

УДК 616-091.811

**МИКРОСАТЕЛЛИТНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ В УСЛОВИЯХ
РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ БЕЗ АТИПИИ
С ПОЗИЦИЙ УЧЕНИЯ О ПРЕДИКТИВНОСТИ**

Затворницкая Александра Вадимовна

к.м.н., ассистент кафедры Патологической
анатомии и судебной медицины им. В.Л. Коваленко

Научные руководители: **Казачков Евгений Леонидович**

д.м.н., профессор, заведующий кафедрой Патологической
анатомии и судебной медицины им. В.Л. Коваленко

Казачкова Элла Алексеевна

д.м.н., профессор, профессор кафедры

Акушерства и гинекологии

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный

медицинский университет» Минздрава России

Аннотация. В ходе одномоментного, нерандомизированного ретроспективного исследования с использованием гистологических, иммуногистохимических, статистических методов определены структурные особенности микросателлитной нестабильности в слизистой оболочке матки у пациенток с рецидивирующей гиперплазией эндометрия для оценки прогностической значимости идентификации мутационного профиля.

Ключевые слова: рецидивирующая гиперплазия эндометрия, микросателлитная нестабильность.

**MICROSATELLITE INSTABILITY UNDER THE CONDITIONS
OF RECURRENT ENDOMETRIAL HYPERPLASIA WITHOUT ATYPIA
FROM THE PREDICTIVITY DOCTRINE POSITION**

Zatvornitskaya Alexandra Vadimovna

Scientific supervisors: **Kazachkov Evgeniy Leonidovich**

Kazachkova Ella Alekseevna

Abstract. In the course of a single-stage, non-randomized retrospective study using histological, immunohistochemical, statistical methods, the structural features of microsatellite instability in the uterine mucosa in patients with recurrent

endometrial hyperplasia were determined to assess the prognostic significance of identifying the mutation profile.

Key words: recurrent endometrial hyperplasia, microsatellite instability.

Введение. Гиперплазия эндометрия (ГЭ) – гетерогенная группа патологических процессов: от нормальной поликлональной слизистой оболочки матки, реагирующей на аномальные гормональные влияния, до пролиферативных моноклональных деструкций, возникающих фокусно и ассоциированных с высоким риском развития аденокарциномы эндометрия [1]. Изучение вопросов гиперпластических процессов эндометрия остается актуальным в настоящее время, что обусловлено увеличивающейся частотой встречаемости, нарушением репродуктивного здоровья и риском онкотрансформации [2]. Отдельного внимания заслуживает рецидивирующая ГЭ (РГЭ): по данным литературы, значительный процент пациенток не отвечает на консервативное лечение или демонстрирует рецидив после ремиссии с риском развития рака эндометрия. На данный момент врачи разных специальностей проявляют свой интерес в отношении прогнозирования, профилактики и адекватного лечения пациенток, страдающих ГЭ, путем изучения клинических, морфологических и молекулярных факторов, способных оказать влияние на гиперпластические процессы эндометрия [3], включая микросателлитную нестабильность (MSI). В результате нарушения репарации в клетках возникают накопления ошибок при репликации ДНК, что приводит к появлению новых микросателлитных повторов, т.е. к появлению MSI. За распознавание подобных дефектов ответственна система исправления ошибок репликации (mismatch repair system, MMR), представленная антигенами: MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2 [4]. Дефекты указанных антигенов приводят к появлению неоантигенов, которые играют ключевую роль в онкогенезе [5]. Понимание процессов трансформации от ГЭ к эндометриоидной аденокарциноме может способствовать совершенствованию прогностических моделей и улучшению результатов лечения [6].

Цель — определить структурные особенности микросателлитной нестабильности в слизистой оболочке матки у пациенток с рецидивирующей гиперплазией эндометрия для оценки прогностической значимости идентификации мутационного профиля.

Материалы и методы

Исследование проводили на базе гинекологического отделения ГБУЗ Областной перинатальный центр (г. Челябинск), кафедре Патологической

анатомии и судебной медицины имени профессора В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск, и ее клинической базе ГБУЗ «Челябинское областное патологоанатомическое бюро». Проведен анализ медицинской документации: медицинские карты больных, получающих помощь в амбулаторных условиях (форма № 025/у), медицинские карты стационарных больных (форма № 003/у), протоколы прижизненных патологоанатомических исследований биопсийного (операционного) материала (форма № 014-1/у).

