

Казачков Е.Л., Затворницкая А.В., Воропаева Е.Е., Казачкова Э.А.

УДК 618.14-002-036.12
DOI 10.25694/URMJ.2019.05.23

Гиперплазия эндометрия, ассоциированная с хроническим эндометритом: особенности экспрессии Ki-67, p16ink4a и рецепторов к витамину D (VDR)

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск

Kazachkov E.L., Zatvornickaja A.V., Voropaeva E.E., Kazachkova E.A.

Endometrial hyperplasia associated with chronic endometritis: expression features of Ki-67, p16ink4a and vitamin D receptors (VDR)

Резюме

Целью исследования стало проведение сравнительного анализа экспрессии протеинов Ki-67, p16INK4a и рецепторов к витамину D (VDR) в слизистой оболочке матки при гиперплазии эндометрия, ассоциированной с хроническим эндометритом. По результатам исследования клетки эндометрия при его гиперплазии, ассоциированной с хроническим эндометритом, характеризуются как повышенной пролиферативной, так и антипролиферативной активностью. Дефицит витамина D в сыворотке крови и выраженное снижение уровня VDR в эндометрии, возможно, определяет уменьшение антипролиферативного эффекта витамина D в слизистой оболочке матки при данной патологии.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, хронический эндометрит

Summary

The aim of the study was to conduct a comparative analysis of the expression of Ki-67, p16 INK4a proteins and vitamin D receptors (VDR) in the uterine mucosa with endometrial hyperplasia associated with chronic endometritis. According to the results of the study, endometrial cells with its hyperplasia associated with chronic endometritis are characterized by both increased proliferative and antiproliferative activity. A deficiency of vitamin D in the serum and a pronounced decrease in the level of VDR in the endometrium may determine the decrease in the antiproliferative effect of vitamin D in the uterine mucosa in this pathology.

Keywords: endometrial hyperplasia, chronic endometritis

Введение

Ежегодно в России регистрируется рост числа больных карциномой эндометрия [1], которой нередко предшествует гиперплазия эндометрия (ГЭ) [2]. Сегодня обсуждается ряд факторов, обуславливающих развитие ГЭ: несбалансированная длительная стимуляция эстрогенами, нарушенная рецептивность эндометрия, неадекватная реакция клеток эндометрия на внешние воздействия, которая определяется экспрессией маркеров пролиферации, апоптоза, факторов роста и др. [3]. Реализации названных факторов способствует хронический эндометрит (ХЭ), с которым зачастую ассоциирована ГЭ [4,5]. Следует отметить, что в настоящее время частота выявления бактериальных возбудителей воспаления при ХЭ снижается, а вирусных агентов, в том числе вируса папилломы человека (ВПЧ), - увеличивается [5]. При ГЭ также часто обнаруживают ВПЧ [6], причем у каждой третьей пациентки при наличии ВПЧ в эндометрии выявляют ГЭ с атипией и высококодифференцированную аденокарциному эндометрия [7].

В целом, в процессе онкогенеза, индуцированного ВПЧ, нарушается экспрессия многих генов клетки-хозяина. Тем не менее, главные этапы этого процесса единокобразны. Так, онкобелок Е6 вируса связывается с белком-супрессором опухолевого роста p53 хозяйской клетки, а онкобелок Е7 вируса - с клеточным белком-супрессором опухолевого роста Rb («белком ретинобластомы»). В результате этих взаимодействий p53 и Rb быстро деградируют. Это сопровождается нарушением экспрессии белков p16 INK4a и Ki-67. Белок p16 INK4a участвует в контроле перехода клетки из фазы G1 в фазу S и в нормальных клетках запускает остановку клеточного цикла в процессе дифференцировки клеток. Утрата Rb клеткой, в которой присутствует вирусный онкобелок Е7, ведет к многократной активации транскрипции INK4a. В такой клетке резко увеличивается содержание белка p16INK4a, кодируемого INK4a [8,9,10]. Таким образом, белок p16INK4a относится к ингибиторам циклинзависимых киназ, которые тормозят пролиферацию. Ki-67 является

белком клеточной пролиферации и экспрессируется в течение всех активных фаз клеточного цикла, отсутствуя в клетках, находящихся в фазе G0. Одновременное повышение уровня экспрессии маркера пролиферации Ki-67 и маркера антипролиферативной активности ингибитора циклин-D-зависимых киназ p16INK4a является предиктором онкологических заболеваний [8,10]. Известно, что в нормальных эпителиальных клетках, в частности, эндометрия, белок p16INK4a экспрессируется в незначительном количестве, но при заболеваниях шейки матки, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией (ПВИ), наблюдается повышенная его экспрессия [11,12]. В то же время исследования, посвященные анализу экспрессии вышеперечисленных маркеров в слизистой оболочке матки при ГЭ, ассоциированной с ХЭ, малочисленны и противоречивы [14-16]. Так, Аникина Т.А. с соавт. (2016) выделили мезенхимные клетки эндометрия в норме и при пролиферативных заболеваниях (миома матки, ГЭ, аденомиоз). Было показано отсутствие экспрессии p16INK4a в нормальной эндометрии, также при миоме матки, и повышенная экспрессия указанного маркера при ГЭ и аденомиозе [14]. Думановская М.Р. с соавт. (2013) не получили статистически значимых отличий экспрессии p16INK4a и Ki-67 в слизистой оболочке матки при ГЭ по сравнению с нормальным эндометрием [15]. Власов Р.С. с соавт. (2010) описали возрастание частоты аномального метилирования генов-супрессоров опухолевого роста, включая p16INK4a, у пациенток репродуктивного возраста с гиперплазией и карциномой эндометрия [16].

