

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.364510>

Прогностическая значимость параметров иммуногистохимического статуса эндометрия в качестве маркёров терапии гиперплазии эндометрия

Л.М. Михалёва^{1, 2, 3}, Л.М. Каппушева⁴, Г.Н. Голухов^{2, 4}, К.В. Щербатюк⁴, Д.С. Гуторова⁴,
А.В. Овчинникова^{2, 4}, Б.И. Баисова⁴, В.Г. Бреусенко⁴

¹ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Российская Федерация;

² Городская клиническая больница имени академика Г. М. Савельевой № 31 Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Российская Федерация;

³ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация;

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. У пациенток репродуктивного возраста с гиперплазией эндометрия без атипии актуален вопрос выбора гормонального лечения и прогнозирования ответа на него.

Цель исследования — повысить эффективность гормональной терапии гиперплазии эндометрия у пациенток репродуктивного возраста с аномальным маточным кровотечением с учётом данных рецептивности и пролиферативной активности эндометрия.

Материалы и методы. Обследованы 179 пациенток репродуктивного возраста с аномальным маточным кровотечением и гиперплазией эндометрия (контрольная группа). После удаления ткани гиперплазии эндометрия проведена гормональная терапия в течение 6 мес: 101 пациентке назначали дидрогестерон в дозе 20 мг/сут, 78 пациенткам — норэтистерона ацетат в дозе 10 мг/сут. Методом иммуногистохимии определена экспрессия ER α , PR, Ki-67 в ткани эндометрия исходно и через 3 мес после окончания лечения. Группу сравнения составили 18 женщин без гинекологической патологии. Для обработки данных применяли методики вариационной статистики, различия между показателями групп пациентов считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. До лечения экспрессия ER α , PR обнаружена в обоих компартаментах, Ki-67 — в железах ниже у пациенток с гиперплазией эндометрия по сравнению с женщинами группы сравнения. Ремиссия достигнута у 77 женщин (76,2%) в группе дидрогестерона и у 62 пациенток (79,5%) — в группе норэтистерона ацетата. Исходно ER α в железах и строме гиперплазии эндометрия ниже, чем в группе сравнения; у резистентных больных — ниже, чем у ответивших на лечение. PR у резистентных больных ниже, чем в группе сравнения, и у женщин, достигших ремиссии. Ki-67 в железах у ответивших на лечение пациенток ниже, чем в группе сравнения, в стромальном компоненте — ниже, чем у резистентных больных. После лечения ER α и PR в обоих компартаментах у резистентных больных ниже показателей групп сравнения и ответивших на лечение. Получено уравнение логистической регрессии с совокупностью предикторов: ER α (железы) + PR (железы и строма) + Ki-67 (строма) с потенциальным ответом на терапию 93%.

Заключение. Использование указанной прогностической модели является перспективным. Эффективность терапии будет наблюдаться в 93% случаев.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия; рецепторы к эстрогену; рецепторы к прогестерону; дидрогестерон; норэтистерона ацетат, аномальное маточное кровотечение; иммуногистохимия.

Как цитировать:

Михалёва Л.М., Каппушева Л.М., Голухов Г.Н., Щербатюк К.В., Гуторова Д.С., Овчинникова А.В., Баисова Б.И., Бреусенко В.Г. Прогностическая значимость параметров иммуногистохимического статуса эндометрия в качестве маркёров терапии гиперплазии эндометрия // Морфология. 2022. Т. 160, № 3. С. 139–150. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.364510>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.364510>

Prognostic significance of the immunohistochemical status of the endometrium as markers of therapy for endometrial hyperplasia

Lyudmila M. Mikhaleva^{1, 2, 3}, Laura M. Kappusheva⁴, Georgiy N. Golukhov^{2, 4},
Kristina V. Shcherbatyuk⁴, Dina S. Gutorova⁴, Anstasiya V. Ovchinnikova^{2, 4}, Bella I. Baisova⁴,
Valentina G. Breusenko⁴

¹ Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation;

² City Clinical Hospital N 31 of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation;

³ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

⁴ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: In patients of reproductive age with endometrial hyperplasia without atypia, hormonal treatment, and prognosis of response remain relevant issues.

AIM: To increase the effectiveness of hormonal therapy for endometrial hyperplasia in patients of reproductive age with abnormal uterine bleeding, considering the receptivity, and proliferative activity of the endometrium.

MATERIALS AND METHODS: A total of 179 patients of reproductive age with abnormal uterine bleeding and endometrial hyperplasia were examined. After the removal of the endometrial tissue, hormonal therapy was performed for 6 months: 101 patients received dydrogesterone 20 mg/day, and 78 patients received norethisterone acetate 10 mg/day. The expression levels of estrogen receptor- α (ER α), progesterone receptor (PR), and Ki67 in the endometrial tissue were determined by immunohistochemistry at baseline and 3 months after the treatment. The comparison group consisted of 18 women without gynecological pathology. Variation statistics methods were used to process the data, the differences between the indicators groups of patients were considered significant at $p < 0.05$.

RESULTS: Before treatment, the expression levels of ER α , PR in both compartments, and Ki-67 in the glands were lower ($p < 0.05$) in the endometrial hyperplasia group than in the control group. Remission was achieved in 77 (76.24%) (dydrogesterone) and 62 (79.49%) (norethisterone acetate) patients. Initially, the expression level of ER α in the glands and stroma of endometrial hyperplasia was lower ($p < 0.05$) than that in the comparison group; the resistant group had a lower ($p < 0.05$) response to treatment. The expression of PR in the resistant group was lower ($p < 0.05$) than that in the comparison group and remission group. The expression level of Ki67 in the response group was lower than that in the comparison group ($p < 0.05$), and the expression in the stroma was lower than that in the resistant group ($p < 0.05$). After treatment in both compartments, the expression levels of ER α and PR were lower in the resistant group than in the comparison group and response group ($p < 0.05$). A logistic regression equation was obtained with a set of predictors: ER α (glands) + PR (glands and stroma) + Ki-67 (stroma) with a potential response to therapy of 93%.

CONCLUSIONS: The specified predictive model is promising. The therapy was effective in 93% of cases.

Keywords: endometrial hyperplasia; abnormal uterine bleeding; immunohistochemistry; estrogen receptors; progesterone receptors; dydrogesterone; norethisterone acetate.

To cite this article:

Mikhaleva LM, Kappusheva LM, Golukhov GN, Shcherbatyuk KV, Gutorova DS, Ovchinnikova AV, Baisova BI, Breusenko VG. Prognostic significance of the immunohistochemical status of the endometrium as markers of therapy for endometrial hyperplasia. *Morphology*. 2022;160(3):139–150.

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.364510>

Received: 29.04.2023

Accepted: 18.05.2023

Published: 07.06.2023

ОБОСНОВАНИЕ

Гиперплазия эндометрия (ГЭ) — это патологическое изменение слизистой оболочки матки, характеризующееся избыточной пролиферацией желез, их структурным нарушением и, как следствие, увеличением доли железистого компонента относительно стромального [1, 2]. Согласно бинарной классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2020 года, выделяют две формы патологии: гиперплазия эндометрия (ГЭ) и атипичская ГЭ [3, 4]. Частота ГЭ составляет до 10% в структуре гинекологической заболеваемости среди женщин репродуктивного возраста [5]. Риск прогрессирования ГЭ до рака эндометрия в течение 20 лет составляет 4,6%, при атипичской ГЭ этот показатель в 6 раз выше [6].

Общепринятым на первом этапе терапии является удаление патологической ткани эндометрия с лечебной и диагностической целью. После патоморфологической верификации диагноза решают вопрос о назначении гормональной терапии. На современном уровне стандартом лечения ГЭ являются прогестины. При их использовании регресс происходит в 54,8–97,0% наблюдений [7–9].