На основании данных анамнеза и результатов гистологического исследования биоптатов эндометрия были отобраны пациентки и сформированы группы. В исследование вошло 90 пациенток, разделенных на три группы. В I группу вошли 30 пациенток, у которых через 6 месяцев после проведенной гормонотерапии в отношении ГЭ без атипии при контрольном гистологическом изучении биоптатов слизистой оболочки матки повторно выявлена ГЭ без атипии; во II группу – 30 женщин с ГЭ без эпизодов рецидивирования ГЭ; в III группу — 30 соматически и гинекологически здоровых женщин, обратившихся с целью планирования беременности, гистологическое исследование образцов эндометрия которых выявило нормальную слизистую оболочку матки.

Исследование имеет дизайн одномоментного нерандомизированного ретроспективного с использованием гистологических, иммуногистохимических, статистических методов. Критерии включения: информированное согласие на участие в исследовании, возраст пациенток старше 18 лет, забор образцов эндометрия на 18-22 дни менструального цикла (у пациенток репродуктивного возраста), морфологически подтвержденный диагноз ГЭ (для групп I и II). Критерии невключения: атипическая ГЭ, аденомиоз, миома матки, подлежащая хирургическому лечению, онкопатология других органов.

Образцы эндометрия были получены с помощью мануальной вакуумной аспирации под контролем гистероскопии или путем пайпель-биопсии. Проводили сравнительное морфологическое исследование образцов слизистой оболочки матки, трактуя морфологические картины в соответствии с общепринятыми критериями [7,8]. Гистологические препараты готовили по стандартным методикам. Из имеющихся парафиновых блоков на микротоме изготавливали срезы толщиной 5 мкм (не менее двух срезов с каждого блока). Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином,

пикрофуксином по ван Гизону. Гистологическое исследование образцов выполняли путем световой микроскопии при увеличении от $\times 70$ до $\times 1000$.

Уровень экспрессии MLH-1 в эндометрии определяли с помощью мышиных моноклональных антител (МКАТ) к MLH-1 (клон G168-728; Cell Marque, USA), для анализа экспрессии MSH-2 использовали специфическую сыворотку к белку MSH-2 (клон G219-1129; Cell Marque, USA), оценку уровня экспрессии MSH-6 осуществляли с использованием МКАТ к MSH-6 (клон 44; Cell Marque, USA), а величину экспрессии PMS-2 оценивали с помощью МКАТ к PMS-2 (клон MRQ-28; Cell Marque, USA). Изучение уровня экспрессии иммуногистохимических маркеров было основано на оценке площади коричневого окрашивания ядер и цитоплазмы пораженных клеток на всей площади среза. Для автоматического подсчета позитивно окрашенных клеток были выполнены электронные копии (сканы) микропрепаратов с помощью сканера гистологических препаратов Panoramic 250 компании 3D Histech. Полученные сканы проанализированы программным обеспечением для цифрового анализа изображений QuPath (сборка milestone 4) с применением нейросетевого алгоритма Pixel Classifier при помощи модуля расчета Positive cell detection (PCD) на всей площади отсканированного изображения.

Сравнение между двумя группами проводили с помощью непараметрических статистических методов. Для количественных величин рассчитывали медиану (Me) и квартили Q1 и Q3 в формате Me (Q1; Q3), для их сравнения применяли критерий Краскела-Уоллиса, с последующим попарным сравнением показателей с применением критерия Манна-Уитни. Качественные показатели определяли в абсолютных и относительных (%) величинах. При интерпретации результатов статистического анализа величина уровня значимости (p), равная 0,05, принята за критическую [9].

Результаты и обсуждение

Медиана возраста пациенток с РГЭ (I группа) составила 42 (36,7; 45,5) лет, с ГЭ без атипии (II группа) – 39 (36; 41,5) лет, у женщин, обратившихся с целью планирования беременности — 36 (34; 38) лет. Абсолютное большинство пациенток с ГЭ (I и II группы) предъявляли жалобы на аномальные маточные кровотечения. Женщины, обратившиеся с целью планирования беременности (III группа), активных жалоб не предъявляли.

