

**IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF ENDOMETRIAL TISSUES
IN HYPERPLASTIC PROCESSES**

Medical Institute of Sumy State University (Sumy, Ukraine)

k.sikora@med.sumdu.edu.ua

Hyperplastic processes of the endometrium (HPE) are a common pathology of the female reproductive system. Excess estrogenic stimulation is a significant role in their development in the case of insufficient progesterone influence. Estrogen receptors (ER) alpha are the main isoforms that mediate endometrial proliferation in hyperplastic processes.

Our study aimed to determine the degree of ER expression in different types of HPE and to study the dependence of their expression on the histological variant and anthropometric indicators.

Tissue samples were divided into groups depending on the obtained result of histological examination, namely, atypical endometrial hyperplasia, endometrial glandular polyps, and endometrial glandular-fibrous polyps.

It has been established that endometrial glandular polyps occur at a younger age compared to atypical endometrial hyperplasia and glandular-fibrous endometrial polyps. In general, there is a tendency to increase the body mass index in women with HPE. There is no dependence of the type of endometrial hyperplastic processes on growth, body weight, and body mass index. Researching the expression of ER revealed a violation of the receptor status in HPE in the form of their uneven expression in the epithelial and stromal components. An increase in the expression of ER in the endometrial glands compared with the stroma was found to be uneven in intensity and concentration.

Violation of the receptor status in hyperplastic processes of the endometrium is characterized by uneven expression of ER in the epithelial and stromal components. Uneven expression of estrogen receptors in the glands and stroma of the endometrium is observed, which does not depend on the anthropometric parameters of the patients. A direct correlation between the expression of estrogen receptors in the epithelium and the stroma of the endometrium was established. The obtained results can serve as criteria for a differentiated approach to selecting treatment tactics for women with hyperplastic processes of the endometrium.

Key words: endometrial hyperplastic processes, endometrial hyperplasia, endometrial polyp, immunohistochemistry, estrogen receptors.

Connection of the publication with planned research works.

The work was carried out as part of the research work "Development of a method of intraoperative diagnosis of malignant tumours using fluorophore-conjugated antibodies to cancer-embryonic antigen molecules", state registration number 0121U100472, research work "Development of a method for diagnosing and predicting the course of tumours using molecules cell adhesion of cancer-embryonic antigen and cyclooxygenases", state registration number 0123U100111 and the planned scientific topic of the Department of Pathological Anatomy of Sumy State University "Modern views on the morphogenesis of general pathological processes", state registration number 0119U100887.

Introduction.

Endometrial hyperplastic processes (HPE) include endometrial hyperplasia (EH) and endometrial polyps (EP). HPE is a spectrum of irregular morphological changes, with the help of which the abnormal proliferation of endometrial glands leads to an increase in the ratio of the glandular component to the stroma compared to the endometrium in the proliferative phase of the menstrual cycle [1-3].

EH can cause endometrial cancer in 50% of cases [4], which remains the most common gynaecological malignancy [5]. There is an increasing trend in young women diagnosed with either endometrial cancer or its precancerous conditions – HPE [6]. The malignancy rate depends on such factors as the degree of architectural abnormality and the presence or absence of nuclear atypia [7].

The most important risk factor for developing HPE is the chronic effect of estrogen on the endometrium, which is not counteracted by progestins [1, 8, 9]. Examples of excessive endogenous exposure to estrogen include obesity, chronic anovulation, early menarche and late menopause, and the presence of estrogen-secreting tumours [8].

Estrogen affects female reproduction through two main classical receptors – estrogen receptors α (ER α) and ER β . Estrogen promotes endometrial growth, while progesterone blocks endometrial growth and promotes differentiation. Adequate expression of ER, including ER α , ER β , and G-protein ER, in the endometrium is critically essential for a regular menstrual cycle and the possibility of subsequent pregnancy. Violation of their expression can cause many diseases, such as endometriosis, HPE and endometrial carcinoma. The interaction of estrogen with ER α promotes the proliferation of uterine cells, and their imbalance is closely associated with an increased risk of endometrial carcinomas. At the same time, the level of ER β expression has the opposite effect [10]. The expression of ER, to some extent, predicts the response to conservative treatment with progestins in women with HPE [11]. Lower ER expression correlates with increased malignant transformation of HPE [1, 12-15].

The diagnosis of endometrial hyperplasia has so far been problematic and poorly reproducible, especially with the use of outdated classification schemes [11].

The aim of the study.

To determine the degree of dependence between the histological variants of HPE (non-atypical EH (NAEH),

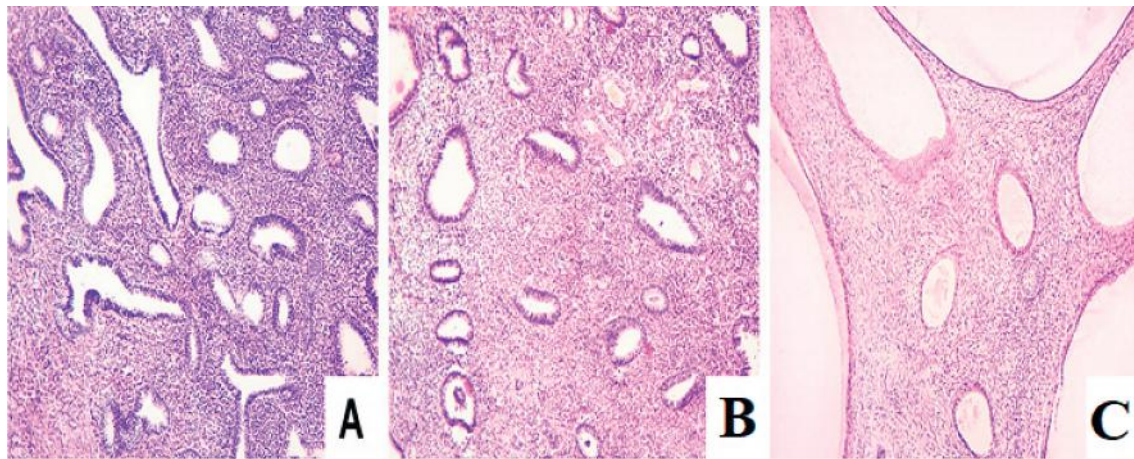


Figure 1 – Examples of HPE: A – NAEH, B – GEP, C – GFEP. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification: $\times 200$.

glandular EP (GEP) and glandular-fibrous EP (GFEP)) and anthropometric indicators of women, as well as the expression of ER in different histological variants of HPE to search for optimization of their diagnosis.

Object and research methods.

The study was conducted on tissue fragments obtained after surgical treatment (hysteroscopy) at the Sumy Regional Clinical Oncology Dispensary (Sumy, Ukraine) during 2020-2022. All patients provided written informed consent for tissue research and processing of personal data. Tissue samples from HPE are divided into three groups (depending on the result of histological examination): I – samples from NAEH; II groups – samples from GEP, III – samples from GFEP.

