examination of biopsies. All women included in the study, according to the US had a suspicion of benign diseases of the uterus. According to the immunochemical study of the expression of estrogen and progesterone for convenience in practice main groups were divided into 3 groups according to the alternative principle.

The research results. In a group of 31 women in the 12 cases diagnosed hyperplasia endometrium in 11 cases of endometrial polyp, 4 cases of uterine leiomyoma, chronic endometritis was found in two patients, one case of adenomyosis and one case of endometrial atrophy.

The conclusions. We have formed a proprietary algorithm of diagnostic search benign diseases of the uterus based on immunohistochemistry of biopsy specimens taken during hysteroscopy.

Key words: immunohistochemical studies, hysteroscopy, the level of estrogen and progesterone receptors in the endometrium.

Сведения об авторах

- Макаренко Михаил Василевич – Киевский городской роддом № 5, 03118, г. Киев, проспект Лобановского, 2
 Говсеев Дмитрий Александрович – Киевский городской роддом № 5, 03118, г. Киев, проспект Лобановского, 2
 Гридчин Сергей Василевич – Киевский городской роддом № 5, 03118, г. Киев, проспект Лобановского, 2
 Ворона Роман Николаевич – Киевский городской роддом № 5, 03118, г. Киев, проспект Лобановского, 2; тел.: (044) 433-78-77

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Leyendecker G., Herbertz M., Kunz G., Mall G. Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium. Hum. Reprod. 2002, Vol. 17. – P. 2725–2736
 2. Бессмертная В.С., Самойлов М.В., Серебренникова К.Г., Бабиченко И.И. Морфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия у женщин с первичным и вторичным бесплодием // Архив патологии, 2008, 4. – С. 31–34.
 3. Иммуногистохимические исследования экспрессии рецепторов стероидных гормонов в эндометрии женщин в ходе нормального менструального цикла // Вестник РУДН, серия Медицина. Акушерство и гинекология. 2002, 1. УДК 618.145-008.9-091.8. – С. 55.
 4. Кузик П.В., Секела М.В., Беляк О.В. Застосування імуногістохімічного дослідження у діагностиці торакальної патології//Український пульмонологічний журнал, 2014, 1. Додаток
 5. Петросян М.А. Сравнительное изучение гестагенной активности синтетических аналогов прогестерона в эксперименте // Ученые записки, 2007, Т. 14, 3. – С. 45
 6. Органосохраняющая терапия сочетанной гиперпластической патологии эндометрия на основании иммуногистохимического анализа рецепторов стероидных гормонов // Регулярные выпуски «РМЖ» 23 от 11.11.2009. – С. 1574.

Статья поступила в редакцию 21.01.2016