Широкая вариабельность ответа на гормональную терапию диктует необходимость разработки прогностических маркеров эффективности терапии и создания алгоритмов персонализированного подбора препаратов [10]. Имеются данные [11–15] о поисках предикторов среди различных маркеров: микроРНК, экспрессия генов рецепторов стероидных гормонов, полиморфизм гена группоспецифического компонента. Наиболее доступными и патогенетически обоснованными параметрами могут являться иммуногистохимические (ИГХ) маркеры: уровень экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону, а также пролиферативный статус эндометрия — Ki-67 [16, 17].

В подавляющем большинстве наблюдений гормональная терапия назначается по стандартной схеме, выбор препарата основывается на данных клинических рекомендаций и личном опыте врача. Поэтому разработка унифицированной формулы прогноза ответа на терапию и параметры выбора препарата являются актуальными.

Цель исследования — оценить прогностический потенциал иммуногистохимических маркеров при терапии гиперплазии эндометрия без атипичии у женщин репродуктивного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 179 пациенток репродуктивного возраста с аномальным маточным кровотечением (АМК) и верифицированной ГЭ. Группу сравнения составили 18 женщин без патологии эндометрия, которым была выполнена аспирационная биопсия эндометрия при обследовании по поводу бесплодия (мужской фактор). У всех пациенток отмечен регулярный менструальный

цикл длительностью 28 дней, приём гормональных препаратов не проводился в течение не менее 6 мес.

Критерии включения: возраст от 18 до 45 лет, наличие АМК, впервые выявленная ГЭ по данным патоморфологического заключения.

Критерии исключения: кровотечения на фоне беременности и после родов, миома матки больших размеров (более 6 нед беременности), гормонсекретирующие образования яичников и гипоталамо-гипофизарной системы, приём гормональных препаратов в течение 6 мес до включения в исследование, коагулопатии.

Возраст больных в обеих группах — от 24 до 45 лет, медиана — 42 года, средний возраст — $38,57 \pm 6,97$ года. Всем пациенткам исходно установлен диагноз АМК: у 129 женщин (72,1%) имелись жалобы на длительные кровяные выделения из половых путей, возникшие после задержки менструации; у 31 (17,3%) — на обильные менструации; у 19 (10,6%) — на межменструальные скудные кровяные выделения. Сопутствующая гинекологическая патология представлена аденомиозом у 80 пациенток (44,7%) и миомой матки малых размеров — у 58 (32,4%). Из экстрагенитальной патологии наиболее часто встречалась гипертоническая болезнь — у 39 пациенток (21,8%). Избыточный вес (ИМТ >25) отмечен у половины обследованных.

Всем пациенткам проведено стандартное обследование, включая УЗИ органов малого таза на ультразвуковом сканере Voluson 730 Expert (General Electric, США) с трансвагинальным конвексным датчиком, и исследование гормонального профиля (эстрадиол, прогестерон, фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон, пролактин). У всех пациенток до включения в исследование было получено письменное информированное согласие на участие в нём. Этический комитет ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России одобрил проведение данного исследования (дата заседания — 17.12.2018 г., протокол № 180).

С диагностической и лечебной целью всем пациенткам выполнены гистероскопия, отдельное диагностическое выскабливание слизистой матки. После патоморфологической верификации диагноза назначена гормональная терапия по традиционной схеме — с 5-го по 25-й день менструального цикла в течение 6 мес: 101 пациентке — дидрогестерон в дозе 10 мг 2 раза в сутки (группа 1), 78 женщинам — норэтистерона ацетат в дозе 5 мг 2 раза в сутки (группа 2). В процессе гормональной терапии оценивали переносимость препарата, частоту и выраженность побочных эффектов. Выбор препарата не зависел от возраста, соматического статуса и исходных данных иммуногистохимического исследования (ИГХ); группы были сопоставимы.

Контрольное обследование проводили через 3 и 6 мес после начала терапии и через 3 мес после окончания лечения. Оно включало оценку жалоб, анализ характера менструального цикла, УЗИ органов малого таза.

Через 3 мес после окончания терапии на 7-е сутки менструального цикла выполняли контрольную аспирационную биопсию эндометрия.

Патоморфологическую оценку удалённого эндометрия осуществляли по стандартной методике. Полученный после гистологической проводки в автоматическом гистопротессоре Leica ASP300 S (Leica Microsystems, Германия) материал заливали в парафин на автоматической станции Leica EG 1150 (Leica Microsystems, Германия). Гистологические срезы толщиной 4 мм окрашивали гематоксилином и эозином в этой же станции. На гистологических препаратах изучали патоморфологические изменения эндометрия на разных стадиях менструального цикла. (фаза и стадия менструального цикла).

С целью оценки возможных предикторов эффективной терапии 100 пациенткам (54 — из группы 1 и 46 — из группы 2) дополнительно выполнено ИГХ-исследование эндометрия исходно и через 3 мес после окончания терапии по методике, представленной ранее [10]. Дифференцированно в железистом и стромальном компартаментах оценили уровень экспрессии рецепторов к эстрогену (ER α), прогестерону (PR), а также Ki-67. ИГХ-исследование проводили в иммунопейнере BenchMark ULTRA IHC/ISH (Roche, Швейцария), анализировали кроличьи моноклональные первичные антитела к CONFIRM антипрогестероновым рецепторам (PR)-(E2) (Roche, Швейцария), связывающиеся с PR; кроличьи моноклональные первичные антитела к CONFIRM антиэстрогеновым рецепторам (ERA)-(SP1) (Roche, Швейцария), связывающиеся с ER α ; антитела кроличьи моноклональные к маркеру клеточной пролиферации Ki-67, 30-9, клон MIB (Cell Marque Corporation, США). Микроскопическое исследование выполняли на тринокулярном микроскопе Leica DMLB с использованием цифровой камеры Leica DFC 420 (Leica Microsystems, Германия).

Иммуногистохимическую реакцию оценивали количественным и полуколичественным методом стандартным способом: осуществляли подсчёт числа клеток с положительной ядерной экспрессией на 100 клеток в 10 полях зрения при увеличении в 200 раз. Для каждого случая подсчитывали процент ядер, окрашенных с различной степенью интенсивности. При анализе результатов ИГХ-реакций для ER α и PR использовали метод гистологической оценки H-score по формуле: HSCORE= $\sum P(i) \times i$, где i — интенсивность окрашивания, выраженная в баллах от 0 до 3; $P(i)$ — процент клеток, окрашенных с разной интенсивностью. В заключение оценивали соответствие уровня экспрессии в железах и строме фазе цикла, указывали степень экспрессии и баллы: 0–10 баллов — отсутствие экспрессии; 11–100 — слабая экспрессия; 101–200 — умеренная экспрессия; 201–300 — выраженная экспрессия.

При исследовании Ki-67 за положительную окраску принимали интенсивное окрашивание ядерных структур тёмно-коричневого цвета. Экспрессию Ki-67 оценивали методом подсчёта количества окрашенных ядер на 100 клеток в трёх полях зрения, значение пролиферативной

активности выражали в процентах. Все исследования проводил один специалист-патолог.

Статистическая обработка полученных результатов выполнена на ПК с применением пакета статистических программ GraphPad Prism 9.3.0. Данные представлены с использованием стандартной описательной статистики (хи-квадрат), а для сравнения категориальных и непрерывных переменных использовали двухвыборочные t -тесты, различия между показателями групп пациентов считались значимыми при $p < 0,05$.