The anthropometric indicators of women (age, height, body weight, body mass index (BMI)) and the dependence of each indicator on each other and the type of HPE were studied. BMI was calculated using the formula: $BMI = m/h^2$, where m is body weight in kilograms, and h is height in meters.

Diagnostic hysteroscopy was performed using an office hysteroscope BETTOCHI Karl Storz (Germany) using optics with a diameter of 6 mm and a viewing angle of 30° ; at the same time, an optical medium of 0.9% sodium chloride solution was used. Hysteroscopy was performed with a resectoscope with a diameter of 9 mm using HOPKINS optics with a diameter of 4 mm and a viewing angle of 30° ; optical medium "Turusol".

An immunohistochemical study of ER expression was performed according to the protocols of the antibody manufacturer and imaging system. The antigens were unmasked in a BV-4 water bath in a citrate buffer at a pH of 6.0 at a temperature of $97-98^\circ\text{C}$ for 30 minutes to restore the original protein structure. Then endogenous peroxidase activity was neutralized by exposing it to a 3% H_2O_2 solution for 10 minutes. After that, the preparations were washed in phosphate buffer. An indirect method of receptor identification was used. In the first stage, incubation was performed with monoclonal rabbit antibodies to ER α (clone SP1); in the second stage, with secondary antibodies (UltraVision ONE HRP Polymer). Diaminobenzidine was used as a chromogen. The sections were stained with Mayer's hematoxylin to identify receptor-negative nuclei. The expression results were evaluated using the H-Score histological calculation. A negative reaction was considered the number of points obtained from 0 to 10; weakly positive – from 11 to 100

points; moderately positive – from 101 to 200 points; strongly positive – from 201 to 300 points.

Image analysis and archiving were performed using a Carl Zeiss Primo Star microscope with a Zeiss AxioCam ERc 5 s digital camera and ZEN 2 software (blue edition) (Oberkochen, Germany). Statistical analysis was performed using the SPSS Statistics 29.0 for Windows software package. Results with $p < 0.05$ (95% confidence) were considered statistically significant.

Research results and their discussion.

The average age of women with HPE is 47.22 ± 10.49 years; in women with NAEH – 50.87 ± 9.3 years; with GEP – 37.86 ± 5.6 years; with GFEP – 47.59 ± 10.8 years. At the same time, women with GEP (37.86 ± 5.6) were slightly younger ($F=4.19$, $p=0.021$) than patients with NAEH (50.87 ± 9.3) and GFEP (47.59 ± 10.84). The average height of women was 164.26 ± 4.85 cm and almost did not differ between the three studied groups (NAEH – 164.13 ± 4.8 cm; GEP – 164.43 ± 4.9 cm; GFEP – 164.28 ± 5.1 cm) ($F=0.009$, $p=0.99$). The average weight of women in the general group with HPE was 73.24 ± 16.4 kg; with NAEH – 77.4 ± 16.1 kg; from GEP – 60.57 ± 5.2 kg; with GFEP – 74.1 ± 17.1 kg). The average BMI of all examinees was at the level of 27.18 ± 6.2 ; in the group with EH – 28.55 ± 4.9 ; with GEP – 22.4 ± 1.6 ; with GFEP – 27.62 ± 7.1 . It should be noted that according to this indicator, 51% of women were either overweight or obese to various degrees. At the same time, we did not find a significant difference in BMI between the groups ($F=2.67$, $p=0.08$).

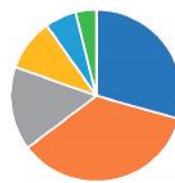
During the histological examination of samples from NAEH, the non-invasive proliferation of glands and stroma of the endometrium were observed. Glands usually had a rounded shape and different sizes. Branched glands were also found (fig. 1A). GEP were formed from the basal layer and were a local growth of glands and stroma. They were formed from unevenly distributed glands of different shapes and sizes with a denser stroma. The glands were lined with indifferent epithelium or proliferative type epithelium. Foci of glandular hyperplasia were determined in individual areas. At the base of the polyp was a tangle of vessels with thickened walls (fig. 1B). GFEP looked like connective tissue formations with a limited number of glands (fig. 1C). At the same time, the epithelium that lined the lumen of the glands was mostly single – or double-layered. Areas of lymphocytic infiltration were determined focally.

Positive expression of ER was found in all studied samples, both in the epithelium of the endometrial glands and in the cells of the stroma. Greater expression was observed in the epithelial component compared to the stromal component in each HPE group. The ER expression had a mosaic character – alternating receptor-positive and receptor-negative cells (both in individual glands and within the same gland). An uneven distribution of the staining intensity of cell nuclei in the epithelial component was characteristic. In some cases, the focal location of ER-positive and ER-negative epithelial and stromal cells was determined.

A strongly positive reaction to the expression of ER in the epithelium of the endometrial glands among cases with HPE was found in 72.5%; moderately positive – in 23.5% of cases; weakly positive – in 4% of cases (fig. 2). In the group with NAEH, 67% of the tissues had a strong positive reaction, 20% with a moderately positive expression, and 13% with a mildly positive reaction. In the group with GEP – 86% with a strong positive reaction, and 14% with a moderately positive expression. In the group with GFEP – 72% had a strongly positive reaction, and 28% had a moderately positive expression. On average, the immunoreactivity of epithelial cells in the general group was 226 ± 5 , in the group of tissues with NAEH – 216 ± 75.7 , with GEP – 245.7 ± 38.7 , and with GFEP – 228.5 ± 52 . There was no difference between the groups in women with different histological variants of HPE regarding the expression of ER in the epithelium ($F=0.63$, $p=0.54$).

In samples from HPE, ER expression in the stroma was strongly positive in 31% of cases, moderately positive in 57% of cases, and weakly positive in 12% of cases. By group, this distribution was as follows: NAEH – in 53% of cases, a strongly positive reaction, in 40% – moderately positive, and in 7% – mildly positive; GEP – in 29% – strongly positive, in 57% – moderately positive, and in 14% – mildly positive; GFEP – in 21% – strongly positive, in 65% – moderately positive, and in 14% – mildly positive. On average, immunoreactivity in stromal cells in the group of tissues with NAEH was 186.7 ± 51.5 , with

Results of the expression of ER in tissues with HPE



- Strongly positive reaction in the epithelial and stromal components
- Strongly positive reaction in epithelial and moderately positive in stromal components
- Moderately positive reaction in epithelial and stromal components
- Moderately positive reaction in epithelial and weakly positive in stromal components
- Strongly positive reaction in epithelial and weakly positive in stromal components
- Weakly positive reaction in epithelial and moderately positive in stromal components

Figure 2 – Results of immunohistochemical study of ER expression in the general group with HPE.