Сегодня изучается антипролиферативный эффект витамина D. Считается, что он опосредован повышением синтеза ингибиторов клеточного цикла, а именно циклин-зависимых киназ, которые препятствуют переходу от фазы G1 к S-фазе цикла. Дефицит витамина D приводит к неконтрольному делению клетки [17]. Аналогичный механизм действия описан выше и для гена-супрессора p16INK4a. В то же время данные о статусе витамина D при пролиферативных заболеваниях женских половых органов немногочисленны и разноречивы. Так, Agic A. et al. (2007) зарегистрировали повышенный уровень экспрессии VDR в эндометрии женщин с эндометриозом [18]. Clavatini A. et al. (2017) установили взаимосвязь между сниженным уровнем витамина D в сыворотке крови и увеличением диаметра эндометриальных гетеротопий [19]. Работы исследователей Северной Африки, США и Центральной Европы показали влияние низкого уровня витамина D в сыворотке крови на повышение риска развития миомы матки [20-22]. Blauer M. et al. (2017) подтвердили воздействие витамина D3 на торможение роста миометрия [23]. В то же время изучение уровня 25(OH)D в сыворотке крови и уровня экспрессии VDR в слизистой оболочке матки при ГЭ, ассоциированной с ХЭ, не проводилось.

Цель исследования — проведение сравнительного анализа особенностей пролиферативной и антипролиферативной активности клеток эндометрия при его гиперплазии, ассоциированной с хроническим эндометритом, путем изучения уровня экспрессии протеинов Ki-67,

p16INK4a и рецепторов к витамину D (VDR) в слизистой оболочке матки.

Материал и методы

Исследование проводили на кафедрах Акушерства и гинекологии, Патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск. Обследовано 90 пациенток. I группу составили 29 женщин, у которых при гистологическом изучении биоптатов эндометрия выявлена ГЭ без атипичии, ассоциированная с ХЭ; II группу - 21 пациентка с ГЭ без атипичии (I группа сравнения); III группу - 20 женщин с ХЭ (II группа сравнения); IV группу - 20 соматически и гинекологически здоровых женщин, обратившихся по вопросам планирования беременности, гистологическое исследование биоптатов эндометрия которых выявило нормальную слизистую оболочку матки.

Критерии включения: репродуктивный возраст, нормальный овуляторный менструальный цикл (для I, III, IV групп), информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: овуляторная дисфункция (для I, III, IV групп), аденомиоз, миома матки, требующая хирургического лечения, атипичная ГЭ, злокачественные опухоли, аутоиммунные заболевания, сахарный диабет, вегетарианство (веганизм); прием витамина D менее чем за 6 месяцев до изучения статуса витамина D.

Исследование имеет дизайн одномоментного нерандомизированного ретроспективного с использованием микроскопических, культуральных, молекулярно-биологических, иммуноферментных, гистологических, иммуногистохимических, статистических методов.

Для определения микробного пейзажа влагалища и цервикального канала проводили микроскопическое, культуральное, молекулярно-биологическое исследование отделяемого из генитального тракта, включая технологию «Фемофлор-16». Материал для тестирования на ВПЧ получали путем соскоба эпителиальных клеток с поверхности экзо- и эндоцервикса с последующим проведением ПЦР «в режиме реального времени». С целью идентификации ВПЧ в слизистой оболочке матки использовали ПЦР-тест, направленный на качественное обнаружение ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 66, 68) в биоптатах эндометрия.

Для оценки статуса витамина D определяли уровень 25(OH)D в сыворотке крови с помощью хемиллюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах (Architect i2000, США). Исследование проводили на базе ООО «ИНВИТРО-Урал». Полученные результаты интерпретировали в соответствии с клиническими рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов «Дефицит витамина D у взрослых: диагностика, лечение и профилактика». Дефицит витамина D определялся как концентрация 25(OH)D < 20 нг/мл, недостаточность - концентрация 25(OH)D от 20 до 30 нг/мл, адекватные уровни - более 30 нг/мл [24].

Эндометрий получали на 18-22 дни менструального цикла путем мануальной вакуумной аспирации либо диагностического выскабливания под контролем гистероскопии (в I и II группах) или с использованием пайпель-биопсии (в III и IV группах).