Обработку данных выполняли с использованием критерия Фишера и U -критерия Манна–Уитни. Для анализа прогностической ценности показателей экспрессии использовали анализ ROC-кривой и вычисление площади под кривыми (AUC) с 95% доверительными интервалами, значениями чувствительности и специфичности.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании полученных данных построена прогностическая модель. Её качество по интервальным значениям AUC расценивалось следующим образом: 0,9–1,0 — отличное, 0,8–0,9 — очень хорошее, 0,7–0,8 — хорошее, 0,6–0,7 — среднее и 0,5–0,6 — неудовлетворительное. Для оценки вероятности излечения ГЭ применяли метод бинарной логистической регрессии. Для анализа взаимосвязи между качественным (эффективность терапии) и количественными (уровень экспрессии ER α , PR, Ki-67) признаками использовали модель логистической регрессии с пошаговым алгоритмом включения и исключения предикторов.

Вероятность эффективности терапии определяли по формуле:

$$P = \frac{1}{1+e^{-Y}} \times 100$$

где P — вероятность, что событие произойдёт (ответ на лечение); e — 2,71828182845904 (основание натуральных логарифмов); Y — стандартное уравнение регрессии; где $Y = \beta_1 \cdot x_1 + \beta_2 \cdot x_2 + \dots + \beta_n \cdot x_n + a$; при этом x_1, \dots, x_n — значения независимых переменных (уровень экспрессии ER α , PR, Ki-67); $\beta_1 \dots \beta_n$ — коэффициенты, расчёт которых является задачей бинарной логистической регрессии; a — свободный коэффициент (константа).

При $P < 50\%$ предполагали, что событие не наступит, а при $P > 50\%$ устанавливали наступление события.

При первичном исследовании патологической ткани ГЭ методом иммуногистохимии выявлено, что значения экспрессии ER α в железистом компартменте находились в диапазоне от 165 до 290 баллов и составляли в среднем $227,1 \pm 39,3$ балла, что было статистически значимо ниже данных группы сравнения, где средний показатель соответствовал $283,1 \pm 12,0$ балла. В стромальном компартменте эндометрия экспрессия ER α была от 138 до 285 баллов, в среднем составляла $192,1 \pm 36,8$ балла, что было статистически значимо ниже показателей группы сравнения, где средний показатель составлял $264,4 \pm 10,2$ балла.

Уровень экспрессии ядерных рецепторов прогестерона у пациенток с ГЭ в железистом компартменте колебался от 195 до 285 баллов (среднее значение — $242,4 \pm 29,8$ балла), что было статистически значимо ниже данных группы сравнения ($267,86 \pm 7,90$ балла). В стромальном компартменте экспрессия PR в патологической ткани составляла в среднем $220,4 \pm 24,4$ балла (от 175 до 260) и была статистически значимо ниже, чем в группе сравнения ($251,1 \pm 17,5$ балла). Уровень экспрессии Ki-67 у пациенток с ГЭ в железистом компартменте составлял 75–100% (в среднем — $61,80 \pm 20,89\%$), в группе сравнения — $91,43 \pm 8,23\%$, причём последнее значение было статистически значимо выше показателей патологической ткани ГЭ. В стромальном компартменте этот показатель колебался от 5 до 73% в среднем составлял $38,8 \pm 21,7\%$, в группе сравнения — $31,1 \pm 17,8\%$, различия не достигли порога статистической значимости.

Гормональная терапия у всех пациенток проведена в полном объёме. Используемые препараты хорошо переносились. Ведущим нежелательным явлением стало увеличение массы тела на $2,32 \pm 0,40$ кг (в среднем) у 3 пациенток группы 1 и у 25 — группы 2, что ассоциировалось с отёчностью и повышенным аппетитом. На момент

окончания терапии пациентки вернулись к исходной массе тела. 7 пациенток (9%) группы 2 беспокоила умеренная тошнота, при этом побочные эффекты не снижали приверженность лечению. Гормональный профиль по результатам проведённого нами обследования у всех пациенток не изменился.

Ретроспективно пациентки были дополнительно разделены на подгруппы: с эффектом от лечения (патоморфологически нормальный эндометрий средней стадии фазы пролиферации) и резистентные (гистологически верифицированная ГЭ). Полный ответ наблюдался у 77 пациенток (76,2%) группы 1 и у 62 (79,5%) — группы 2; резистентность диагностирована у 24 (23,8%) и 16 пациенток (20,5%) соответственно. Процент больных, ответивших на терапию, был сопоставим в группах 1 и 2.

Результаты ИГХ-экспрессии ER α в железистом и стромальном компартментах эндометрия у пациенток, ответивших на лечение и без эффекта от терапии, до и после лечения, а также в группе сравнения представлены на рис. 1. Уровень экспрессии ER α в железистом и стромальном компартментах у обследованных пациенток всех групп исходно был ниже показателей группы сравнения. В железистом компартменте у резистентных больных (как

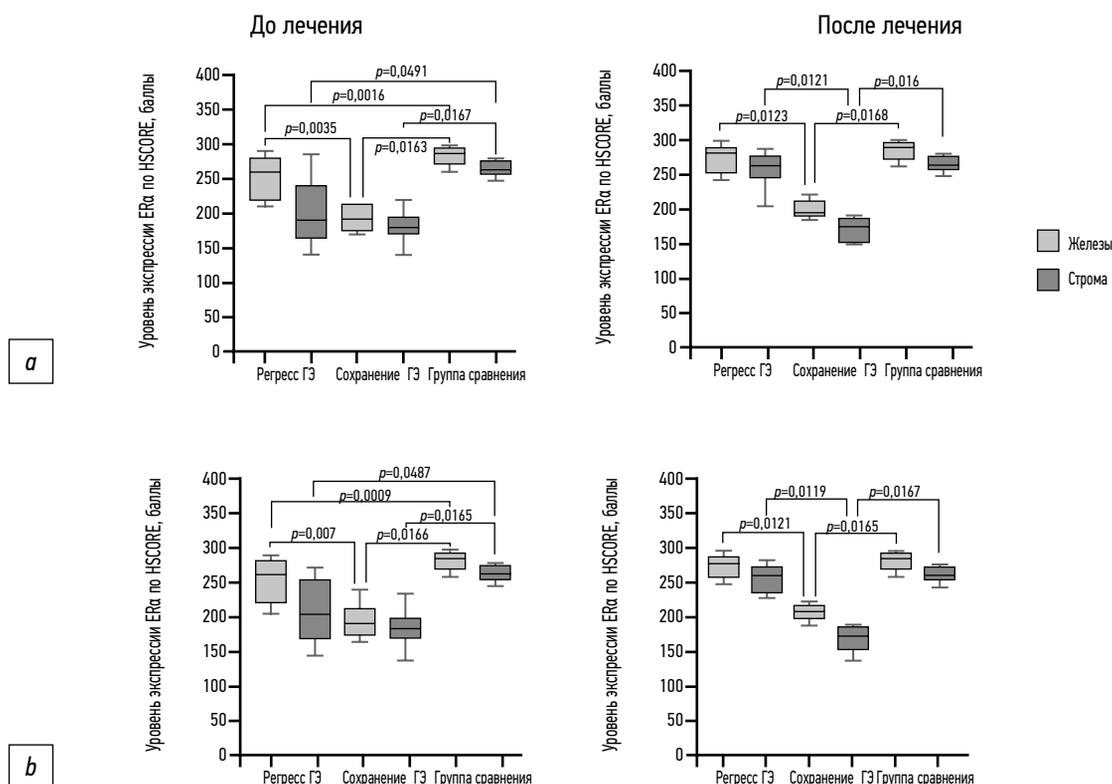


Рис. 1. Уровень иммуногистохимической экспрессии ER α в стромальном и железистом компартментах эндометрия у пациенток репродуктивного возраста с гиперплазией эндометрия (ГЭ) без атипии и аномальным маточным кровотечением: *a* — дидрогестерон (группа 1); *b* — норэтистерона ацетат (группа 2).