Анализ сопутствующей соматической патологии показал, что в I и II группах преобладала патология эндокринной системы, которая отмечалась у абсолютного большинства пациенток: каждая вторая пациентка (по 15 (50%)

человек в I и II группах) страдала ожирением, каждая четвертая (8 (26,7%) - в I группе, 7 (23,3%) - во II) — патологией щитовидной железы. Кроме того, нередко встречалась патология сердечно-сосудистой системы: у каждой третьей пациентки в I и II группах регистрировалась гипертоническая болезнь (по 9 (30%) случаев в I и II группе). Анализ соматического анамнеза у женщин, обратившихся с целью планирования беременности (III группа), показал, что соматические заболевания у пациенток данной группы встречались статистически значимо реже в сравнении с пациентками I и II групп, в том числе болезни сердечно-сосудистой системы ($p_{1,3}=0,03$; $p_{2,3}=0,03$) и эндокринная патология ($p_{1,3}=0,03$; $p_{2,3}=0,03$).

Оценка гинекологического анамнеза показала, что всех пациенток с ГЭ отличала коморбидность по доброкачественным заболеваниям молочных желез и миоме матки без статистически значимых отличий между I и II группами. Стоит отметить, что воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) статистически значимо чаще встречались среди пациенток с РГЭ в сравнении с женщинами II и III групп. Так, среди пациенток I группы ВЗОМТ в анамнезе отмечались у большинства пациенток (22 (73%) случая), тогда как у женщин с ГЭ из II группы ВЗОМТ регистрировали у 7 (23,3%) пациенток, а у женщин, планировавших беременность, ВЗОМТ в анамнезе отсутствовали ($p_{1,2}=0,03$; $p_{1,3}<0,01$). Кроме того, хирургические абортс также статистически значимо чаще регистрировали у пациенток с РГЭ: 16 (53,3%) случаев по сравнению с 10 (33,3%) во II группе и 9 (30%) - в III.

При гистологическом исследовании образцов слизистой оболочки матки у пациенток с РГЭ было отмечено увеличение количества эндометриальных желез неправильной формы, повышение уровня железисто-стромального соотношения, истончение межацинарных перегородок. Стоит отметить, что вышеуказанные изменения были зарегистрированы на фоне хронического воспалительного процесса: в строме эндометрия обнаружены диффузно расположенные многочисленные нейтрофильные гранулоциты, группы лимфоцитов, единичные плазмциты или их скопления, группы фибробластов. Вышеописанная характеристика слизистой оболочки матки свидетельствует о ГЭ без атипии, сочетающейся с хроническим эндометритом низкой степени активности и различной степени выраженности.

Показатель средней площади иммунопозитивных структур в отношении MLH-1 в образцах эндометрия пациенток данной группы равнялся 55,7 (49,4; 63,9) % (Рисунок 1а), для PMS-2 – 42,3 (35,4; 54,8) % (Рисунок 1б). По результатам оценки экспрессии MSH-2 средняя площадь

иммунопозитивных структур составляла 44,8 (38,6; 53,9) % (Рисунок 1в), по отношению к MSH-6 – 57,7 (51,1; 62,6) % (Рисунок 1г).