GEP – 165.7 ± 47.9 , and with GFEP – 152.8 ± 50.9 (fig. 3). There was also no statistically significant difference between the groups regarding ER expression in stromal cells ($F=2.21$, $p=0.12$). At the same time, a statistically significant lower level of ER expression in the stroma was established, both in general among HPE and in each individual group ($p<0.05$).

According to the results of an immunohistochemical study of the expression of ER in samples from HPE, the most significant number of cases (35.3%) had a strongly positive reaction in the epithelial and a moderately positive reaction in the stromal components; 29.4% had a strongly positive reaction in the epithelial and stromal components; in 15.7% of cases, a moderately positive reaction was found in the epithelial and stromal components. A moderately positive reaction in the epithelial and weakly positive in the stromal components was found in 9.8% of cases. 5.9% had a strongly positive reaction in the epithelial and a weakly positive reaction in the stromal component. In 3.9% of cases, a weakly positive reaction was observed in the epithelial and moderately positive in the stromal components (fig. 2 and 3).

The relevance of HPE research is due to the high risk of malignancy, menstrual cycle disorders, dysfunc-

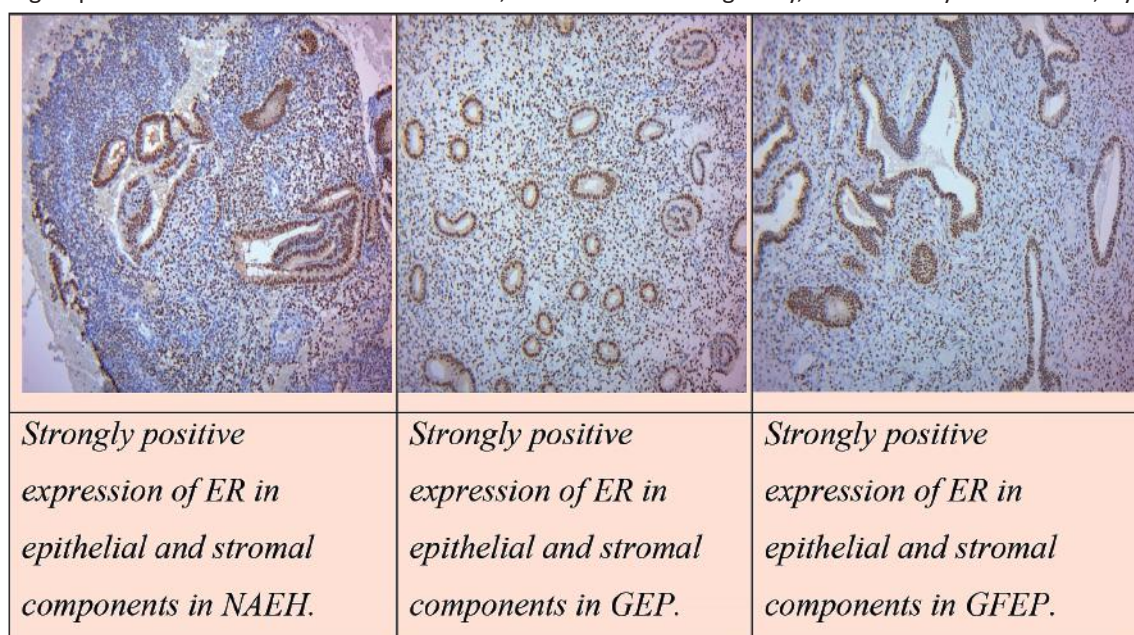


Figure 3 – Individual cases of HPE tissues with strong positive expression of ER in epithelial and stromal components. Magnification: $\times 100$.

tional uterine bleeding, and infertility in women of various ages [4]. Early detection of HPE is the basis of preventing endometrial cancer development [15,16]. ERs, which are targets for estrogen, play a crucial role in the pathophysiology of female genital organs and the development of HPE [17,18]. By interacting with them, estrogen induces the proliferation of the endometrium [8]. The expression of ER, to some extent, predicts the response to conservative treatment with progestins in women with HPE and endometrial cancer stage I [19]. Considering the above, there is a need to optimize data on the threshold values of ER expression in normal endometrial tissues and their pathological changes for adequate hormone therapy [20].

We analysed the obtained results and found that GEP occurs at a younger age than NAEH and GFEP. There is no dependence of the type of HPE on height, body weight and BMI. In general, there is a trend towards an increase in BMI in women with HPE (51% of women were overweight or obese of various degrees).

We found a positive expression of ER in all studied types of HPE. It was at a high level in the epithelial and stromal components of NAEH. We also established the predominance of ER expression in the epithelial compo-

nent compared to the stromal component in each group of HPE. In all groups with HPE, there were cases of mosaic immunoreactivity. No dependence was found between the expression of ER in the epithelial and stromal components and the type of HPE. At the same time, a direct correlation between ER expressions in the epithelium and stroma of endometrial glands was revealed.

Conclusions.

Violation of the receptor status in hyperplastic processes of the endometrium is characterized by uneven expression of ER in the epithelial and stromal components. Uneven expression of estrogen receptors in the glands and stroma of the endometrium is observed, which does not depend on the anthropometric parameters of the patients. A direct correlation between the expression of estrogen receptors in the epithelium and the stroma of the endometrium was established. The obtained results can serve as criteria for a differentiated approach to selecting treatment tactics for women with hyperplastic processes of the endometrium.

Prospects for further research.

Investigate the participation of genetic polymorphism in the development of endometrial hyperplastic processes.

DOI 10.29254/2077-4214-2023-2-169-415-423

УДК 616-091

Циндренко Н. Л., Линдін М. С., Гирявенко Н. І., Сікора К. О., Цепочко Д. Г., Романюк А. М.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТКАНИН ЕНДОМЕТРІЮ ПРИ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСАХ

Сумський державний університет, Навчально-науковий медичний інститут (м. Суми, Україна)

k.sikora@med.sumdu.edu.ua

Гіперпластичні процеси ендометрія (ГПЕ) є поширеною патологією жіночої репродуктивної системи. Значна роль у їх розвитку належить надлишковій естрогенній стимуляції за умови недостатності прогестеронового впливу. Рецептори до естрогену (РдЕ) альфа є основними ізоформами, які опосередковують проліферацію ендометрію при гіперпластичних процесах.

Метою нашого дослідження було визначити ступінь експресії РдЕ при різних типах ГПЕ та вивчити залежність їх експресії від гістологічного варіанту та антропометричних показників.

Зразки тканин були розподілені на групи залежно від отриманого результату гістологічного дослідження, а саме – неатипова гіперплазія ендометрія, залозисті поліпи ендометрія та залозисто-фіброзні поліпи ендометрія.