Fig. 1. The level of immunohistochemical expression of ER α in the stromal and glandular compartments of the endometrium in patients of reproductive age with endometrial hyperplasia without atypia and abnormal uterine bleeding: *a* — dydrogesterone (group 1); *b* — norethisterone acetate (group 2).

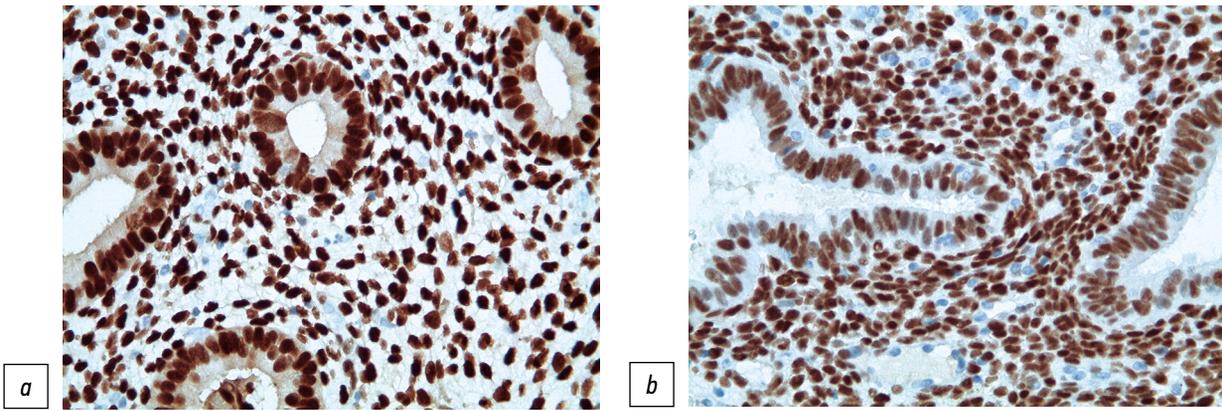


Рис. 2. Иммуногистохимическая экспрессия ERα в ткани гиперплазии эндометрия без атипии исходно в группе с эффективной терапией (a), неэффективной терапией (b) (ИГХ, ×400).

Fig. 2. Immunohistochemical expression of ERα in endometrial hyperplasia tissue without atypia initially in the group with effective therapy (a), ineffective therapy (b) (IHC, ×400).

группы 1, так и группы 2) он был статистически значимо ниже показателей пациенток, ответивших на лечение.

На рис. 2 представлены микрофотографии гистологических препаратов ткани эндометрия, полученных исходно у пациенток с ГЭ без атипии: ответивших на лечение и резистентных (ИГХ-окрашивание на ERα, увеличение ×400).

Результаты анализа ядерных рецепторов к прогестерону в строме и железах эндометрия у обследуемых пациенток представлены на рис. 3. Уровень экспрессии ядерных рецепторов к прогестерону в двух компартментах у ответивших на лечение пациенток из групп 1 и 2 исходно был сопоставим с показателями группы сравнения,

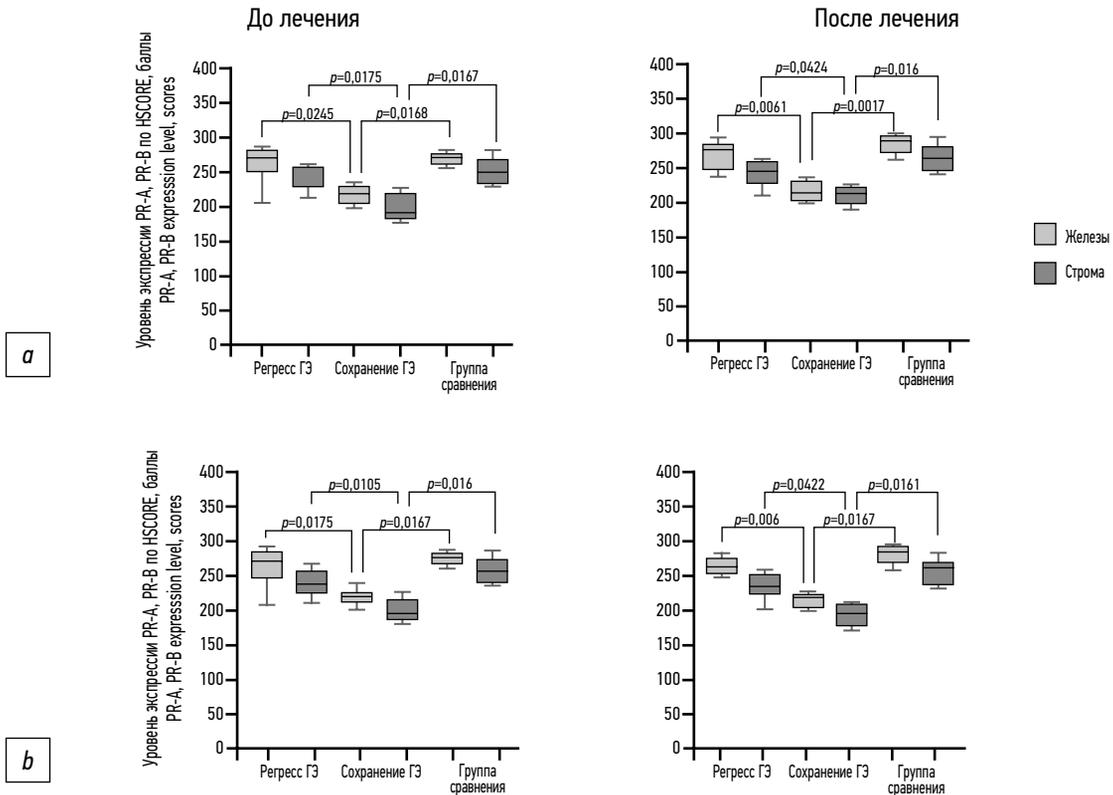


Рис. 3. Уровень иммуногистохимической экспрессии к рецепторам прогестерона в стромальных и железистых компартментах эндометрия у пациенток репродуктивного возраста с гиперплазией эндометрия без атипии и аномальным маточным кровотечением: a — дидрогестерон (группа 1); b — норэтистерона ацетат (группа 2).

Fig. 3. The level of immunohistochemical expression of progesterone receptors in the stromal and glandular compartments of the endometrium in patients of reproductive age with endometrial hyperplasia without atypia and abnormal uterine bleeding: a — dydrogesterone (group 1); b — norethisterone acetate (group 2).

в у резистентных больных из групп 1 и 2 он был статистически значимо ниже показателей в группе сравнения и у пациенток, достигших ремиссии.

На рис. 4 представлены микрофотографии иммуногистохимической реакции эндометрия с маркёром прогестероновых рецепторов, полученных исходно у пациенток с ГЭ без атипии: ответивших на лечение и резистентных больных, а также группы сравнения (ИГХ-окрашивание на PR, увеличение $\times 400$).

При анализе данных экспрессии индекса пролиферации Ki-67 в обоих компартаментах эндометрия (рис. 5) выявлено, что уровень экспрессии Ki-67 в железистом компарimente у ответивших на лечение пациенток групп 1 и 2 исходно был ниже, чем в группе сравнения, в стромальном компарimente — ниже, чем у резистентных больных.