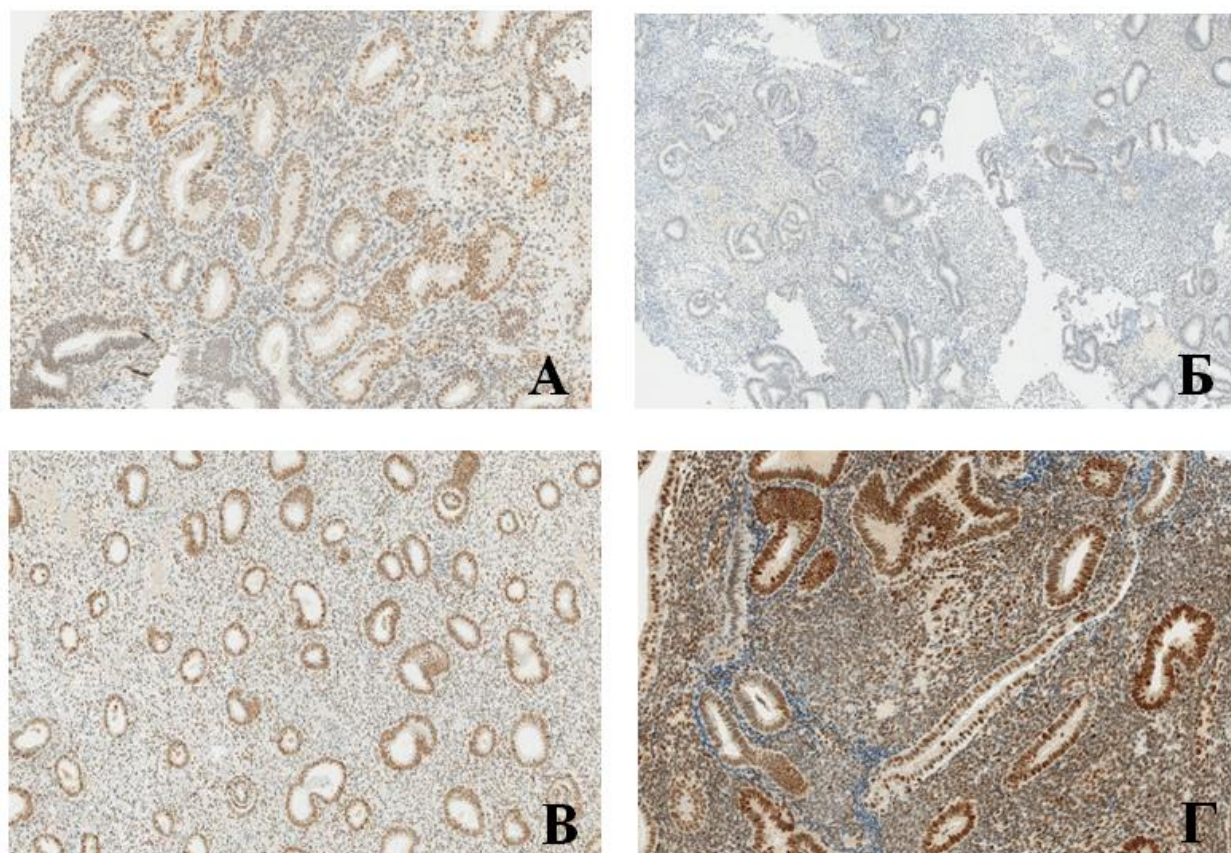


Рис. 1. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR при РГЭ (I группа). Иммуногистохимический метод с МКАТ против: А — MLH-1 (x100); Б — PMS-2 (x100); В — MSH-2 (x100); Г — MSH-6 (x100)

Во II группе при гистологическом исследовании биоптатов слизистой оболочки матки была выявлена ГЭ без атипии: образцы эндометрия отличались многочисленными неравномерно распределенными эндометриальными железами различной формы и размера, в том числе кистозно-расширенные, с многочисленными складками в направлении просвета желез.

При оценке экспрессии MLH-1 в эндометрии пациенток с ГЭ без атипии, у которых не было в анамнезе эпизодов рецидивирования данного патологического процесса, установлено, что средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении данного маркера равняется 72,0 (65,7; 76,9) % (Рисунок 1а), средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении PMS-2 составляет 46,7 (37,6; 51,0) % (Рисунок 2б). Анализ экспрессии MSH-2 у пациенток данной группы показал, что средняя площадь

иммунопозитивных структур в отношении этого маркера достигает 69,8 (62,3; 78,8) % (Рисунок 2в), в отношении MSH-6 – 85,4 (75,4; 88,9) % (Рисунок 2г).

