

АВТОНОМНОСТЬ РОСТА ОЧАГОВ АДЕНОМИОЗА: ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ

Е.А. Коган¹, Н.В. Низяева², Т.А. Демур¹, Л.С. Ежова¹, А.Л. Унанян³

1 ФГУ «Научный Центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздравсоцразвития РФ (директор – акад. РАМН, проф. Г.Т. Сухих), 117997, Москва.

2 Кафедра патологической анатомии лечебного фак-та (зав. кафедрой – проф. В.С. Пауков) ГОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития РФ, 119991, Москва

3 Кафедра акушерства и гинекологии №1 лечебного фак-та (зав. – Член – корр. РАМН, д.м.н., проф. И.С. Сидорова) ГОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития РФ, 119991, Москва

8-495-622-95-54, моб. 8-926-248-28-93; e-mail: niziaeva@gmail.com

8-495-622-95-44, моб. 8-926-342-91-97; e-mail: uursula90@gmail.com

Резюме

Цель исследования заключалась в изучении механизмов автономного роста очагов аденомиоза (АМ) в сравнении с эндометриоидной аденокарциномой тела матки. Материалом для исследования служили удалённые матки от 70 больных в возрасте от 35 до 78 лет, страдающих аденомиозом и эндометриоидной карциномой тела матки АМ без сопутствующей патологии. Проведены иммуногистохимические исследования на серийных парафиновых срезах. В качестве первичных антител использовались моноклональные и поликлональные антитела к ApoCas, Ki-67, MMP-2,9, TIMP-1, COX-2, EGFR, VEGF. В результате исследования выявлено, что прогрессирование и рост очагов аденомиоза происходит под влиянием общего и локального гиперэстрогенизма с участием местно продуцируемых факторов роста, прежде всего, **COX-2**, а также VEGF, EGF, обладающих синергентным действием. Местный гиперэстрогенизм и цитокины обеспечивают относительную автономность роста очагов аденомиоза. Очаги АМ с гиперплазией с атипией также могут быть источником развития аденокарциномы тела матки.

Ключевые слова : аденомиоз, эндометриоидная аденокарцинома, COX-2, EGFR, MMP-2, MMP-9, VEGF

AUTONOMY OF GROWTH FOCI OF ADENOMYOSIS: IMMUNOGISTOHOMICHESKIE PARTICULAR EXPRESSION OF MARKERS

E.A. Kogan¹, N.V.Nizyaeva², T.A. Demura¹, L.S. Ejova¹, A.L. Unanyan³

1 Research center for obstetric, gynecology and perinatology (director, RAMS acad. prof. G.Sukhikh), 117997, Moscow

2 Anatomic pathology department (chief department, prof. V.Paukov) I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow

3 Obstetric and gynecological department (chief department, RAMS acad. prof. I. Sidorova), I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow

Resume

The aim of our study was to investigate mechanisms of autonomous growth of adenomyotic foci in combination with endometrial adenocarcinoma (EA) of the uterine corpus. The study was performed on surgical material of excised uteri from 70 patients of the age 35 – 78 with adenomyosis and with combination of adenomyosis and EA. Immunohistochemical study was performed on serial paraffin slides. Monoclonal and polyclonal antibodies to ApoC_{as}, Ki-7, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, COX-2, EGFR, and VEGF were used as primary antibodies. We found that increase and progression of adenomyotic foci may be due to systemic or local hyperestrogenism and under local stimulation with growth factors, such as COX-2, VEGF, EGF. The local action of these cytokines may result in development of adenomyotic foci autonomous growth. Hyperplastic epithelium with atypia in adenomyotic foci may give origin to carcinoma of the uterine corpus.