На рис. 6 представлены микрофотографии иммуногистохимической реакции с маркёром Ki-67 в ткани эндометрия, полученной до лечения у пациенток с ГЭ без атипии: ответивших на лечение и резистентных, а также группы сравнения (ИГХ-окрашивание с Ki-67, увеличение $\times 400$).

После лечения в обоих компартаментах (в группах 1 и 2) уровень экспрессии ER α и PR среди резистентных больных был статистически значимо ниже показателей в группе сравнения и у пациенток, ответивших на лечение (см. рис. 1, 2).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациенток с неэффективностью лечения гестагенами выявлен более низкий уровень экспрессии ER α в железах, а PR — в строме и в железах эндометрия, а также

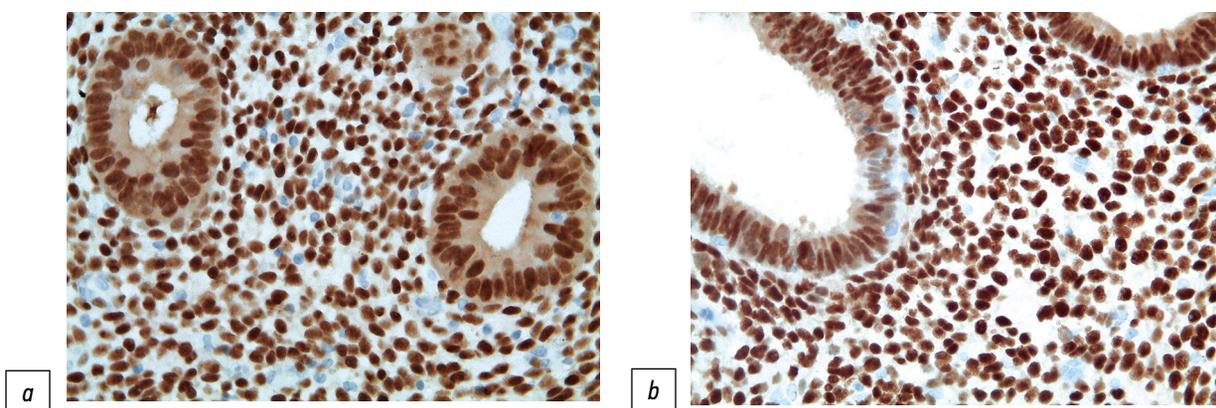


Рис. 4. Иммуногистохимическая экспрессия PR в ткани гиперплазии эндометрия без атипии исходно в группе с эффективной терапией (а), неэффективной терапией (б) (ИГХ, $\times 400$).

Fig. 4. Immunohistochemical expression of PR in the tissue of endometrial hyperplasia without atypia initially in the group with effective therapy (a), ineffective therapy (b) and in the comparison group (c) (IHC, $\times 400$).

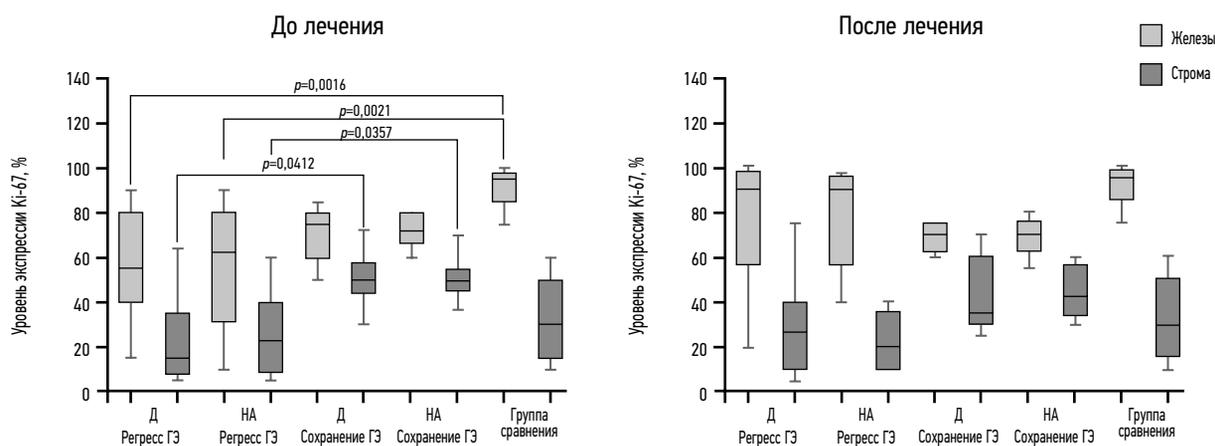


Рис. 5. Уровень иммуногистохимической экспрессии Ki-67 в стромальных и железистых клетках эндометрия у пациенток репродуктивного возраста с гиперплазией эндометрия (ГЭ) без атипии и аномальным маточным кровотечением. Д — дидрогестерон (группа 1); НА — норэтистерона ацетат (группа 2).

Fig. 5. The level of immunohistochemical expression of Ki-67 in stromal and glandular cells of the endometrium in patients of reproductive age with endometrial hyperplasia without atypia and abnormal uterine bleeding. Д — dydrogesterone (group 1); НА — norethisterone acetate (group 2).

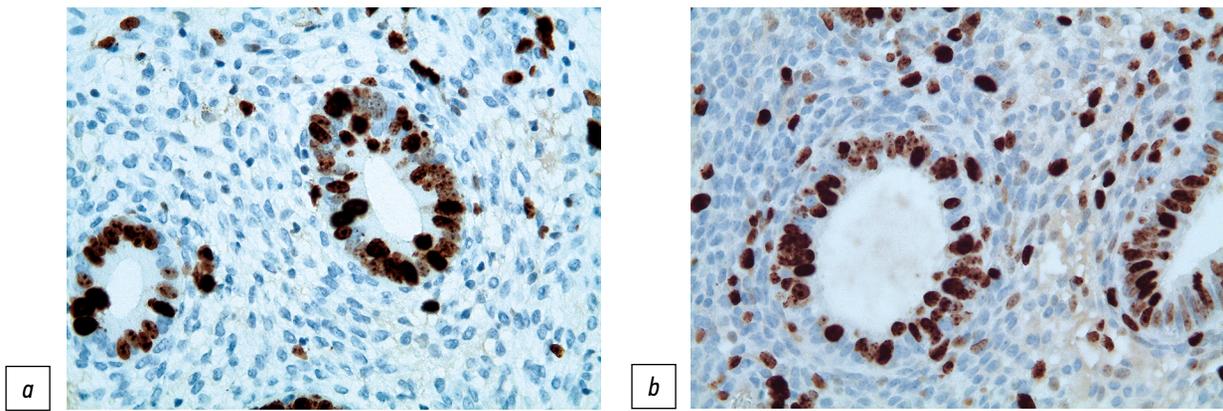


Рис. 6. Иммуногистохимическая реакция с маркёром Ki-67 в ткани гиперплазии эндометрия без атипии исходно в группе с эффективной терапией (а), неэффективной терапией (б) (ИГХ, $\times 400$).

Fig. 6. Immunohistochemical reaction with the Ki-67 marker in endometrial hyperplasia tissue without atypia initially in the group with effective therapy (a), ineffective therapy (b) (IHC, $\times 400$).

повышенный уровень экспрессии Ki-67 в строме эндометрия до лечения по сравнению с пациентками, достигшими ремиссии заболевания. Указанный факт позволяет предположить вероятную прогностическую значимость данных маркёров при выборе терапии гестагенами. Для анализа этого предположения был проведён ROC-анализ данных каждого маркёра в отдельности в группе 1 и группе 2 (рис. 7). Площадь под кривой свидетельствует о том, что прогнозирование результатов теста по всем показателям (ER α , PR, Ki-67) является точным и прогностическая значимость этих предикторов оценивается как «очень хорошая».