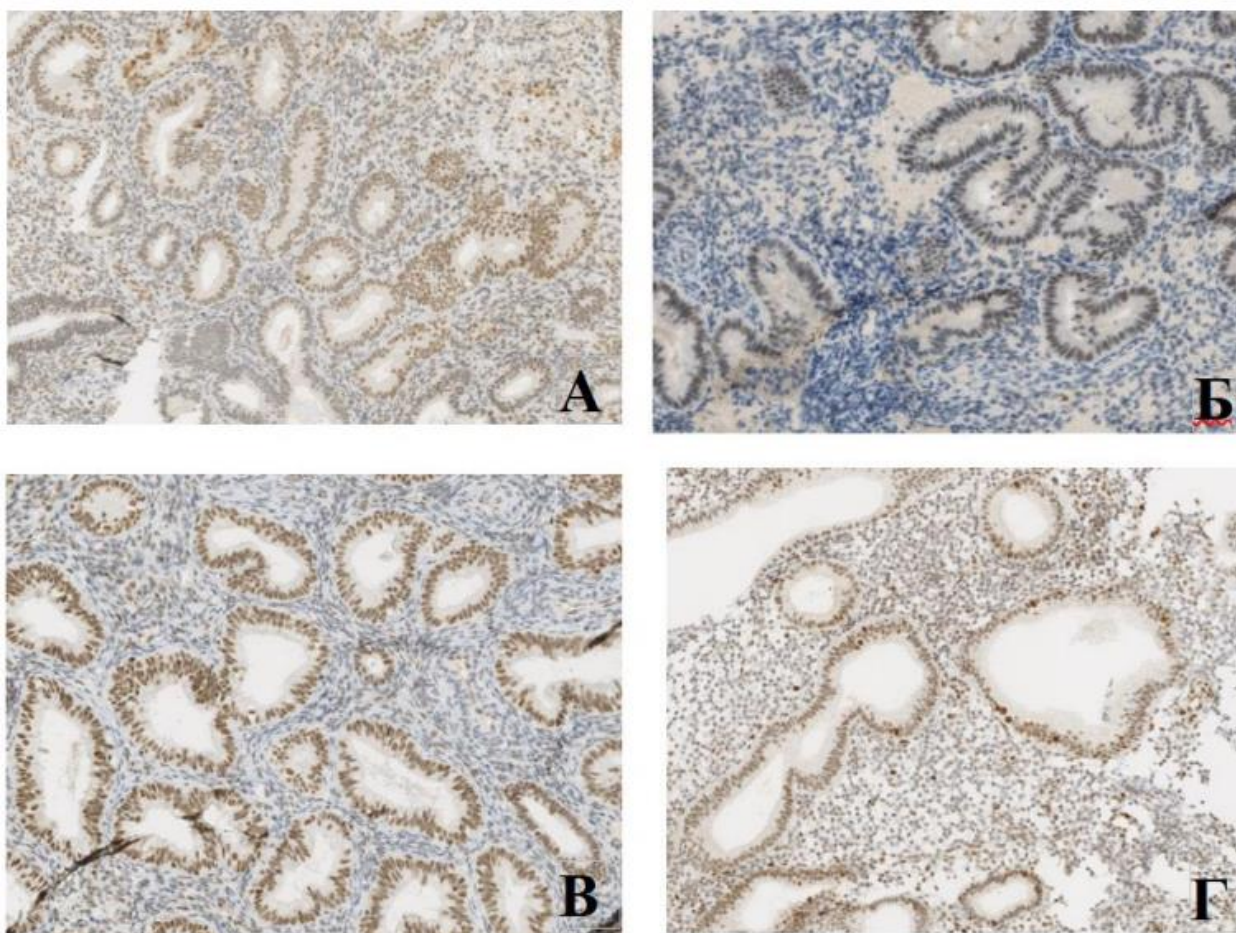


Рис. 2. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR при ГЭ (II группа). Иммуногистохимический метод с МКАТ против: А — MLH-1 (x100); Б — PMS-2 (x200); В — MSH-2 (x200); Г — MSH-6 (x200)

Слизистая оболочка матки женщин, обратившихся с целью планирования беременности (III группа), соответствовала средней стадии фазы секреции.

При иммуногистохимическом исследовании выявлено, что средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении MLH-1 составляет 86,5 (81,0; 92,0) % (Рисунок 3а), в отношении PMS-2 – 83,5 (78,0; 87,0) % (Рисунок 3б). При оценке средней площади иммунопозитивных структур по отношению к MSH-2 данный показатель равняется 82,3 (66,3; 97,0) % (Рисунок 3в), для MSH-6 – 92,5 (89,8; 97,0) % (Рисунок 3г).