Проводили комплексное морфологическое исследование образцов эндометрия, интерпретируя морфологические картины по общепринятым критериям [25,26]. Гистологические препараты готовили по стандартным методикам. Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гиону. Для выявления плазматических клеток использовали мышинные моноклональные антитела (МКАТ) CD 138 / syndecan – 1 (clon B-A38, r.t.u., Cell Marque Sigma – Aldrich company, USA). Степень выраженности ХЭ определяли в соответствии с критериями, предложенными Э.А. Казачковой с соавт. [27] и Г.Х. Толибовой с соавт. [28] (для оценки уровня CD 138). О степени активности ХЭ судили по критериям полуколичественной морфологической оценки воспалительного процесса при ХЭ, предложенным О.А. Алимовой с соавт. [29]. Если при ХЭ нейтрофильные гранулоциты в полиморфноклеточном воспалительном инфильтрате были единичными либо отсутствовали, такой процесс обозначали как неактивный.

Для оценки уровня маркера пролиферации Ki-67 использовали МКАТ к Ki-67 («Cell Marque», клон SP6, 1:100), для определения уровня экспрессии p16INK4a – специфическую сыворотку к белку p16INK4a из набора «CINtec histology kit» (производство «mtm laboratories AG», Germany), для верификации VDR – кроличьи поликлональные антитела («GTX104615 Vitamin D Receptor [C1C2], Internal). Изучение иммуногистохимических маркеров было основано на оценке наличия, интенсивности и распределения коричневого окрашивания ядер пораженных клеток. Изучали процент позитивно окрашенных ядер клеток в не менее чем 1000 клетках в 10 полях зрения. При отсутствии иммунопозитивно окрашенных клеток в отношении p16INK4a, Ki-67 и VDR экспрессия считалась негативной. При верификации единичной экспрессии обнаруживали редкие одиночные клетки желез и стромы эндометрия с коричневым окрашиванием ядер; при очаговой форме экспрессии выявляли немногочисленные скопления клеток с ядрами, окрашенными в коричневый цвет; диффузная форма экспрессии устанавливалась при обнаружении клеток с коричневыми ядрами по всей толще эндометрия в железах и строме. Для объективизации оценки экспрессии p16INK4a, Ki-67 и VDR использовали компьютерный морфометрический анализатор изображений «Видеотест – Морфология 5.2» (Россия). Исследование выполняли два независимых морфолога.

Сравнение между двумя группами проводили с помощью непараметрических статистических методов с использованием критерия Манна-Уитни; для сравнения в более чем 2-х независимых группах применяли критерий Краскела-Уоллиса. При оценке качественных показателей вычисляли фактические и процентные частоты наблюдений (n, %). Для выявления взаимосвязи признаков

вычисляли коэффициенты корреляции Спирмена и Пирсона. Величину вероятности ошибки устанавливали на уровне, равном 0,05. Расчеты выполнены с использованием статистического пакета Statistica 10 фирмы StatSoft.

Результаты и обсуждение

Средний возраст пациенток I группы составил $39,8 \pm 3,5$ года, II группы – $34,8 \pm 3,6$ года, III группы – $34,2 \pm 1,5$ года, IV группы – $33,85 \pm 0,7$ года ($p=0,06$).

Анализ сопутствующей соматической патологии показал, что в I группе статистически значимо чаще встречались заболевания сердечно-сосудистой системы (по МКБ-10: I25, I11, R00, I83) ($37,9\%$ по сравнению с $19,04\%$ во II, 15% - в III, 0% - в IV; $p=0,035$). Во II группе статистически значимо чаще наблюдались заболевания эндокринной системы (E00-07, E65-68) ($42,8\%$ по отношению к $13,8\%$ в I группе, 10% - в III, 0% - в IV; $p=0,003$).

Оценка гинекологического анамнеза показала статистически значимо высокую коморбидность по воспалительным заболеваниям органов малого таза в I группе ($68,97\%$ по сравнению с $42,86\%$ во II, 40% - в III, 0% - в IV; $p=0,04$). Во II группе статистически значимо чаще встречался синдром поликистозных яичников (E28) ($38,1\%$ по отношению к $10,3\%$ в I группе, 0% - в III, 0% - в IV; $p=0,002$) и невоспалительные поражения яичника (N83.0, N83.1) ($52,4\%$ по отношению к $27,6\%$ в I группе, 30% - в III, 0% - в IV; $p=0,03$).

При оценке микробного пейзажа влагалища и цервикального канала обращает на себя внимание высокая частота бактериального вагиноза в I и III группах исследования ($27,59\%$ в I группе и 15% - в III) по сравнению с II и IV группами ($9,52\%$ во II группе и 0% в IV, $p=0,04$). При этом выявляются различные сочетания микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом: *Gardnerella vag.* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.*; *Atopobium vaginae*; *Lachnobacterium* + *Clostridium*; *Megasphaera spp.* + *Leptotrichia spp.* + *Fusobacterium spp.* Хронический неспецифический цервицит, ассоциированный с *Enterobacterium spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, также статистически значимо чаще встречался в I и III группах ($17,24\%$ и 15% соответственно), чем в III и IV группах (0%), $p = 0,003$. Хронический цервицит, ассоциированный с ПВИ, был обнаружен у $20,7\%$ женщин I группы, зарегистрирован ВПЧ 16, 31 и 58 типов; у пациенток II, III, IV групп ВПЧ обнаружен не был ($p=0,03$).