Известно о взаимном влиянии стероидных гормонов на экспрессию рецепторов, поэтому мы исследовали связь

между маркёрами. Для этого были построены уравнения логистической регрессии с использованием отобранных ИГХ-маркёров в различных комбинациях, а также с включением в модель препарата, применяемого при лечении. Выявлено, что на прогностическую способность модели не влияет выбор препарата. Это означает, что эффективность терапии в нашей выборке зависела только от исходных параметров пациентки: уровня экспрессии ER α в железах, PR — в строме и в железах эндометрия, Ki-67 — в строме эндометрия.

В табл. 1 отражены сравнительные результаты построенных моделей с включением отобранных предикторов, по которым можно проследить динамику прогностической ценности модели исходя из комбинации предикторов.

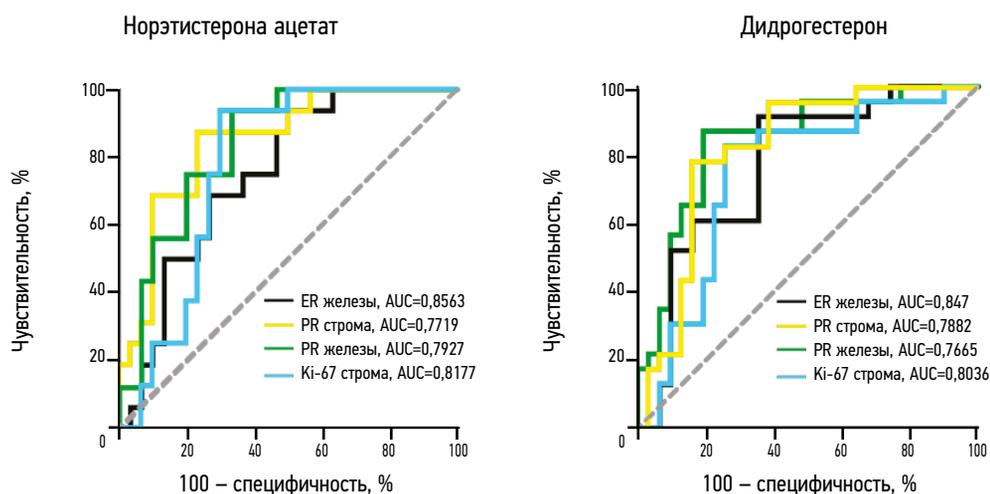


Рис. 7. ROC-кривые референсных значений экспрессии ER α в железах, PR — в строме и в железах эндометрия, экспрессии Ki-67 — в строме для пациенток с гиперплазией эндометрия без атипии и аномальным маточным кровотечением.

Fig. 7. ROC-curves of reference values of ER α expression in the glands, PR stroma and endometrial glands, Ki-67 expression in the stroma for patients with endometrial hyperplasia without atypia and abnormal uterine bleeding.

Таблица 1. Сравнительная характеристика моделей логистической регрессии с включением разных комбинаций предикторов
Table 1. Comparative characteristics of logistic regression models with the inclusion of different combinations of predictors

Комбинация предикторов	AUC	Процент верного прогноза эффективности	Чувствительность, % Sensitivity, %	Специфичность, % Specificity, %	<i>p</i>
ERα (железы) + Ki-67 (строма)	0,9140	89,0	87,18	90,16	<0,0001
ERα (железы) + PR (железы) + Ki-67 (строма)	0,9601	90,0	89,74	90,16	<0,0001
ERα (железы) + PR (железы и строма) + Ki-67 (строма)	0,9689	93,0	89,74	95,08	<0,0001

Наибольшей прогностической значимостью обладает комбинация значений экспрессии ERα (железы) + PR (железы и строма) + Ki-67 (строма).

Выбранное уравнение обладает наибольшей прогностической ценностью совокупности предикторов (процент верного прогноза эффективности — 93%), а также высокой чувствительностью и специфичностью модели.

Уравнение имело следующий окончательный вид:

$$P = \frac{\exp(-37,10 + 0,083 \times X_1 + 0,044 \times X_2 + 0,06 \times X_3 - 0,081 \times X_4)}{1 + \exp(-37,10 + 0,083 \times X_1 + 0,044 \times X_2 + 0,06 \times X_3 - 0,081 \times X_4)} \times 100$$

где *P* — вероятность эффекта от терапии, %; X_1 — экспрессия ERα (железы); X_2 — экспрессия PR (железы); X_3 — экспрессия PR (строма); X_4 — экспрессия Ki-67 (строма); -37,10 — свободный член уравнения.

Для оценки вероятности эффективности лечения необходимо подставить в приведённую выше формулу значения переменных и получить вероятность наступления выздоровления. При $P < 50\%$ предполагаем, что событие не наступит, а при $P > 50\%$ — что наступит.

Выполнена проверка полученной модели на предмет её прогностической значимости. Для этого проведён ROC-анализ (рис. 8).

ROC-кривая характеризовалась значением $AUC = 0,969 \pm 0,016$ (95% ДИ: 0,938–1,000),

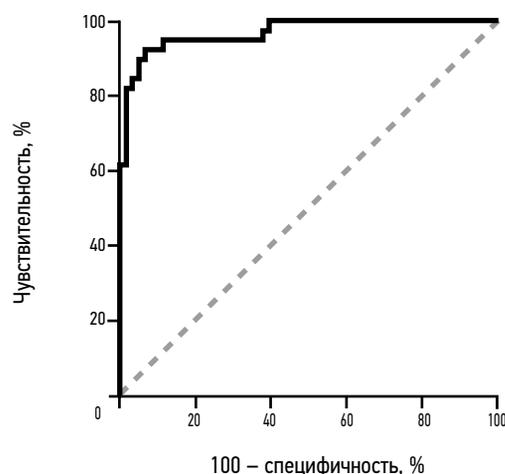


Рис. 8. ROC-кривая модели.
Fig. 8. ROC-curve of the model.

чувствительность — 89,74%, специфичность — 95,08%, т.е. прогнозирование результатов теста является точным и прогностическая способность модели оценивается как «отличная».

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным исследований [7–9], эффективность различных схем гестагенотерапии варьирует в широких пределах — 54,8–97,0%. Причина такой вариабельности может быть обусловлена индивидуальным различием представленности рецепторов половых стероидных гормонов в патологической ткани эндометрия. В исследовании [16] доказано, что высокая рецептивность эндометрия ассоциирована с высокой чувствительностью патологической ткани к гормональной терапии. Однако не наблюдается прямой зависимости ответа на лечение с уровнем экспрессии только прогестероновых рецепторов. Известно, что экспрессия PRA коррелирует со степенью экспрессии ERα [18]. Сочетанное изучение уровня экспрессии ядерных рецепторов к эстрагенам и прогестерону также не дало однозначных ответов в отношении эффективности терапии [19]. Важным остаётся определение уровня экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов дифференцированно в железистом и стромальном компартментах патологической ткани ГЭ. А.Л. Унанян и соавт. [20] показано, что более выраженным изменениям чувствительности подвержена строма, и это отражает важность микроокружения патологической ткани. Однако, как было сказано выше, определение экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону (даже дифференцированно в двух компартментах ГЭ) не позволило с высокой долей вероятности определить вероятность ответа на гестагенотерапию [19]. В нашем исследовании помимо рецептивности патологической ткани мы изучали степень пролиферативной активности ткани ГЭ (уровень Ki-67) и выявили, что одномоментное определение уровня экспрессии ERα (железы) + PR (железы и строма) + Ki-67 (строма) позволяет определить эффективность терапии в 93% случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сочетанное определение уровня экспрессии трёх параметров в двух компартментах патологической ткани (ERα

(железы) + PR (железы и строма) + Ki-67 (строма) — надёжный предиктор ответа на терапию. Использование предложенной модели прогнозирования позволит определить потенциальную эффективность терапии до её начала и отбирать только тех пациенток, кому гормональная терапия данными препаратами показана, что является основополагающим принципом персонализированной терапии.