Key words: adenomyosis, endometrioid adenocarcinoma COX-2, EGFR, MMP-2, MMP-9, VEGF

Введение

Эндометриоз – это широко распространенное заболевание, частота встречаемости которого среди женщин репродуктивного возраста по данным разных авторов колеблется от 12-51%. В 70-80% случаев эндометриоз представлен разновидностью – внутренним эндометриозом или аденомиозом (АМ) и характеризуется развитием эндометриоидных гетеротопий в пределах тела матки. Аденомиоз нередко сочетается с различными гистологическими типами рака тела матки: частота сочетания АМ с карциномой I типа (эндометриоидный, эстрогензависимый) в 5 раз выше, чем со II типом (эстрогеннезависимым) [1,2]. Способность эндометриоза и АМ, а также рака тела матки к

проникающему росту в прилежащий миометрий, вплоть до прорастания в соседние органы, а также распространение гематогенным и лимфогенным путем сближает эти заболевания по наличию инвазии и метастазирования. При этом, в очагах аденомиоза, в отличие от рака, сохраняются основные структурные и фенотипические компоненты эндометрия – зрелый железистый эпителий и строма.

В литературе описано достаточно много случаев злокачественной трансформации эпителия эндометриоидных гетеротопий. Однако, данные литературы о частоте выявления рака из эпителия АМ сильно варьируют, составляя от 0,1-0,9% до 11-24% [4,5], включая эндометриоидные гетеротопии других локализаций, что подтверждает недостаточную изученность данного вопроса. Остается спорным вопрос об экспрессии онкомаркеров в очагах АМ: неясно – обладают ли такие очаги признаками автономности по аналогии с опухолями и существуют ли достоверные морфологические и молекулярные отличия очагов с монопатологией АМ у больных и при сочетании АМ с карциномой тела матки. В патогенезе АМ и рака эндометрия до конца не установлено значение аутокринной регуляции и роли гиперэстрогенизма, в т.ч., циклооксигеназу -2 (COX-2) – мембранного протеина, обеспечивающего местный гиперэстрогенизм через конверсию андрогенов в эстрогены [8,10,12].

Цель исследования

Изучение механизмов автономности роста очагов аденомиоза в сравнении с эндометриоидной аденокарциномой тела матки.

Материал и методы

Было обследовано 70 больных, страдавших аденомиозом без и в сочетании с раком эндометрия. 37 пациенток с диагнозом АМ в сочетании с эндометриоидной аденокарциномой (ЭАК) тела матки составили первую группу, возраст больных от 35 до 78 лет. Во вторую группу вошли 33 женщины от 35 до 78 лет с АМ без сочетанной патологии тела матки. После проведения клинического и лабораторно-инструментального исследования, включая гистероскопию, ультразвуковое исследование, отдельное диагностическое выскабливание и морфологическое исследование, больным первой группы была произведена пангистерэктомия, больным второй группы – экстирпация матки с придатками. В первой группе 28 больных (78%) имели I стадию заболевания, 9 (22%) - II стадию аденокарциномы эндометрия. По степени дифференцировки карцинома была представлена в следующем сочетании: высокодифференцированная (73%), умереннодифференцированная (24,3 %) и низкодифференцированная – у одной больной.

Изучался макропрепарат и микропрепарат – серийные парафиновые срезы, толщиной 5 мкм, окрашенные гематоксилином и эозином. Иммуногистохимические реакции проводились на серийных парафиновых срезах толщиной 4 мкм на стеклах с адгезивным силанизированным покрытием «Histobond». Демаскировка антигенов для иммуногистохимических реакций была выполнена в микроволновой печи с использованием цитратного буфера (pH 6,0) при мощности 600 Вт. В качестве первичных антител применялись моноклональные и поликлональные антитела к ApoCas (NOVOCASTRA, Великобритания), Ki-67 (DAKO, Дания), COX-2, EGFR, VEGF (LAB VISION, США), MMP-2,9, TIMP-1 (ready to use; LAB VISION, США). В качестве вторичных антител была использована смесь противомышиных и противокроличьих антител со стрептовидин-биотиновым комплексом (SBK KIT DAKO, Дания). Для иммуногистохимических реакций ставили положительные и отрицательные контроли. В качестве отрицательных контролей брали образцы исследуемых срезов, которые подвергались стандартной процедуре иммуногистохимии, но без добавления первичных антител. Положительные контроли для каждого антитела выбирали в соответствии со спецификациями от фирмы производителя. Так, для MMP 2 и 9 и TIMP-1 в качестве отрицательного контроля использовали плаценту. Для контроля реакции для Ki-67 и ApoCas были отобраны образцы мелкоклеточного рака легкого с известной положительной экспрессией маркеров, для COX-2, EGFR, VEGF – образцы плоскоклеточного рака легкого. Результаты реакции оценивались полуколичественным методом по числу позитивно окрашенных клеток в баллах. Оценка интенсивности MMP 2 и 9, TIMP-1, COX-2, EGFR, VEGF, проводилась по 6-ти балльной системе: 2 балла – до 20% окрашенных клеток; 4 балла – от 20 до 40% окрашенных клеток; 6 баллов – более 40% окрашенных клеток. [6]. Степень экспрессии Ki-67, ApoCas осуществлялась путем подсчета процента окрашенных ядер на 3000 клеток [6]. Оценка результата была произведена с использованием количественных и полуколичественных методов, в том числе, метода Манна-Уитни.