Следует отметить, что и в биоптатах эндометрия у $34,5\%$ пациенток I группы выделялся ВПЧ высокого онкогенного риска, в то время как у женщин остальных групп ВПЧ в слизистой оболочке матки не зарегистрирован ($p = 0,002$).

У $27,6\%$ больных I группы ГЭ имела рецидивирующий характер; по данным анамнеза, пациентки получали ранее терапию прогестагенами.

При анализе уровня витамина D в сыворотке крови у пациенток изучаемых групп не было зарегистрировано статистически значимых различий, однако показатели 25(OH)D у пациенток I и II групп соответствовали дефи-

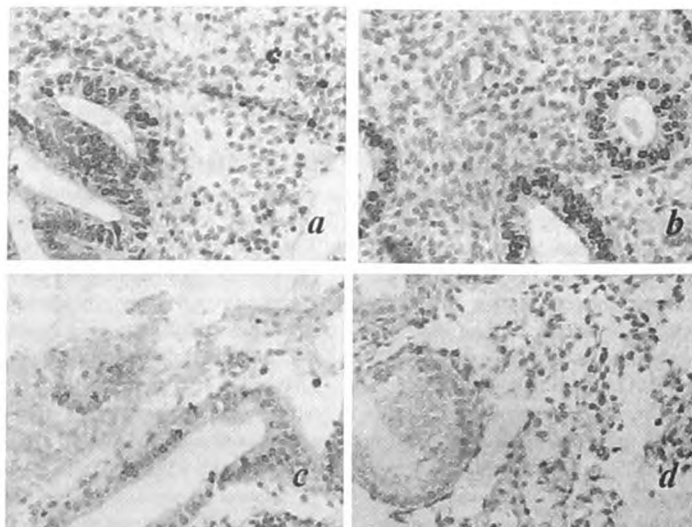


Рисунок 1 – Экспрессия Ki-67 в образцах эндометрия женщин исследуемых групп: а – образцы эндометрия пациенток с ГЭ без атипии, ассоциированной с ХЭ (I группа); б – образцы эндометрия пациенток с ГЭ без атипии (II группа); с – образцы эндометрия пациенток с ХЭ (III группа); d – образцы эндометрия пациенток группы контроля (IV группа). Иммуногистохимический метод с антителами против Ki-67, полимерная тест-система, x200.

циту витамина D в организме, а III и IV групп – адекватному уровню: величина 25(OH)D в I группе составила $26,76 \pm 2,05$ нг/мл, во II группе – $28,33 \pm 1,23$ нг/мл, у пациенток с ХЭ – $33,15 \pm 1,36$ нг/мл, у женщин группы контроля $35,76 \pm 3,67$ нг/мл ($p=0,06$).

При гистологическом исследовании биоптатов эндометрия в I группе выявлена ГЭ без атипии, ассоциированная с ХЭ низкой степени активности и различной степени выраженности. При идентификации CD138 были обнаружены как единичные плазмоциты (6,9%), так и диффузно рассеянные одиночные плазматические клетки (24,1%), вплоть до их очаговых скоплений (68,97%). При оценке уровня экспрессии Ki-67 в биоптатах эндометрия пациенток I группы (рис. 1) в 69% определяли диффузную форму экспрессии этого маркера. В 17,2% экспрессия Ki-67 расценена как очаговая, в 13,8% – единичная экспрессия. Морфометрически площадь иммунопозитивных структур в отношении Ki-67 в I группе составила $29,7 \pm 14,0\%$. При изучении экспрессии p16INK4a (рис. 2) в 79,3% зарегистрирована диффузная форма экспрессии p16INK4a, в 10,3% - очаговая форма экспрессии, в 10,3% - единичная. Средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении p16INK4a составила $37,2 \pm 13,0\%$. В I группе максимальные уровни экспрессии Ki-67 и p16INK4a зарегистрированы у пациенток, имеющих рецидивирующий характер ГЭ. При анализе характера экспрессии VDR в эндометрии пациенток I группы (рис. 3) диффузную форму экспрессии выявляли в 7%, очаговую - 24,14%, единичная форма экспрессии преобладала (37,93%), 31% образцов были негативны в отношении VDR. Средняя площадь иммунопозитивных структур составила $36,7 \pm 9,8\%$.

Во II группе отмечали картину ГЭ без атипии, кроме

того, регистрировали проявления реактивного неактивного воспаления эндометрия: при отсутствии плазмоцитов обнаруживали немногочисленные диффузно расположенные нейтрофильные гранулоциты, лимфоциты, мелкие скопления фибробластов. При иммуногистохимическом исследовании образцов эндометрия очаговую форму экспрессии Ki-67 выявляли в 71,4%, единичную - в 28,6%. Экспрессию p16INK4a чаще регистрировали в виде очаговой формы (61,9%), единичная экспрессия встречалась в 38,1%. Площадь иммунопозитивных структур по отношению к Ki-67 составила $15,8 \pm 10,8$, по отношению к p16INK4a – $22,7 \pm 11,4\%$ (рис. 1 и 2). При оценке уровня экспрессии VDR в эндометрии пациенток II группы (рис. 3) диффузную форму экспрессии выявляли в 4,76%, очаговую - в большинстве случаев (38,1%), единичную - в 33,3% образцов, в 23,8% наблюдений экспрессия VDR не регистрировалась. Средняя площадь иммунопозитивных структур составила $45,2 \pm 9,8\%$.