Встановлено, що залозисті поліпи ендометрія зустрічаються у більш молодому віці порівняно із неатиповою гіперплазією ендометрія та залозисто-фіброзними поліпами ендометрія. Загалом спостерігається тенденція до підвищення індексу маси тіла у жінок з ГПЕ. Відсутня залежність типу гіперпластичних процесів ендометрія від росту, маси тіла та індексу маси тіла. Досліджуючи експресію РдЕ, виявлено порушення рецепторного статусу при ГПЕ у вигляді нерівномірної експресії в епітеліальному та стромальному компонентах. Виявлено нерівномірну за інтенсивністю та концентрацією збільшення експресії РдЕ в залозах ендометрія у порівнянні зі стромою.

Порушення рецепторного статусу при гіперпластичних процесах ендометрію характеризується нерівномірною експресією РдЕ в епітеліальному та стромальному компонентах. Спостерігається нерівномірність за інтенсивністю експресії рецепторів до естрогену в залозах та стромі ендометрія, яка не залежить від антропометричних показників пацієнтів. Встановлено прямий кореляційний зв'язок між експресіями рецепторів до естрогену у епітелії та стромі ендометрію. Отримані результати можуть слугувати критеріями диференційованого підходу до вибору тактики лікування жінок з гіперпластичними процесами ендометрію.

Ключові слова: гіперпластичні процеси ендометрія, гіперплазія ендометрія, поліп ендометрія, імуногістохімія, рецептори до естрогену.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота виконана у рамках НДР «Розробка методу інтраопераційної діагностики злоякісних пухлин

за допомогою флюорофор-кон'югованих антитіл до молекул раково-ембріонального антигену», № держреєстрації 0121U100472, НДР «Розробка методу діагностики та прогнозування перебігу пухлин

з використанням молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену та циклооксигенази», № держреєстрації 0123U100111 та планової наукової теми кафедри патологічної анатомії СумДУ «Сучасні погляди на морфогенез загальнопатологічних процесів», № держреєстрації 0119U100887.

Вступ.

До гіперпластичних процесів ендометрія (ГПЕ) належать гіперплазія ендометрія (ГЕ) та поліпи ендометрія (ПЕ). ГПЕ являють собою спектр нерегулярних морфологічних змін, за допомогою яких аномальна проліферація ендометріальних залоз призводить до збільшення співвідношення залозистого компоненту до стромы порівняно з ендометрієм у проліферативній фазі менструального циклу [1-3].

ГЕ може спричинити рак ендометрія у 50% випадків [4], який залишається найпоширенішим гінекологічним злоякісним новоутворенням [5]. Спостерігається тенденція до зростання кількості молодих жінок, у яких діагностовано або рак ендометрія, або його передракові стани – ГПЕ [6]. Швидкість малігнізації залежить від таких факторів, як ступінь архітектурної аномалії та наявності або відсутності ядерної атипії [7].

Найважливішим фактором ризику розвитку ГПЕ є хронічний вплив естрогену на ендометрій, що не має протидії прогестинів [1, 8, 9]. Приклади надмірного ендогенного впливу естрогену включають ожиріння, хронічну ановуляцію, раннє менархе та пізню менопаузу, а також наявність пухлин, що секретують естроген [8].

Естроген впливає на жіночу репродукцію *через* два основні класичні рецептори – рецептори до естрогену α (РдЕ α) і РдЕ β . Естроген сприяє росту ендометрію, тоді як прогестерон блокує ріст ендометрія та сприяє диференціації. Адекватна експресія РдЕ, включаючи РдЕ α , РдЕ β і G-білковий РдЕ, в ендометрії є критично важливим явищем для нормального менструального циклу та можливості подальшої вагітності. Порушення їх експресії може викликати багато захворювань, таких як ендометріоз, ГПЕ та карциному ендометрія. Взаємодія естрогену з РдЕ α сприяє проліферації клітин матки, а їх дисбаланс тісно пов'язаний із підвищеним ризиком розвитку ендометріальних карцином. При цьому рівень експресії РдЕ β має протилежний вплив [10]. Експресія РдЕ певною мірою прогнозує відповідь на консервативне лікування прогестинами у жінок з ГПЕ [11]. Нижча експресія РдЕ корелює зі збільшенням злоякісної трансформації ГПЕ [1, 12-15].

Діагностика гіперплазії ендометрію досі була проблематичною та погано відтворюваною, особливо з використанням застарілих схем класифікації [11].

Мета дослідження.

Визначити ступінь залежності між гістологічними варіантами ГПЕ (неатиповою ГЕ (НГЕ), залозистими ПЕ (ЗПЕ) і залозисто-фіброзними ПЕ (ЗФПЕ)) та антропометричними показниками жінок, а також експресії РдЕ у різних гістологічних варіантах ГПЕ для пошуку оптимізації їх діагностики.

Об'єкт і методи дослідження.

Дослідження проводилось на фрагментах тканин, отриманих після хірургічного лікування (гістерорезектоскопії) на базі Сумського обласного клінічного онкологічного диспансеру (Суми, Україна) протягом

2020-2022 років. Усі пацієнтки надавали письмову інформовану згоду на проведення дослідження тканин та обробку персональних даних. Зразки тканин з ГПЕ розподілено на три групи (залежно від отриманого результату гістологічного дослідження): I – зразки з НГЕ; II групи – зразки із ЗПЕ, III – зразки із ЗФПЕ.

Досліджували антропометричні показники жінок (вік, зріст, масу тіла, індекс маси тіла (ІМТ)) та залежність кожного показника між собою та типом ГПЕ. ІМТ розраховували за формулою: $IMT = m:h^2$, де m – маса тіла в кілограмах, а h – зріст в метрах.

Діагностичну гістероскопію проводили за допомогою офісного гістероскопа ВЕТТОСНІ Karl Storz (Німеччина) з використанням оптики діаметром 6 мм і кутом огляду 30°; при цьому застосовували оптичне середовище 0,9% розчин натрію хлориду. Гістерорезектоскопію виконували резектоскопом діаметром 9 мм з використанням оптики HOPKINS діаметром 4 мм й кутом огляду 30°; оптичне середовище «Турсол».

Імуногістохімічне дослідження експресії РдЕ проводили згідно протоколів виробника антитіла та системи візуалізації. З метою відновлення оригінальної структури білка демаскування антигенів проводили у водяній бані БВ-4 у цитратному буфері при рівні рН 6,0 за температурного режиму 97-98°C упродовж 30 хвилин. Далі нейтралізували ендогенну пероксидазну активність шляхом впливу на неї 3% розчину H_2O_2 протягом 10 хвилин. Після цього препарати промивали у фосфатному буфері. Використовували непрямий метод ідентифікації рецепторів. На першому етапі виконувалося інкубування із моноклональними кролячими антитілами до РдЕ α (клон SP1); на другому етапі із вторинними антитілами (UltraVision ONE HRP Polymer). Як хромоген використовували діамінобензидин. З метою виявлення рецептор-негативних ядер зрізи дофарбовували гематоксиліном Маєра. Результати експресії оцінювали за допомогою гістологічного розрахунку H-Score. Негативною реакцією вважали отриману кількість балів від 0 до 10; слабопозитивною – від 11 до 100 балів; помірно-позитивною – від 101 до 200 балів; сильнопозитивною – від 201 до 300 балів.