Результаты исследования.

Аденомиоз у больных первой группы был представлен диффузным у 17 (46%) пациенток и очаговым у 20 (54%); как вариант очагового – узловой АМ выявлен у 4 больных (10%). Во второй группе диффузный вариант был обнаружен в 12 случаях (36,63%), очаговый – в 21 (63,3%), в. т. ч. узловой был обнаружен у 2 женщин. Макроскопически диффузный и узловой АМ не различались у больных первой и второй групп. При диффузном варианте АМ тело матки увеличено в размере. Стенка матки была утолщена, уплотнена, имела ячеистое строение с образованием синюшных «глазков» или сот, иногда с

кистозными полостями, наполненных кровью, и содержимым шоколадного цвета. Очаговый АМ был представлен в виде утолщения стенки матки. Чёткие контуры поражения отсутствовали. На разрезе в стенке матки определялись характерные глазки или ходы, из которых выделялось сукровичное содержимое. В 15 случаях очаговый АМ был обнаружен только при микроскопическом исследовании. Средняя глубина поражения АМ была сопоставима для первой и второй групп и составила $1,2 \pm 0,4$ см.

При микроскопическом исследовании все очаги аденомиоза были подразделены на активные и неактивные. Активные очаги АМ характеризовались преобладанием цитогенной стромы и различными изменениями железистого эпителия, а неактивные очаги АМ – атрофическим эпителием, слабо выраженной склерозированной стромой [6].

В активных очагах было отмечено морфологическое сходство между железами АМ и эндометрия. Известно, что железы эндометрия могут находиться в фазе пролиферации, секреции, подвергаться возрастной инволюции, быть в состоянии гиперплазии. Чтобы подчеркнуть выявленное сходство железистого компонента очагов АМ и эндометрия в зависимости от его морфофункциональных характеристик, очаги АМ были классифицированы по аналогии с изменениями эндометрия на следующие варианты с учетом преобладающей структуры: 1) типа фазы пролиферации (8% и 23% в первой и второй группах соответственно); 2) типа гиперплазии без атипии (58% и 33%); 3) типа гиперплазия с атипией (10 % в первой и 0% во второй); 4) с атрофическими изменениями эпителия (24% и 44%).