В III группе наблюдали картину ХЭ низкой степени активности и умеренной степени выраженности. При оценке пролиферативной активности регистрировали экспрессию Ki-67, преимущественно, в виде единичной формы (95%). В 5% микропрепаратов иммунопозитивные клетки обнаружены не были. Средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении Ki-67 составила $7,43 \pm 5,5\%$. Оценка антипролиферативной активности показала, преимущественно, единичную форму экспрессии p16INK4a (95%), 5% образцов были негативны по отношению к этому маркеру. Средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении p16INK4a составила $5,8 \pm 4,2\%$ (рис. 1 и 2). При оценке экспрессии VDR в эндометрии пациенток III группы (рис. 3) в 15% образцов отмечали диффузную форму экспрессии, в 50% случаев

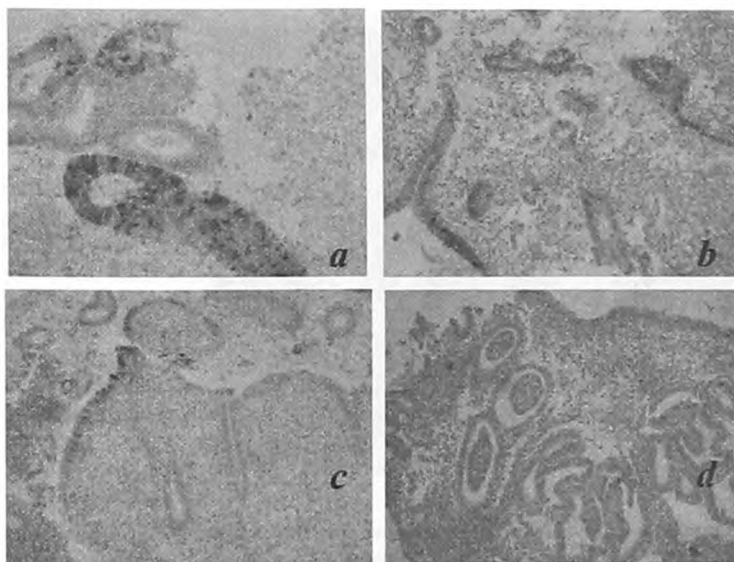


Рисунок 2 - Экспрессия p16INK4a в образцах эндометрия женщин исследуемых групп: а – образцы эндометрия пациенток с ГЭ без атипии, ассоциированной с ХЭ (I группа); б – образцы эндометрия пациенток с ГЭ без атипии (II группа); с – образцы эндометрия пациенток с ХЭ (III группа); d – образцы эндометрия пациенток группы контроля (IV группа). Иммуногистохимический метод с антителами против p16INK4a, полимеразная тест-система, x200.

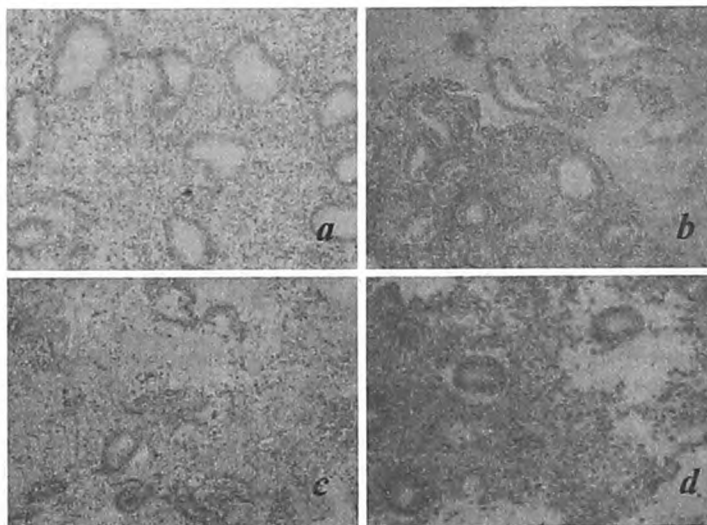


Рисунок 3 - Экспрессия VDR в образцах эндометрия женщин исследуемых групп: а – образцы эндометрия пациенток с ГЭ без атипии, ассоциированной с ХЭ (I группа); б – образцы эндометрия пациенток с ГЭ без атипии (II группа); с – образцы эндометрия пациенток с ХЭ (III группа); d – образцы эндометрия пациенток группы контроля (IV группа). Иммуногистохимический метод с антителами против VDR, полимеразная тест-система, x200.

выявляли очаговую форму, в 20% регистрировали единичную форму, 15% образцов были негативны. Средняя площадь иммунопозитивных структур составила $51,8\% \pm 14,2\%$.