Аналіз та архівування зображень були виконані за допомогою мікроскопу Carl Zeiss Primo Star з цифровою камерою Zeiss AxioCam ERc 5 s та програмним забезпеченням ZEN 2 (blue edition) (Oberkochen, Німеччина). Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного пакета «SPSS Statistics 29.0 for Windows». Статистично значущими вважалися результати з $p < 0,05$ (95% достовірність).

Результати дослідження та їх обговорення.

Середній вік жінок з ГПЕ становить 47.22 ± 10.49 років; у жінок з НГЕ – 50.87 ± 9.3 роки; із ЗПЕ – 37.86 ± 5.6 років; із ЗФПЕ – 47.59 ± 10.8 років. При цьому жінки з ЗПЕ (37.86 ± 5.6) були дещо молодшими ($F=4.19$, $p=0.021$) по відношенню до пацієнтів з НГЕ (50.87 ± 9.3) та ЗФПЕ (47.59 ± 10.84). Середній зріст жінок склав 164.26 ± 4.85 см та майже не відрізнявся між трьома досліджуваними групами (НГЕ – 164.13 ± 4.8 см; ЗПЕ – 164.43 ± 4.9 см; ЗФПЕ – 164.28 ± 5.1 см) ($F=0.009$, $p=0.99$). Середня вага жінок у загальній групі з ГПЕ складала 73.24 ± 16.4 кг; із НГЕ – 77.4 ± 16.1 кг; із ЗПЕ – 60.57 ± 5.2 кг; із ЗФПЕ – 74.1 ± 17.1 кг). ІМТ усіх обстежених у середньому був на рівні

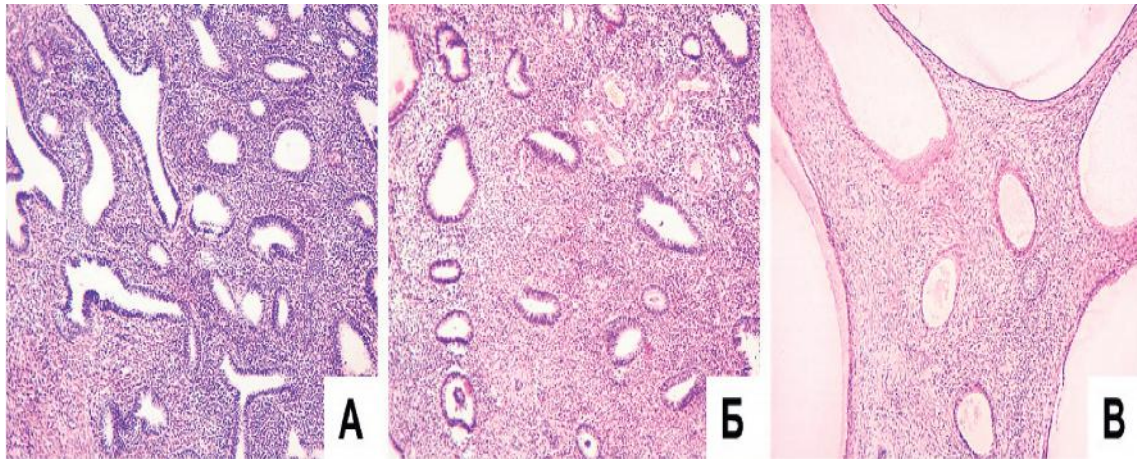


Рисунок 1 – Приклади ГПЕ: А – НГЕ, Б – ЗПЕ, В – ЗФПЕ. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення: $\times 200$.

27,18 $\pm$ 6,2; у групі з ГЕ – 28,55 $\pm$ 4,9; із ЗПЕ – 22,4 $\pm$ 1,6; із ЗФПЕ – 27,62 $\pm$ 7,1. Слід зазначити, що згідно цього показника у 51% жінок була або зайва вага, або ожиріння різного ступеня. При цьому між групами достовірної різниці за показником ІМТ ми не виявили ($F=2.67$, $p=0.08$).

При гістологічному дослідженні зразків з НГЕ спостерігалася неінвазивна проліферація залоз і строми ендометрія. Залози зазвичай мали округлу форму та різну величину. Траплялися і розгалуджені залози (рис. 1А). ЗПЕ утворювалися з базального шару і представляли собою локальне розростання залоз та строми. Вони утворювалися з нерівномірно розподілених залоз різної форми та розміру з більш щільною стромою. Залози були вистелені індивідуальним епітелієм або епітелієм проліферативного типу. На окремих ділянках визначалися вогнища залозистої гіперплазії. В основі поліпу розташовувався клубок судин з потовщеними стінками (рис. 1Б). ЗФПЕ виглядали як сполучнотканинні утворення з обмеженою кількістю залоз (рис. 1В). При цьому епітелій, який вистилав просвіт залоз, був переважно одно- або двоядним. Вогнищево визначалися ділянки лімфоцитарної інфільтрації.

Позитивна експресія РдЕ виявлена у всіх досліджуваних зразках як у епітелії ендометріальних залоз, так і у клітинах строми. Спостерігалася більша експресія в епітеліальному компоненті порівняно зі стромальним у кожній групі ГПЕ. Експресія РдЕ мала мозаїчний характер – чергування рецептор-позитивних та рецептор-негативних клітин (як в окре-

мих залозах, так і в межах однієї залози). Притаманним було нерівномірне розподілення інтенсивності забарвлення ядер клітин в епітеліальному компоненті. У деяких випадках визначалося вогнищево розташування РдЕ-позитивних та РдЕ-негативних епітеліальних та стромальних клітин.

Сильнопозитивна реакція щодо експресії РдЕ в епітелії ендометріальних залоз серед випадків з ГПЕ виявлена у 72,5%; помірнопозитивна – у 23,5% випадків; слабопозитивна – у 4% випадків (рис. 2). У групі із НГЕ 67 % тканин були із сильнопозитивною реакцією, 20% із помірнопозитивною експресією та 13% із легкопозитивною реакцією. У групі із ЗПЕ – 86% із сильнопозитивною реакцією та 14% із помірнопозитивною експресією. У групі із ЗФПЕ – 72% із сильнопозитивною реакцією та 28% із помірнопозитивною експресією. У середньому імунореактивність епітеліальних клітин у загальній групі склала 226 $\pm$ 5, у групі тканин з НГЕ – 216 $\pm$ 75,7, із ЗПЕ – 245,7 $\pm$ 38,7, та з ЗФПЕ – 228,5 $\pm$ 52. Різниці між групами у жінок з різними гістологічними варіантами ГПЕ щодо експресії ER у епітелії не виявлено ($F=0.63$, $p=0.54$).