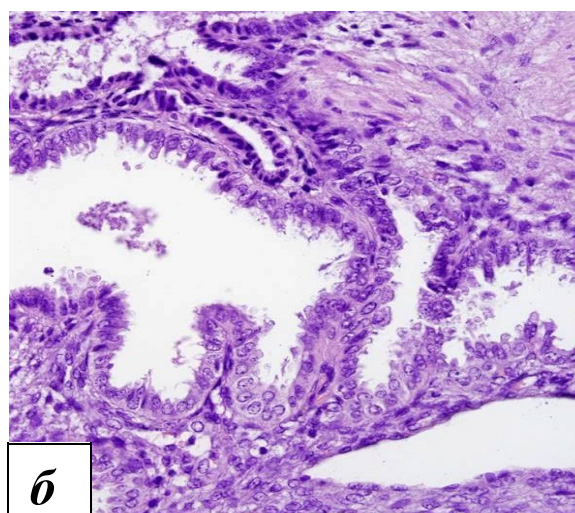
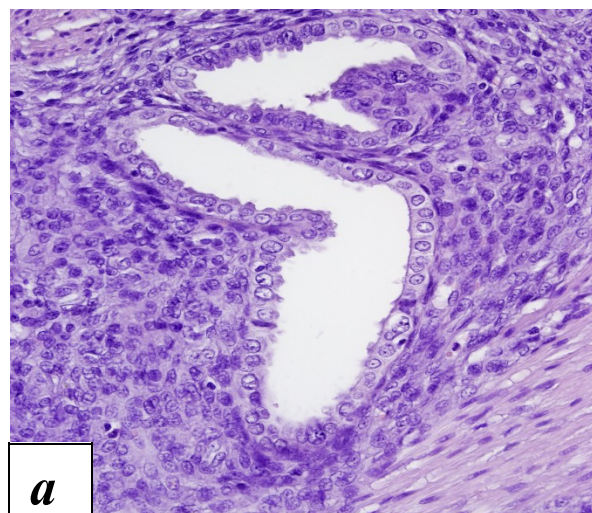
Активные очаги характеризовались изменениями эпителия, представленные первыми тремя вариантами (*рис. 1а-в*). Эпителий неактивных очагов АМ был с наличием атрофии. Железы АМ типа фазы секреции эндометрия не были выявлены ни в одном наблюдении.

Железы очагов АМ типа фазы пролиферации эндометрия имели вид прямых тубулярных структур с узким просветом. Эпителий желез призматический с округлыми и овальными тёмноокрашенными ядрами и небольшим ободком цитоплазмы, встречались единичные митозы. Ядра отдельных клеток с наличием ядрышек (*рис. 1а*). Строма рыхлая, состоящая из мелких фибробластоподобных клеток с округлыми или вытянутыми ядрами и незначительным количеством базофильной цитоплазмы.

Очаги аденомиоза типа гиперплазии без атипии эпителия были представлены изменениями, похожими на простую и сложную гиперплазию эндометрия без атипии (*рис. 1б*). В очагах АМ с неравномерно распределёнными железами разной величины и формы со складчатостью в направлении просвета железы отмечалась тенденция к компактному расположению желёз. Наблюдались клетки железистого эпителия с овальными

темноокрашенными ядрами, базофильной цитоплазмой, местами с митозами, но не более 5 митозов в 10 полях зрения при большом увеличении, эпителий преимущественно однорядный, реже двухрядный. Строма была выражена в относительно большом количестве, цитогенная, богатая клетками с овальными ядрами, скудной цитоплазмой. Отмечаются сосуды капиллярного типа.

Очаги АМ типа гиперплазии эпителия с признаками атипии (*рис.1в*) выявлялись только у больных первой группы и характеризовались увеличенным содержанием желёз с тесным расположением их. Железы разнообразной нередко причудливой формы с инвагинациями в направлении просвета и наличием микропапиллярных формирований. Железистый эпителий многорядный с потерей полярности и явлениями атипизма. Ядра эпителиальных клеток округлой формы с конденсацией хроматина, иногда с ядрышком, ядерно-цитоплазматическое соотношение сдвинуто в сторону ядра. В эпителии очагов АМ обнаруживалась повышенная митотическая активность с отдельными патологическими митозами. Цитоплазма эпителиальных клеток эозинофильная или оксифильная. Строма с отеком состояла из фибробластоподобных клеток; местами с лимфоцитами. Визуализировались сосуды капиллярного типа (*рис.1в*).