Слизистая оболочка матки женщин группы контроля соответствовала средней стадии фазы секреции: экспрессия Ki-67 была, преимущественно, единичной

(75%), 25% образцов были негативны. Средняя площадь иммунопозитивных структур составила $2,0 \pm 1,93\%$. Наблюдаемая пролиферация, возможно, связана с активным делением клеток эндометрия, характеризующим данную фазу менструального цикла. В отношении экспрессии p16INK4a в 15% образцов обнаружена единичная форма экспрессии, что, возможно, связано с транзиторным ха-

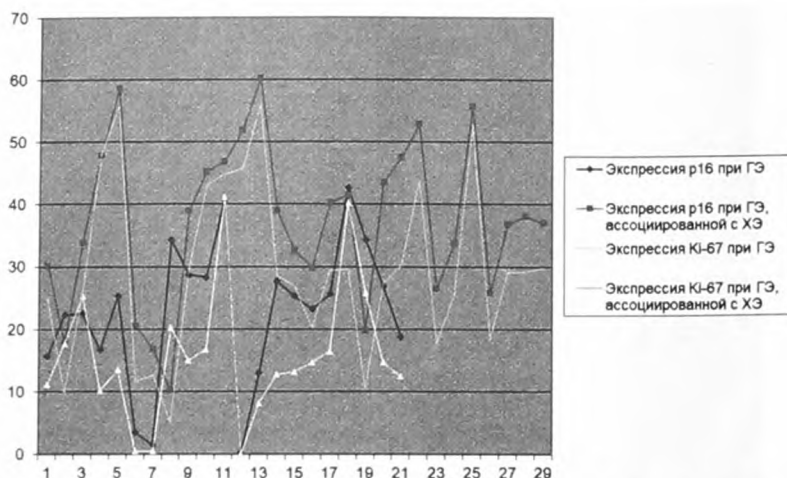


Рисунок 4 – Графическое сопоставление уровней экспрессии p16INK4a и Ki-67 в эндометрии у пациенток I и II групп.

рактором ПВИ, 85% образцов слизистой оболочки матки были негативны, площадь иммунопозитивных структур в отношении белка p16INK4a составила $2,6 \pm 1,9\%$ (рис. 1 и 2). При анализе экспрессии VDR в IV группе (рис. 3) обращает на себя внимание отсутствие единичной и негативной формы экспрессии. В абсолютном большинстве (70%) отмечали диффузную форму экспрессии: многочисленные иммунопозитивные клетки располагались по всей толще эндометрия. У 30% пациенток регистрировали очаговую форму экспрессии VDR. Средняя площадь иммунопозитивных структур составила $75,9\% \pm 4,3\%$.

Таким образом, оценка пролиферативной активности клеток эндометрия пациенток с ГЭ в сочетании с ХЭ свидетельствует о высоком пролиферативном потенциале клеток эпителия желез и стромы эндометрия, причём не только по сравнению с группой контроля, но и по отношению к I и II группам сравнения, что указывает на активно идущие процессы клеточного деления. Так, площадь иммунопозитивных структур в отношении Ki-67 в I группе была статистически значимо больше и составила $29,7 \pm 14,0\%$ по отношению к $15,8 \pm 10,8$ в II группе, $7,43 \pm 5,5\%$ в группе ХЭ и $2 \pm 1,93\%$ в группе контроля ($p=0,03$).

Статистически значимо более высокая экспрессия p16INK4a в эндометрии женщин I группы и обнаружение в слизистой оболочке матки ВПЧ высокого онкогенного риска у каждой третьей пациентки может свидетельствовать об участии ВПЧ в развитии гиперпластического процесса. Средняя площадь иммунопозитивных структур по отношению к p16INK4a при ГЭ, ассоциированной с ХЭ, составляла $37,2 \pm 13,0\%$ и была статистически значимо больше по сравнению с $22,7 \pm 11,4\%$ у пациенток II группы, $5,8 \pm 4,2\%$ в III группе и $2,6 \pm 1,9\%$ в IV группе ($p=0,002$). Сопоставление уровней экспрессии Ki-67 и p16INK4a в слизистой оболочке матки у женщин I и II групп показало, что уровень экспрессии p16INK4a прямо пропорционален уровню экспрессии Ki-67; коэффициент

корреляции Спирмена составил $0,869$, $p=0,0001$, коэффициент Пирсона - $0,909$, $p=0,0001$ (рис. 4). Уровни экспрессии перечисленных маркеров в III и IV группах были минимальны, и провести статистические сопоставления не представилось возможным.