У зразках з ГПЕ експресія РдЕ у стромі була сильнопозитивна у 31% випадків, помірнопозитивна – у 57% випадків, та слабопозитивна – у 12% випадків. За групами цей розподіл був наступний: НГЕ – у 53 % випадків сильнопозитивна реакція, у 40% – помірнопозитивна, та у 7% – легкопозитивна; ЗПЕ – у 29% – сильнопозитивна, у 57% – помірнопозитивна, та 14% – легкопозитивна; ЗФПЕ – у 21% – сильнопозитивна, у 65% – помірнопозитивна, та у 14% – легкопозитивна. У середньому імунореактивність у клітинах строми у групі тканин з НГЕ склала 186,7 $\pm$ 51,5, з ЗПЕ – 165,7 $\pm$ 47,9, та з ЗФПЕ – 152,8 $\pm$ 50,9 (рис. 3). Статистично значущої різниці між групами щодо експресії ER у клітинах строми також не виявлено ($F=2.21$, $p=0.12$). При цьому встановлено статистично достовірний менший ступінь експресії ER у стромі як загалом серед ГПЕ, так і у кожній окремій групі ($p<0.05$).

За результатами імуногістохімічного дослідження експресії РдЕ у зразках з ГПЕ найбільша кількість випадків (35,3%) була із сильнопозитивною реакцією в епітеліальному та помірнопозитивною у стромальному компоненті; у 29,4% – була сильнопозитивна реакція в епітеліальному та стромальному компоненті; у 15,7% випадках виявлена помірнопозитивна реакція в епітеліальному та стромальному компо-



Рисунок 2 – Результати імуногістохімічного дослідження експресії РдЕ у загальній групі з ГПЕ.

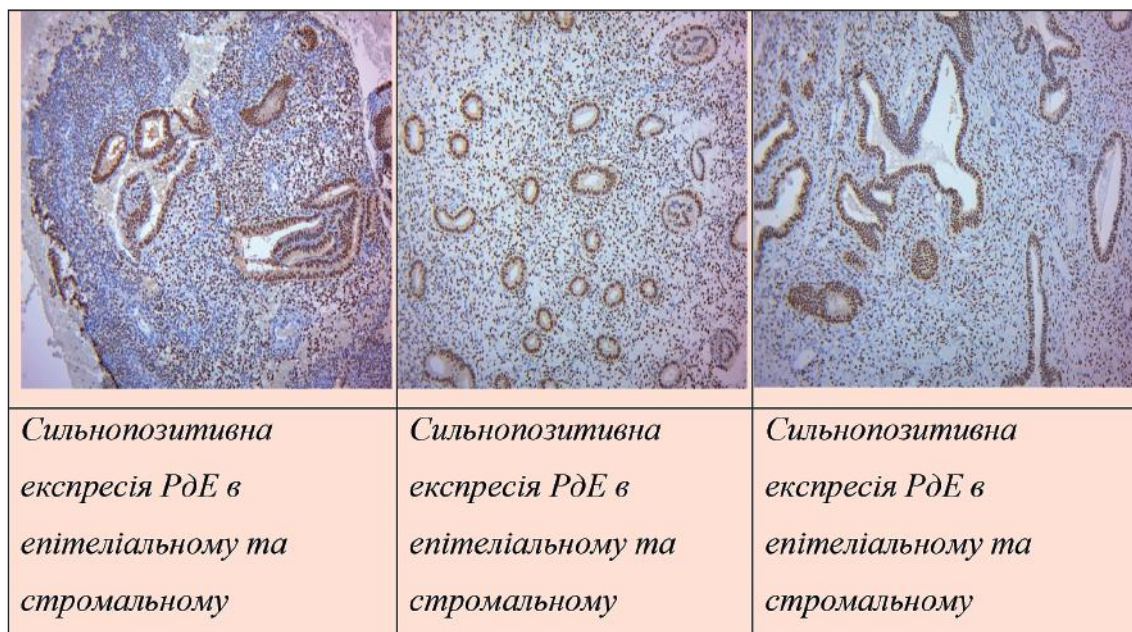


Рисунок 3 – Окремі випадки тканин з ГПЕ з сильнопозитивною експресією РдЕ в епітеліальному та стромальному компонентах. Збільшення: $\times 100$

нентах. Помірнопозитивна реакція в епітеліальному та слабкопозитивна у стромальному компонентах виявлена у 9,8% випадків. У 5,9% була сильнопозитивна реакція в епітеліальному та слабкопозитивна у стромальному компонентах. У 3,9% випадків спостерігалася слабкопозитивна реакція в епітеліальному та помірнопозитивна у стромальному компонентах (рис. 2 та 3).

Актуальність дослідження ГПЕ обумовлена високим ризиком малігнізації, порушенням менструального циклу, дисфункціональними матковими кровотечами та непліддям у жінок різного віку [4]. Раннє виявлення ГПЕ є основою профілактики розвитку раку ендометрія [15,16]. РдЕ, які є мішенню для естрогену, відіграють вирішальну роль у фізіопатології жіночих статевих органів та розвитку ГПЕ [17,18]. Взаємодіючи з ними, естроген індукує проліферацію ендометрія [8]. Експресія РдЕ певною мірою прогнозує відповідь на консервативне лікування прогестинами у жінок з ГПЕ та раком ендометрія I стадії [19]. Враховуючи вищевказане існує потреба в оптимізації даних про порогові значення експресії РдЕ у нормальних тканинах ендометрія та при їх патологічних змінах для адекватної гормонотерапії [20].

Аналізуючи отримані результати нами встановлено, що ЗПЕ зустрічаються у більш молодому віці порівняно із НГЕ та ЗФПЕ. Відсутня залежність типу ГПЕ від росту, маси тіла та ІМТ. Загалом спостерігається тенденція до підвищення ІМТ у жінок з ГПЕ (у 51% жінок була надмірна вага або ожиріння різного ступеня).

Нами виявлена позитивна експресія РдЕ при всіх досліджуваних типах ГПЕ. Вона була на високому рівні в епітеліальному та стромальному компонентах при НГЕ. Також нами встановлено переважання експресії РдЕ в епітеліальному компоненті порівняно зі стромальним у кожній групі ГПЕ. В усіх групах з ГПЕ були випадки мозаїчності імунореактивності. Не виявлено залежності між експресією РдЕ в епітеліальному та стромальному компонентах та типом ГПЕ. При цьому виявлена пряма кореляційна залежність між експресіями РдЕ в епітелії та стромі ендометріальних залоз.

Висновки.