Варианты лечения пациенток, которые прогностически не ответят на данный вариант терапии, требуют дальнейшего изучения и разработки иных подходов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: Л.М. Михалёва — концепция и дизайн исследования, написание текста и редактирование статьи; Л.М. Каппушева — курация пациенток, написание текста и редактирование статьи; Г.Н. Голухов — курация пациенток, редактирование статьи; К.В. Щербатюк — сбор

и обработка материала, написание текста и редактирование статьи; Д.С. Гуторова — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи; А.В. Овчинникова — статистическая обработка, обзор литературы; Б.И. Баисова — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи; В.Г. Бреусенко — написание текста и редактирование статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

L.M. Mikhaleva — concept and design of the study, writing the text and editing the article; L.M. Kappusheva — curation, writing the text and editing the article; G.N. Golukhov — curation, editing the article; K.V. Shcherbatyuk — data collection and processing, writing the text and editing the article; D.S. Gutorova — literature review, collection and analysis of literary sources, writing the text and editing the article; A.V. Ovchinnikova — literature review, statistical processing of the data; V.G. Breusenko — writing the text and editing the article; B.I. Baisova — literature review, collection and analysis of literary sources, writing the text and editing the article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cree I.A., White V.A., Indave B.I., Lokuhetty D. Revising the WHO classification: female genital tract tumours // *Histopathology*. 2020. Vol. 76, N 1. P. 151–156. doi: 10.1111/his.13977
2. Dore M., Filoche S., Danielson K., Henry C. Efficacy of the LNG-IUS for treatment of endometrial hyperplasia and early stage endometrial cancer: can biomarkers predict response? // *Gynecol Oncol Rep*. 2021. Vol. 36. P. 100732. doi: 10.1016/j.gore.2021.100732
3. Оразов М.Р., Михалева Л.М., Орехов Р.Е., и др. Профилактика гиперплазий эндометрия в репродуктивном периоде // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2022. Т. 21, № 1. С. 101–106. doi: 10.20953/1726-1678-2022-1-101-106
4. WHO classification of tumours. Female genital tumours, WHO classification of tumours. Vol. 4. 5th ed. Lyon : IARC Press, 2020.
5. Чернуха Г.Е., Иванов И.А., Эфендиева З.Н., и др. Этиологическая структура и возможности диагностики аномального маточного кровотечения // *Гинекология*. 2018. Т. 20, № 2. С. 14–18. doi: 10.26442/2079-5696_2018.2.14-18
6. Lacey J.V. Jr, Sherman M.E., Rush B.B., et al. Absolute risk of endometrial carcinoma during 20-year follow-up among women with endometrial hyperplasia // *J Clin Oncol*. 2010. Vol. 28, N 5. P. 788–792. doi: 10.1200/JCO.2009.24.1315
7. Chandra V., Kim J.J., Benbrook D.M., et al. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia // *J Gynecol Oncol*. 2016. Vol. 27, N 1. P. e8. doi: 10.3802/jgo.2016.27.e8
8. Nooh A.M., Abdeldayem H.M., Gurbash E.F., et al. Depo-provera versus norethisterone acetate in management of endometrial hyperplasia without atypia // *Reprod Sci*. 2016. Vol. 23, N 4. P. 448–454. doi: 10.1177/1933719115623643
9. Nees L.K., Heublein S., Steinmacher S., et al. Endometrial hyperplasia as a risk factor of endometrial cancer // *Arch Gynecol Obstet*. 2022. Vol. 306, N 2. P. 407–421. doi: 10.1007/s00404-021-06380-5
10. Каппушева Л.М., Михалёва Л.М., Голухов Г.Н., и др. Иммуногистохимическая оценка эффективности терапии прогестинами пациенток репродуктивного возраста с аномальными маточными кровотечениями и гиперплазией эндометрия без атипии // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2022. Т. 21, № 2. С. 18–24. doi: 10.20953/1726-1678-2022-2-18-24
11. Lin C.Y., Wu R.C., Yang L.Y., et al. MicroRNAs as predictors of future uterine malignancy in endometrial hyperplasia without atypia // *J Pers Med*. 2022. Vol. 12. P. 311. doi: 10.3390/jpm12020311
12. Пономаренко И.В., Верзилина И.Н., Сорокина И.Н., и др. Полиморфизм rs222003 гена GC как предиктор развития гиперплазии эндометрия // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2019. Vol. 18, N 6. P. 28–33. doi: 10.20953/1726-1678-2019-6-28-33
13. Hutt S., Taylor A., Ellis P., et al. The role of biomarkers in endometrial cancer and hyperplasia: a literature review // *Acta Oncol*. 2019. Vol. 58, N 3. P. 342–352. doi: 10.1080/0284186X.2018.1540886

14. Савельева Г.М., Бреусенко В.Г., Карева Е.Н., и др. Изучение роли экспрессии генов рецепторов эстрогенов и прогестерона в возникновении пролиферативных процессов в эндометрии для решения вопроса о тактике ведения больных с указанными патологическими изменениями эндометрия // Российский вестник акушера-гинеколога. 2018. Т. 18, № 6. С. 17–24. doi: 10.17116/rosakush20181806117

15. Михалева Л.М., Пацап О.И., Безуглова Т.В., и др. Новые клинико-морфологические предикторы неопластической трансформации у пациенток с эндометриоидными кистами яичников // Клиническая и экспериментальная морфология. 2021. Т. 10, № 1. С. 21–32. doi: 10.31088/CEM2021.10.1.21-32

16. Neal A.S., Nunez M., Lai T., et al. Expression of stromal progesterone receptor and differential methylation patterns in the endometrium may correlate with response to progesterone therapy in endometrial complex atypical hyperplasia // *Reprod Sci*. 2020. Vol. 27, N 9. P. 1778–1790. doi: 10.1007/s43032-020-00175-w

17. Михалева Л.М., Соломатина А.А., Курцер М.А., и др. Иммуногистохимический фенотип рецидивирующих эндометриоидных образований яичников // Клиническая и экспериментальная морфология. 2017. № 4. С. 15–21.

18. Kreizman-Shefer H., Pricop J., Goldman S., et al. Distribution of estrogen and progesterone receptors isoforms in endometrial cancer // *Diagn Pathol*. 2014. Vol. 9. P. 77. doi: 10.1186/1746-1596-9-77

19. Raffone A., Travaglini A., Saccone G., et al. Should progesterone and estrogen receptors be assessed for predicting the response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and cancer? A systematic review and meta-analysis // *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019. Vol. 98, N 8. P. 976–987. doi: 10.1111/aogs.13586

20. Унанян А.Л., Сидорова И.С., Коган Е.А., Д.В. Бабуринов. Клинико-патогенетические особенности гиперпластических процессов эндометрия у женщин перименопаузального возраста // ПМЖ «Медицинское обозрение». 2018. № 1. С. 67–71.