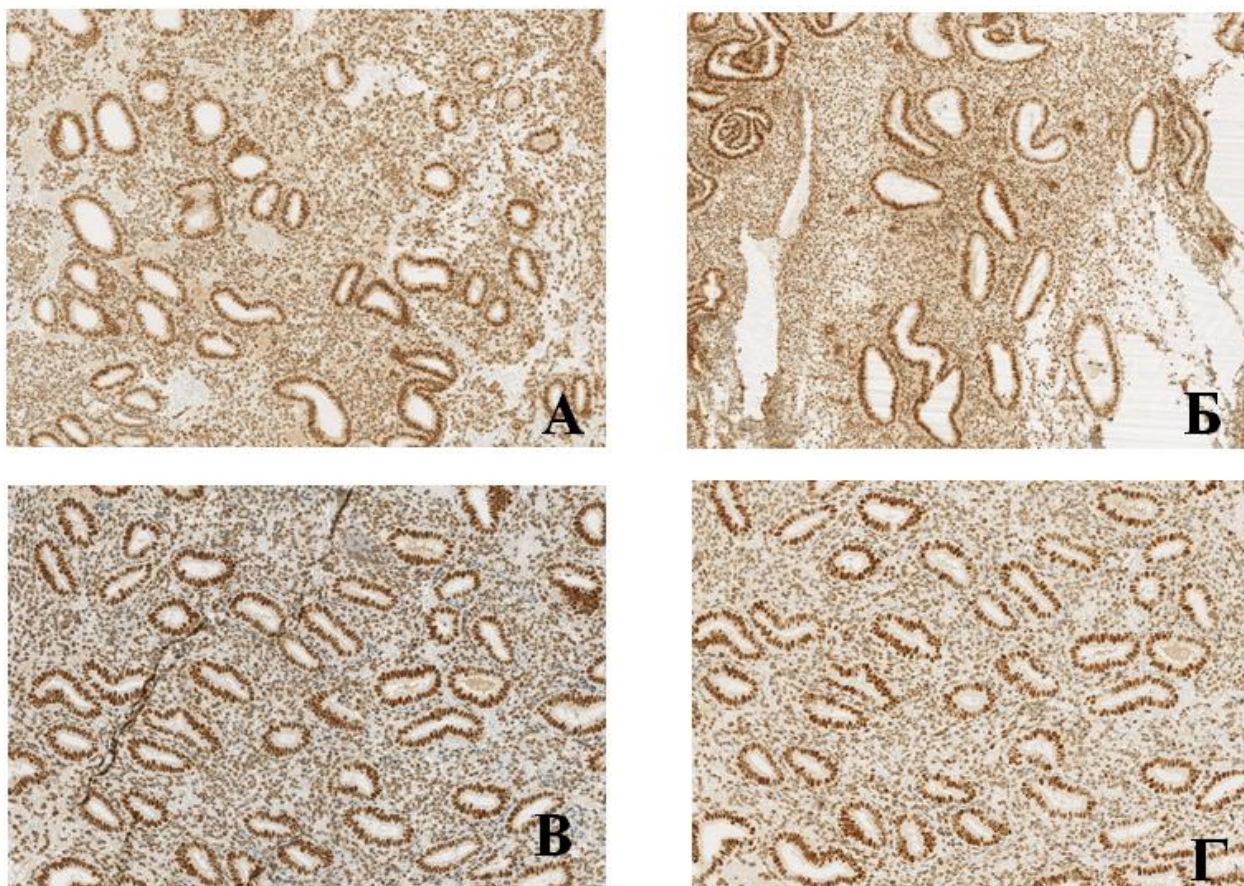


Рис. 3. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR в образцах эндометрия средней стадии фазы секреции. Иммуногистохимический метод с МКАТ против: А — MLH-1 (x100); Б — PMS-2 (x100); В — MSH-2 (x100); Г — MSH-6 (x100)

Ниже представлена сводная таблица результатов иммуногистохимического исследования уровней экспрессии MLH-1, MSH-2, MSH-6 и PMS-2 в образцах эндометрия пациенток изучаемых групп.