Порушення рецепторного статусу при гіперпластичних процесах ендометрію характеризується нерівномірною експресією РдЕ в епітеліальному та стромальному компонентах. Спостерігається нерівномірність за інтенсивністю експресії рецепторів до естрогену в залозах та стромі ендометрія, яка не залежить від антропометричних показників пацієнтів. Встановлено прямий кореляційний зв'язок між експресіями рецепторів до естрогену у епітелії та стромі ендометрію. Отримані результати можуть слугувати критеріями диференційованого підходу до вибору тактики лікування жінок з гіперпластичними процесами ендометрію.

Перспективи подальших досліджень.

Дослідити участь генетичного поліморфізму в розвитку гіперпластичних процесах ендометрію.

References / Література

- Sanderson PA, Critchley HO, Williams AR, Arends MJ, Saunders PT. New concepts for an old problem: the diagnosis of endometrial hyperplasia. Hum Reprod Update. 2017 Mar 1;23(2):232-254. DOI: [10.1093/humupd/dmw042](https://doi.org/10.1093/humupd/dmw042).
- Chandra V, Kim JJ, Benbrook DM, Dwivedi A, Rai R. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia. J Gynecol Oncol. 2016 Jan;27(1):e8. DOI: [10.3802/jgo.2016.27.e8](https://doi.org/10.3802/jgo.2016.27.e8).
- Travaglino A, Raffone A, Saccone G, Insabato L, Mollo A, De Placido G, et al. Immunohistochemical predictive markers of response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and early endometrial cancer: A systematic review. Acta Obstet Gynecol Scand. 2019 Sep;98(9):1086-1099. DOI: [10.1111/aogs.13587](https://doi.org/10.1111/aogs.13587).
- Goncharenko VM, Beniuk VA, Kalenska OV, Demchenko OM, Spivak MY, Bubnov RV. Predictive diagnosis of endometrial hyperplasia and personalized therapeutic strategy in women of fertile age. EPMA J. 2013 Dec 6;4(1):24. DOI: [10.1186/1878-5085-4-24](https://doi.org/10.1186/1878-5085-4-24).

5. Doherty MT, Sanni OB, Coleman HG, Cardwell CR, McCluggage WG, Quinn D, et al. Concurrent and future risk of endometrial cancer in women with endometrial hyperplasia: A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2020 Apr 28;15(4):e0232231. DOI: [10.1371/journal.pone.0232231](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232231).
6. Hutt S, Taylor A, Ellis P, Michael A, Butler-Manuel S, Chatterjee J. The role of biomarkers in endometrial cancer and hyperplasia: a literature review. Acta Oncol. 2019 Mar;58(3):342-352. DOI: [10.1080/0284186X.2018.1540886](https://doi.org/10.1080/0284186X.2018.1540886).
7. Lyndin M, Kravtsova O, Sikora K, Lyndina Y, Kuzenko Y, Awuah WA, et al. COX2 Effects on endometrial carcinomas progression. Pathol Res Pract. 2022 Aug 17;238:154082. DOI: [10.1016/j.prp.2022.154082](https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.154082).
8. Nees LK, Heublein S, Steinmacher S, Juhasz-Böss I, Brucker S, Tempfer CB, et al. Endometrial hyperplasia as a risk factor of endometrial cancer. Arch Gynecol Obstet. 2022 Aug;306(2):407-421. DOI: [10.1007/s00404-021-06380-5](https://doi.org/10.1007/s00404-021-06380-5).
9. Mills AM, Longacre TA. Endometrial hyperplasia. Semin Diagn Pathol. 2010 Nov;27(4):199-214. DOI: [10.1053/j.semdp.2010.09.002](https://doi.org/10.1053/j.semdp.2010.09.002).
10. Yu K, Huang ZY, Xu XL, Li J, Fu XW, Deng SL. Estrogen Receptor Function: Impact on the Human Endometrium. Front Endocrinol (Lausanne). 2022 Feb 28;13:827724. DOI: [10.3389/fendo.2022.827724](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.827724).
11. Raffone A, Travaglini A, Saccone G, Mollo A, De Placido G, Insabato L, 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 Aug;98(8):976-987. DOI: [10.1111/aogs.13586](https://doi.org/10.1111/aogs.13586).
12. Bircan S, Ensari A, Ozturk S, Erdogan N, Dundar I, Ortac F. Immunohistochemical analysis of c-myc, c-jun and estrogen receptor in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. Pathol Oncol Res. 2005;11(1):32-9. DOI: [10.1007/BF03032403](https://doi.org/10.1007/BF03032403).
13. Masjeed NMA, Khandeparkar SGS, Joshi AR, Kulkarni MM, Pandya N. Immunohistochemical Study of ER, PR, Ki67 and p53 in Endometrial Hyperplasias and Endometrial Carcinomas. J Clin Diagn Res. 2017 Aug;11(8):EC31-EC34. DOI: [10.7860/JCDR/2017/28750.10475](https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/28750.10475).
14. Kuźmycz O, Stączek P. Prospects of NSAIDs administration as double-edged agents against endometrial cancer and pathological species of the uterine microbiome. Cancer Biol Ther. 2020 Jun 2;21(6):486-494. DOI: [10.1080/15384047.2020.1736483](https://doi.org/10.1080/15384047.2020.1736483).
15. Chatzipantelis P, Koukourakis M, Balaska K, Giatromanolaki A. Endometrial Stromal Expression of ER, PR, and B-Catenin Toward Differentiating Hyperplasia Diagnoses. Int J Surg Pathol. 2022 Aug;30(5):492-498. DOI: [10.1177/10668969211065110](https://doi.org/10.1177/10668969211065110).
16. Antunes AJr, Vassallo J, Pinheiro A, Leão R, Neto AM, Costa-Paiva L. Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors in endometrial polyps: A comparison between benign and malignant polyps in postmenopausal patients. Oncol Lett. 2014 Jun;7(6):1944-1950. DOI: [10.3892/ol.2014.2004](https://doi.org/10.3892/ol.2014.2004).
17. Peres GF, Spadoto-Dias D, Bueloni-Dias FN, Leite NJ, Elias LV, Domingues MAC, et al. Immunohistochemical expression of hormone receptors, Ki-67, endoglin (CD105), claudins 3 and 4, MMP-2 and -9 in endometrial polyps and endometrial cancer type I. Onco Targets Ther. 2018 Jul 9;11:3949-3958. DOI: [10.2147/OTT.S160014](https://doi.org/10.2147/OTT.S160014).
18. Lopes RG, Barakat EC, de Albuquerque Neto LC, Ramos JF, Yatabe S, Depesr DB, et al. Analysis of estrogen – and progesterone-receptor expression in endometrial polyps. J Minim Invasive Gynecol. 2007 May-Jun;14(3):300-3. DOI: [10.1016/j.jmig.2006.10.022](https://doi.org/10.1016/j.jmig.2006.10.022).
19. Ye Y, Wang X, Jeschke U, von Schönfeldt V. COX-2-PGE2-EPs in gynecological cancers. Arch Gynecol Obstet. 2020 Jun;301(6):1365-1375. DOI: [10.1007/s00404-020-05559-6](https://doi.org/10.1007/s00404-020-05559-6).
20. Singh P, Singh P, Chaurasia A, Dhangra V, Misra V. Expression of ERα and PR in Various Morphological Patterns of Abnormal Uterine Bleeding-Endometrial causes in Reproductive Age Group. J Clin Diagn Res. 2016 Aug;10(8):EC06-9. DOI: [10.7860/JCDR/2016/19565.8290](https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/19565.8290).