Анализ статуса витамина D показал отсутствие статистически значимых различий в уровне 25(OH)D в сыворотке крови у пациенток исследуемых групп ($p=0,06$). Однако величина 25(OH)D в I и II группе соответствовала дефициту витамина D ($26,76 \pm 2,05$ нг/мл и $28,33 \pm 1,23$ нг/мл соответственно), а у пациенток с ХЭ и женщин IV группы — адекватному уровню витамина D ($33,15 \pm 1,36$ нг/мл и $35,76 \pm 3,67$ нг/мл соответственно). При этом уровень экспрессии VDR в слизистой оболочке матки пациенток I группы был статистически значимо меньше по сравнению с эндометрием женщин II, III и IV групп ($p=0,04$). Площадь иммунопозитивных структур в I группе составила лишь $36,7 \pm 9,8\%$ по сравнению с $45,2 \pm 9,8\%$ во II группе, $51,8 \pm 14,2\%$ в III и $75,9 \pm 4,3\%$ у пациенток IV группы ($p=0,04$). Полученные значения уровня экспрессии VDR в эндометрии не зависят от уровня 25(OH)D в сыворотке крови, что свидетельствует об изолированном снижении рецепции и, возможно, определяет тенденцию к пролиферации эндометрия.

Заключение

Таким образом, образцы эндометрия пациенток с ГЭ, ассоциированной с ХЭ, отличаются диффузной формой экспрессии Ki-67 и p16INK4a, преобладанием единичной формы экспрессии VDR, и отсутствием экспрессии VDR у каждой третьей пациентки. При ГЭ экспрессия Ki-67, p16INK4a и VDR, преимущественно, очаговая, а у каждой четвертой женщины экспрессия VDR отсутствует. У пациенток с ХЭ образцы эндометрия характеризуются, преимущественно, единичной формой экспрессии Ki-67 и p16INK4a и у каждой второй — очаговой экспрессией VDR. У женщин с нормальной слизи-

стой оболочкой матки образцы эндометрия в большинстве случаев отличаются единичной формой экспрессии Ki-67, негативны в отношении экспрессии p16INK4a, в то же время экспрессия VDR имеет диффузную форму.

Клетки эндометрия при ГЭ, ассоциированной с ХЭ, характеризуются как повышенной пролиферативной, так и антипролиферативной активностью. Наблюдаемая ко-экспрессия Ki-67 и p16INK4a при ГЭ, ассоциированной с ХЭ, возможно, является сигналом повреждения клеточного цикла и требует поиска факторов, определяющих одновременную экспрессию этих маркеров при данной патологии. Указание на наличие максимальных уровней экспрессии Ki-67 и p16INK4a в образцах эндометрия у пациенток с рецидивированием гиперпластического процесса может стать основой для разработки программы оценки риска рецидива ГЭ.

Что касается статуса витамина D у женщин с ГЭ, ассоциированной с ХЭ, то дефицит витамина D в сыворотке крови и выраженное снижение уровня VDR в эндо-

метрии, возможно, определяет уменьшение антипролиферативного эффекта витамина D в слизистой оболочке матки при данной патологии. ■

Казачков Евгений Леонидович, д.м.н., профессор, зав. кафедры Патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, **Затворническая Александра Вадимовна**, аспирант кафедры Акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, **Воропаева Екатерина Евгеньевна**, д.м.н., доцент, профессор кафедры Патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России; Челябинск, **Казачкова Элла Алексеевна**, д.м.н., профессор, профессор кафедры Акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, **Автор, ответственный за переписку** — Казачков Евгений Леонидович, 454092, Россия, Челябинск, ул. Воровского, 64; Телефон: 8 (351) 232-01-45; E-mail: doctorkel@yandex.ru

Литература:

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность) – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2018 – 250 с.
- Kurman R.J., Carcanglu M.L., Herrington C.S., Young R.H. WHO Classification of Tumors of Female Reproductive Organs. 4th ed. IARC. World Health Organization Classification of Tumors. – Lyon: IARC Press, 2014
- Леваков С.А., Шешукова Н.А., Кедрова А.Г., Федотова А.С., Обухова Е.А. Молекулярно-биологические профили гиперплазии эндометрия и эндометриальной интраэпителиальной неоплазии. Опухоли женской репродуктивной системы. – 2018; №2: 76-81.
- Ткаченко Л.В., Свиридова Н.И. Двухэтапный метод лечения хронического эндометрита у женщин с гиперпластическими процессами эндометрия в перименопаузе. Гинекология. - 2016; №01: 40-44
- Радзинский В.Е., Ордянец И.М., Добрецова Т.А. Эндометрий в огне. Острое и хроническое воспаление эндометрия: от новых взглядов к новым стратегиям. Status Praesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. 2016; 2: 126-132.
- Грамова А.М., Афанасьева Е.Е., Грамова А.Л., Мартыненко В.Б., Нестеренко Л.А. Роль инфекций, передающихся половым путем, в развитии гиперплазии эндометрия. Мир медицины и биологии. 2014; 3: 29-32.
- Чайка В.К., Холодняк Т.Н. Новый подход к диагностике и прогнозированию гиперпластических процессов эндометрия. Медико-социальные проблемы семьи. 2003; 8(1): 94-100.
- Клишчишкова Т.В., Самосудова И.Б. Результаты оценки белков E7 ВПЧ, p16INK4a, Ki-67 при цервикальном предраке, ассоциированном с папилломавирусной инфекцией. Российский вестник акушера-гинеколога. 2012; Т. 12; 4: 21-24
- Валгарева Г.М. Вирусы папиллом человека и рак. Участие вирусных и клеточных генов в вирус-индуцированном канцерогенезе (учебная лекция). Head and Neck/Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи. 2015. № 2: 30-35.
- Казачкова Э.А., Гоцгарлы А.В., Воропаева Е.Е., Казачков Е.Л., Розогина А.А. Экспрессия белка p16INK4a при гиперплазии эндометрия, ассоциированной с хроническим эндометритом. Уральский медицинский журнал. 2018; 2: 97-100.
- Лешикина Г.В., Шипулина О.Ю., Романюк Т.Н., Шабалова И.П. Сравнение эффективности двойной и монокспрессии белков p16/ki67 и p16 для выявления поражений шейки матки тяжелой степени у ВПЧ-инфицированных женщин. Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Малекулярная диагностика». 2017; 103-104.
- Коган Е.А., Ли Д.Д., Файзулина Н.М., Козаченко А.В. Экспрессия ост-4, p53, p16 и ki67 при ВПЧ-ассоциированном предраке и раке шейки матки. Клиническая практика. 2016; 1: 34-38.
- Евстигнева Н.П., Кузнецова Ю.Н., Бальберт Н.А., Потапова А.Л., Медведева Ю.А. Экспрессия вирусных онкогенов p16, ki67 и вирусная нагрузка при различных вариантах течения урогенитальной папилломавирусной инфекции. Акушерство и гинекология. 2013; 9: 41-45.
- Аникина Т.А., Сысоева В.Ю., Рубина К.А., Радзинский В.Е. Экспрессия маркеров клеточного цикла мезенхимными клетками нормального эндометрия