Таблица 1

Результаты иммуногистохимического анализа уровня экспрессии MLH-1, MSH-2, MSH-6 и PMS-2 в образцах эндометрия пациенток изучаемых групп

	I группа	II группа	III группа
MLH-1 (%)	55,7 (49,4; 63,9) $p_{1,2} = 0,02$ $p_{1,3} < 0,01$	72,0 (65,7; 76,9) $p_{2,3} = 0,04$	86,5 (81,0; 92,0)
MSH-2 (%)	44,8 (38,6; 53,9) $p_{1,2} < 0,01$ $p_{1,3} < 0,01$	69,8 (62,3; 78,8) $p_{2,3} = 0,04$	82,3 (66,3; 97,0)
MSH-6 (%)	57,7 (51,1; 62,6) $p_{1,2} < 0,01$ $p_{1,3} < 0,01$	85,4 (75,4; 88,9) $p_{2,3} > 0,05$	92,5 (89,8; 97,0)
PMS-2 (%)	42,3 (35,4; 54,8) $p_{1,2} > 0,05$ $p_{1,3} < 0,01$	46,7 (37,6; 51,0) $p_{2,3} < 0,01$	83,5 (78,0; 87,0)

Как видно из таблицы 1, зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии изучаемых маркеров (MLH-1, PMS-2, MSH-2) в образцах эндометрия пациенток с ГЭ по сравнению с образцами эндометрия средней стадии фазы секреции. Вместе с тем при РГЭ отмечено статистически значимое снижение уровня экспрессии в эндометрии MLH-1, PMS-2, MSH-2 и MSH-6 при сравнении с эндометрием пациенток с ГЭ, у которых в анамнезе не было эпизодов рецидивирования данного патологического процесса.

Таким образом, на основании результатов исследования описана сравнительная клиничко-анамнестическая характеристика пациенток с РГЭ в сравнении с женщинами без случаев рецидивирования ГЭ, позволяющая представить портрет пациенток с данной патологией. Так, для пациенток с ГЭ (I и II группы) характерна коморбидность по сердечно-сосудистыми заболеваниями и патологии эндокринных органов, а также по миоме матки, доброкачественным заболеваниям молочных желез. Стоит отметить, что у пациенток с РГЭ в анамнезе статистически значимо чаще регистрируются ВЗОМТ и хирургические аборты в сравнении с женщинами из II и III групп. Это согласуется с данными ряда отечественных и зарубежных исследований [3, 10-11].

Заслуживают внимание гистологические особенности слизистой оболочки матки при РГЭ: присутствие хронического воспалительного процесса

в биоптатах эндометрия пациенток I группы говорит о развитии ГЭ без атипии, ассоциированной с хроническим эндометритом. Отсутствие эффекта от гормональной терапии у данной группы пациенток можно объяснить длительно существующим хроническим воспалительным процессом в базальном слое слизистой оболочки матки, который приводит к нарушению рецепторного аппарата и дегенеративно-катаболическим процессам в эндометрии, итогом чего является микро- и макрополипоза [10].

Описанные иммуногистохимические особенности слизистой оболочки матки у пациенток с РГЭ, а именно, снижение уровня экспрессии белков MMR, перекликаются с работами многих авторов. В литературе имеются указания на структурные особенности MSI при предопухолевых и опухолевых процессах, включая изучение типа MSI при планировании терапии рака эндометрия [12-14]. В то же время сведений об изменении MSI при ГЭ, включая РГЭ, как предопухолевом процессе эндометрия ни в отечественной, ни в зарубежной литературе не найдено. Зарегистрированные нами гистологические отличия эндометрия и структурные особенности MSI при РГЭ дают возможность для дальнейшего изучения проблемы предопухолевых процессов эндометрия, а именно использования указанных признаков с позиций предиктивности и прогностической значимости.

Заключение

Большинство пациенток с ГЭ без атипии как рецидивирующей, так и без эпизодов рецидивирования в анамнезе предъявляют жалобы на аномальные маточные кровотечения, соматический анамнез пациенток данных групп отличается присутствием заболеваний сердечно-сосудистой и эндокринной систем, а для гинекологического анамнеза характерно наличие миомы матки и доброкачественных заболеваний молочных желез.

Отдельного внимания заслуживает коморбидность пациенток с РГЭ с ВЗОМТ и присутствием хирургических аборт в анамнезе. Прогнозируемы результаты гистологического анализа биоптатов эндометрия у пациенток данной группы, а именно присутствие ГЭ без атипии, ассоциированной с хроническим эндометритом.