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТКАНИН ЕНДОМЕТРІЮ ПРИ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСАХ

Циндренко Н. Л., Линдін М. С., Гирявенко Н. І., Сікора К. О., Цепочко Д. Г., Романюк А. М.

Резюме. Гіперпластичні процеси ендометрія (ГПЕ) є поширеною патологією жіночої репродуктивної системи. Значна роль у їх розвитку належить надлишковій естрогенній стимуляції за умови недостатності прогестеронового впливу. При цьому, гіперплазія ендометрія може спричинити рак ендометрія у 50% випадків, який залишається найпоширенішим гінекологічним злоякісним новоутворенням. Спостерігається тенденція до зростання кількості молодих жінок, у яких діагностовано або рак ендометрія, або його передракові стани – ГПЕ.

Рецептори до естрогену (РдЕ) альфа є основними ізоформами, які опосередковують проліферацію ендометрію при гіперпластичних процесах.

Метою нашого дослідження було визначити ступінь експресії РдЕ при різних типах ГПЕ та вивчити залежність їх експресії від гістологічного варіанту та антропометричних показників.

Зразки тканин були розподілені на групи залежно від отриманого результату гістологічного дослідження, а саме – неатипова гіперплазія ендометрія, залозисті поліпи ендометрія та залозисто-фіброзні поліпи ендометрія.

Встановлено, що залозисті поліпи ендометрія зустрічаються у більш молодому віці порівняно із неатиповою гіперплазією ендометрія та залозисто-фіброзними поліпами ендометрія. Загалом спостерігається тенденція до підвищення індексу маси тіла у жінок з ГПЕ. Відсутня залежність типу гіперпластичних процесів ендометрія від росту, маси тіла та індексу маси тіла. Досліджуючи експресію РдЕ, виявлено порушення рецепторного статусу при ГПЕ у вигляді нерівномірної їх експресії в епітеліальному та стромальному компонентах. Виявлено нерівномірне за інтенсивністю та концентрацією збільшення експресії РдЕ в залозах ендометрія у порівнянні зі строמוю.

Порушення рецепторного статусу при гіперпластичних процесах ендометрію характеризується нерівномірною експресією РдЕ в епітеліальному та стромальному компонентах. Спостерігається нерівномірність за інтенсивністю експресії рецепторів до естрогену в залозах та стромі ендометрія, яка не залежить від антропометричних показників пацієнтів. Встановлено прямий кореляційний зв'язок між експресіями РдЕ у епітелії та стромі ендометрію. Отримані результати можуть слугувати критеріями диференційованого підходу до вибору тактики лікування жінок з гіперпластичними процесами ендометрію.

Ключові слова: гіперпластичні процеси ендометрія, гіперплазія ендометрія, поліп ендометрія, імуногістохімія, рецептори до естрогену.

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF ENDOMETRIAL TISSUES IN HYPERPLASTIC PROCESSES

Tsyndrenko N. L., Lyndin M. S., Hyriavenko N. I., Sikora K. O., Tsepochko D. H., Romaniuk A. M.

Abstract. Endometrial hyperplastic processes (EHP) are a common pathology of the female reproductive system. A significant role in their development belongs to excess estrogenic stimulation in the case of insufficient progesterone influence. At the same time, endometrial hyperplasia can cause endometrial cancer in 50% of cases,

which remains the most common gynecological malignancy. There is an increasing trend in the number of young women who are diagnosed with either endometrial cancer or its precancerous conditions – EHP. Estrogen receptors (ER) alpha are the main isoforms that mediate endometrial proliferation in hyperplastic processes.

The aim of our study was to determine the degree of ER expression in different types of HPE and to study the dependence of their expression on the histological variant and anthropometric indicators.

The tissue samples were divided into groups depending on the obtained result of the histological examination, namely, non-atypical endometrial hyperplasia, glandular endometrial polyps and glandular-fibrous endometrial polyps.

It is established that glandular endometrial polyps occurs at a younger age compared to non-atypical endometrial hyperplasia and glandular-fibrous endometrial polyps. In general, there is a tendency to increase the body mass index in women with EHP. There is no dependence of the type of EHP on growth, body weight, and body mass index. Researching the expression of ER revealed a violation of the receptor status in EHP in the form of their uneven expression in the epithelial and stromal components. An increase in the expression of ER in the endometrial glands in comparison with the stroma was found to be uneven in intensity and concentration.

Violation of the receptor status in hyperplastic processes of the endometrium is characterized by uneven expression of ER in the epithelial and stromal components. Uneven expression of ER in the glands and stroma of the endometrium is observed, which do not depend on the anthropometric parameters of the patients. A direct correlation between the expression of ER in the epithelium and stroma of the endometrium was established. The obtained results can serve as criteria for a differentiated approach to the selection of treatment tactics for women with hyperplastic processes of the endometrium.

Key words: hyperplastic processes of the endometrium, endometrial hyperplasia, endometrial polyps, immunohistochemistry, estrogen receptor.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Tsyndrenko N. L.: [0000-0001-6763-476X](https://orcid.org/0000-0001-6763-476X) ^{ABCDEF}

Lyndin M. S.: [0000-0003-4385-3903](https://orcid.org/0000-0003-4385-3903) ^{ABCDEF}

Hyriavenko N. I.: [0000-0002-9805-014X](https://orcid.org/0000-0002-9805-014X) ^{ACDE}

Sikora K. O.: [0000-0002-4147-6879](https://orcid.org/0000-0002-4147-6879) ^{BDF}

Tsepochko D. H.: — ^{BDF}

Romaniuk A. M.: [0000-0003-2560-1382](https://orcid.org/0000-0003-2560-1382) ^{ABCDEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Sikora Kateryna Oleksiyivna / Сікора Катерина Олексіївна

Medical Institute of Sumy State University / Навчально-науковий медичний інститут Сумського державного університету

Ukraine, 40018, Sumy, 31 Sanatorna str. / Адреса: Україна, 40018, м. Суми, вул. Санаторна 31

Tel.: +380500511359 / Тел.: +380500511359

E-mail: k.sikora@med.sumdu.edu.ua

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 25.11.2022 / Стаття надійшла 25.11.2022 року
Accepted 05.05.2023 / Стаття прийнята до друку 05.05.2023 року