REFERENCES

1. Cree IA, White VA, Indave BI, Lokuhetty D. Revising the WHO classification: female genital tract tumours. *Histopathology*. 2020;76(1):151–156. doi: 10.1111/his.13977

2. Dore M, Filoche S, Danielson K, Henry C. Efficacy of the LNG-IUS for treatment of endometrial hyperplasia and early stage endometrial cancer: can biomarkers predict response? *Gynecol Oncol Rep*. 2021;36:100732. doi: 10.1016/j.gore.2021.100732

3. Orazov MR, Mikhaleva LM, Orekhov RE, et al. Prevention of endometrial hyperplasia in women of reproductive age. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology*. 2022;21(1):101–106. (In Russ). doi: 10.20953/1726-1678-2022-1-101-106

4. WHO classification of tumours. *Female genital tumours, WHO classification of tumours, Vol. 4. 5th ed*. Lyon: IARC Press; 2020.

5. Chernukha GE, Ivanov IA, Efendieva ZN, et al. Etiological structure and diagnosis of abnormal uterine bleeding. *Gynecology*. 2018;20(2):14–18. (In Russ). doi: 10.26442/2079-5696_2018.2.14-18

6. Lacey JV Jr, Sherman ME, Rush BB, et al. Absolute risk of endometrial carcinoma during 20-year follow-up among women with endometrial hyperplasia. *J Clin Oncol*. 2010;28(5):788–792. doi: 10.1200/JCO.2009.24.1315

7. Chandra V, Kim JJ, Benbrook DM, et al. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia. *J Gynecol Oncol*. 2016;27(1):e8. doi: 10.3802/jgo.2016.27.e8

8. Nooh AM, Abdeldayem HM, Girbash EF, et al. Depo-provera versus norethisterone acetate in management of endometrial hyperplasia without atypia. *Reprod Sci*. 2016;23(4):448–454. doi: 10.1177/1933719115623643

9. Nees LK, Heublein S, Steinmacher S, et al. Endometrial hyperplasia as a risk factor of endometrial cancer. *Arch Gynecol Obstet*. 2022;306(2):407–421. doi: 10.1007/s00404-021-06380-5

10. Kappusheva LM, Mikhaleva LM, Golukhov GN, et al. Immunohistochemical evaluation of the efficacy of therapy in female patients of reproductive age with abnormal uterine bleeding and endometrial hyperplasia. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology*. 2022;21:2:18–24. (In Russ). doi: 10.17116/rosakush20222205122

11. Lin CY, Wu RC, Yang LY, et al. MicroRNAs as predictors of future uterine malignancy in endometrial hyperplasia without atypia. *J Pers Med*. 2022;12:311. doi: 10.3390/jpm12020311

12. Ponomarenko IV, Verzilina IN, Sorokina IN, et al. Polymorphism rs222003 of GC gene as a predictor of endometrial hyperplasia. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology*. 2019;18(6):28–33. (In Russ). doi: 10.20953/1726-1678-2019-6-28-33

13. Hutt S, Tailor A, Ellis P, et al. The role of biomarkers in endometrial cancer and hyperplasia: a literature review. *Acta Oncol*. 2019;58(3):342–352. doi: 10.1080/0284186X.2018.1540886

14. Savelyeva GM, Breusenko VG, Kareva EN, et al. Investigation of the role of estrogen receptor and progesterone receptor gene expressions in the occurrence of endometrial proliferative processes to address the issue of management tactics for patients with these pathological changes in the endometrium. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2018;18(6):1724. (In Russ). doi: 10.17116/rosakush20181806117

15. Mikhaleva LM, Patsap OI, Bezuglova TV, et al. Novel clinical and morphological predictors of malignancy in patients with ovarian endometrioid cysts. *Clinical and Experimental Morphology*. 2021;10(1):21–32. (In Russ). doi: 10.31088/CEM2021.10.1.21-32

16. Neal AS, Nunez M, Lai T, et al. Expression of stromal progesterone receptor and differential methylation patterns in the endometrium may correlate with response to progesterone therapy in endometrial complex atypical hyperplasia. *Reprod Sci*. 2020;27(9):1778–1790. doi: 10.1007/s43032-020-00175-w

17. Mikhaleva LM, Solomatina AA, Kurtser MA, et al. Immunohistochemical phenotype of recurrent ovarian endometriomas. *Clinical and Experimental Morphology*. 2017;4(24):15–21. (In Russ).

18. Kreizman-Shefer H, Pricop J, Goldman S, et al. Distribution of estrogen and progesterone receptors isoforms in endometrial cancer. *Diagn Pathol*. 2014;9:77. doi: 10.1186/1746-1596-9-77

19. Raffone A, Travaglini A, Saccone G, et al. Should progesterone and estrogen receptors be assessed for predicting the response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and cancer? A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019;98(8):976–987. doi: 10.1111/aogs.13586

20. Unanjan AL, Sidorova IS, Kogan EA, Baburin DV. Clinico-pathogenetic features of hyperplastic endometrial processes in women of perimenopausal age. *RMJ. Medical Review*. 2018;1(1):67–71. (In Russ).

ОБ АВТОРАХ

*** Щербатюк Кристина Владимировна;**

адрес: Российская Федерация, 119049 Москва, 4-й Добрынинский пер., д. 1;

ORCID: 0000-0002-3773-6041;

e-mail: kv_shcherbatyuk@mail.ru

Михалёва Людмила Михайловна, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН;

ORCID: 0000-0003-2052-914X;

eLibrary SPIN: 2086-7513;

e-mail: mikhalevalm@yandex.ru

Каппушева Лаура Магомедовна, д.м.н., профессор;

ORCID: 0000-0003-2804-2870;

eLibrary SPIN: 1391-4794;

e-mail: laura60@mail.ru

Голухов Георгий Натанович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН;

ORCID: 0000-0002-0161-005X;

eLibrary SPIN: 5414-2026;

e-mail: info@gkb-31.ru

Гуторова Дина Сергеевна;

ORCID: 0000-0002-3597-2681;

eLibrary SPIN: 5809-1930;

e-mail: gutorova-d@rambler.ru

Овчинникова Анастасия Владимировна, к.м.н.;

ORCID: 0000-0003-2601-8674;

e-mail: a.ovchinnikova92@mail.ru

Байсова Белла Исаевна, к.м.н., доцент;

e-mail: agpf.gms@gmail.com

Бреусенко Валентина Григорьевна, д.м.н., профессор;

ORCID: 0000-0001-6999-4654;

eLibrary SPIN: 8006-4445;

e-mail: Breusenkovg@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

*** Kristina V. Shcherbatyuk**, MD;

address: 1 4th Dobryninskij pereulok, 119049 Moscow, Russian Federation;

ORCID: 0000-0002-3773-6041;

e-mail: kv_shcherbatyuk@mail.ru

Lyudmila M. Mikhaleva, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences;

ORCID: 0000-0003-2052-914X;

eLibrary SPIN: 2086-7513;

e-mail: mikhalevalm@yandex.ru

Laura M. Kappusheva, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;

ORCID: 0000-0003-2804-2870;

eLibrary SPIN: 1391-4794;

e-mail: laura60@mail.ru

Georgiy N. Golukhov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences;

ORCID: 0000-0002-0161-005X;

eLibrary SPIN: 5414-2026;

e-mail: info@gkb-31.ru

Dina S. Gutorova;

ORCID: 0000-0002-3597-2681;

eLibrary SPIN: 5809-1930;

e-mail: gutorova-d@rambler.ru

Anstasiya V. Ovchinnikova, MD, Cand. Sci. (Med.);

ORCID: 0000-0003-2601-8674;

e-mail: a.ovchinnikova92@mail.ru

Bella I. Baisova, MD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor;

e-mail: agpf.gms@gmail.com

Valentina G. Breusenko, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;

ORCID: 0000-0001-6999-4654;

eLibrary SPIN: 8006-4445;

e-mail: Breusenkovg@yandex.ru