Образцы слизистой оболочки матки при рецидивирующей гиперплазии слизистой оболочки матки без атипии отличаются статистически значимо более низким уровнем экспрессии MLH-1, MSH-2, MSH-6 при сравнении с образцами эндометрия ГЭ без атипии пациенток, у которых в анамнезе не регистрировали случаи ГЭ, и биоптатами нормального эндометрия средней стадии фазы секреции. Возможно, снижение уровня экспрессии указанных

маркеров в биоптатах эндометрия при РГЭ без атипии можно рассматривать в качестве предиктора опухолевой трансформации. Вышеуказанные тенденции требуют дальнейшего изучения с целью использования полученных результатов в разработке персонализированной тактики ведения пациенток с данной патологией.

Список литературы

1. Elenson, L.H. Endometrial hyperplasia without atypia / L.H. Elenson, Matias-Guiu X., G.L. Mutter // WHO Classification of Tumours – Female Genital Tumours: 5th Ed. / I.A. Cree, J. Ferlay, R. Jakob [et al.] (eds). IARC Publications.- Lyon, 2020.- P. 248-249.
2. Казачкова, Э.А. Гиперплазия эндометрия / Э. А. Казачкова, Е. Е. Воропаева, А. В. Затворницкая, Е. Л. Казачков. – Челябинск : Издательский центр "Титул", 2022. – 224 с.
3. Оразов, М.Р. Прогнозирование рецидивирующей гиперплазии эндометрия / М. Р. Оразов, Л. М. Михалева, И. А. Муллина // Трудный пациент. – 2021. – Т. 19, № 7. – С. 6-8.
4. Amato, M. Microsatellite Instability: From the Implementation of the Detection to a Prognostic and Predictive Role in Cancers / M. Amato, R. Franco, G. Facchini, R. Addeo, F. Ciardiello, M. Berretta et al. // Int J Mol Sci. - 2022. -T.23, №15. - P. 8726.
5. Olave, M.C. Mismatch repair deficiency: The what, how and why it is important / M.C. Olave, R.P. Graham // Genes Chromosomes Cancer - 2022. - 61(6). - P. 314–21.
6. Гаджиева, Л.Т. Роль генетических и эпигенетических изменений в развитии атипической гиперплазии и начального рака эндометрия / Л. Т. Гаджиева, С. М. Пронин, С. В. Павлович, В. И. Киселев // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 5. – С. 48-54.
7. Кондриков Н.И., Баринова И.В. Патология матки. Иллюстрированное руководство (руководство для врачей). Москва: Практическая медицина, 2019. 352 с.
8. Меркулов Г.А. Курс патологоанатомической техники. Ленинград, 1961. 340 с.
9. Ланг Т.А., Сессик М. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов. Перевод с англ. под. ред. В.П. Леонова. Москва: Практическая медицина, 2011. 480 с.

10. Дивакова, Т.С. Ведение больных с рецидивирующей гиперплазией эндометрия в перии постменопаузе / Т.С. Дивакова, С.Е. Медведская // Вестник ВГМУ. - 2006. - Т.5, №3. - С. 1-7.
11. Оразов, М.Р. Патогенез рецидивирующей гиперплазии эндометрия без атипии / М.Р. Оразов, Л.М. Михалева, И.А. Муллина, Л.М. Леффад // Трудный пациент. – 2021. – Т. 19, № 6. – С. 36-39.
12. Королёва, Е.И. Молекулярно-генетические особенности рака эндометрия и их взаимосвязь с клинико-морфологическими характеристиками / Е.И. Королёва, А.А. Мусаелян, В.Д. Назаров, С.В. Лапин [и др.] // Молекулярная медицина. - 2022. - С. 34-40.
13. Румянцев, А.А. Рациональная последовательность терапии распространенного и метастатического рака эндометрия / А.А. Румянцев // Опухоли женской репродуктивной системы. - 2022. - С. 119-126.
14. Roudko, V. Lynch Syndrome and MSI-H Cancers: From Mechanisms to "Off-The-Shelf" Cancer Vaccines / V. Roudko, C. Cimen Bozkus, B. Greenbaum [et al.] // Bhardwaj N. Front Immunol. - 2021. - 12. - P. 757-804.

© А.В. Затворницкая, 2023