- и эндометрия при пролиферативных заболеваниях матки. *Акушерство и гинекология*. 2016; 9: 79-86.
15. Думановская М.Р., Чернуха Г.Е., Бурменская О.В., Донников А.Е., Трофимов Д.Ю. Вероятность неопластической трансформации при различных типах гиперплазии эндометрия. *Акушерство и гинекология*. 2013; 8: 56-62.
 16. Власов Р.С., Карпов Д.В., Залетаев Д.В., Коган Е.А и др. Метилирование генов-супрессоров опухолевого роста при патологических процессах эндометрия // IV международный конгресс по репродуктивной медицине. 2010. – «Проблемы репродукции» (Специальный выпуск): 285-286.
 17. Баклейчева М.О., Ковалева И.В., Беспалова О.Н., Коган И.Ю. Влияние витамина D на репродуктивное здоровье женщины. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2018; № 3: 4-19.
 18. Agic A., Xu H., Altgassen C., et al. Relative expression of 1,25-dihydroxyvitamin D3-receptor, vitamin D 1 α -hydroxylase, vitamin D 24-hydroxylase, and vitamin D 25-hydroxylase in endometriosis and gynecologic cancers. *Reproduct. Sci.* 2007;14:486-97
 19. Ciavattini A, Serri M, Delli Carpini G, et al. Ovarian endometriosis and vitamin D serum levels. *Gynecol Endocrinol.* 2017;33(2): 164-167
 20. Sabry M, Halder SK, Allah AS et al. Serum vitamin D3 level inversely correlates with uterine fibroid volume in different ethnic groups: a cross-sectional observational study. *Int. J. Womens Health*.2013;5:93-100;
 21. Baird DD, Hill MC, Schectman JM, Hollis BW. Vitamin D and the risk of uterine fibroids. *Epidemiology.* 2013; 24(3): 447-453;
 22. Paffoni A, Somigliana E, Viganó P, et al. Vitamin D status in women with uterine leiomyomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013;98(8):E1374-E1378.
 23. Blauer M, Rovio PH, Ylikomi T, Heinonen PK. Vitamin D inhibits myometrial and leiomyoma cell proliferation in vitro. *Fertil. Steril.* 2009;91:1919-1925
 24. Пизарова Е.А., Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых. *Проблемы эндокринологии*. 2016; 4: 60-84.
 25. Кондриков Н.И. Баранова И.В. Патология матки. Иллюстрированное руководство (руководство для врачей). М.: Практическая медицина, 2019 – 352 с.
 26. Murdock T.A., Veras E.F.T., Kurtman R.J., Mazur M.T. *Diagnosis of endometrial biopsies and curettings*. 3rd ed. Springer, 2019.
 27. Казачкова Э.А., Казачков Е.Л., Хелашвили И.Г., Воропаева Е.Е. Хронический эндометрит и рецептивность эндометрия (монография). Челябинск: ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России, 2015 – 148 с.
 28. Толибова Г.Х., Траль Т.Г., Клейцев М.А., Кветной И.М., Айламазян Э.К. Эндометриальная дисфункция: алгоритм гистологического и иммуногистохимического исследования. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2015; 4: 69-77.
 29. Алимова О.А., Воропаева Е.Е., Казачкова Э.А. Полукличесвенная морфологическая оценка активности воспалительного процесса при хроническом эндометрите: *Материалы Всерос. науч.-практ. патологоанатомической конф. «Актуальные проблемы патологоанатомической службы муниципальных учреждений здравоохранения»*. Челябинск, 2008: 198-201.