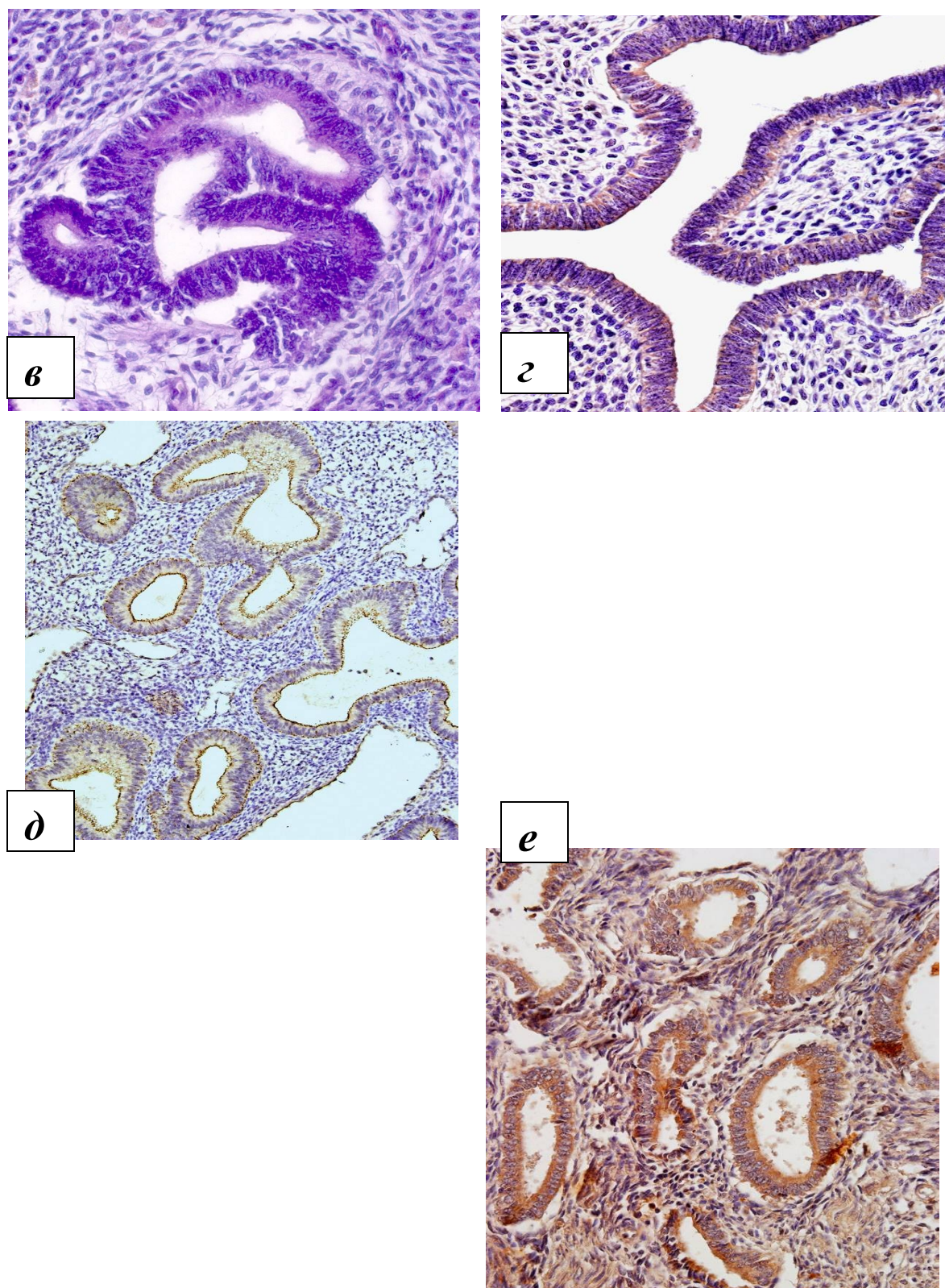


Рис.1. Морфологические варианты очагов аденомиоза и иммуногистохимическая экспрессия маркёров неоангиогенеза (VEGF), инвазии (MMP-2) и COX-2.
 а– Очаги АМ, типа фазы пролиферации. Окраска гематоксилином и эозином, x400;
 б–Очаги АМ типа гиперплазии без атипией. Окраска гематоксилином и эозином, x200.
 в–Очаги АМ типа гиперплазии с атипией. Окраска гематоксилином и эозином, x200
 г–Экспрессия VEGF в эпителии очагов АМ типа фазы пролиферации, x600
 д- Окрашивание COX-2 в эпителии очагов АМ типа фазы пролиферации, x400
 е- Экспрессия MMP-2 в очагах АМ типа гиперплазии без атипией, x200.

Неактивные очаги АМ были с атрофичным эпителием, митозы отсутствовали, преобладали кистозно расширенные железы. Строма между железами с наличием коллагеновых волокон, местами с участками микрокальциноза.

При исследовании аутологичного эндометрия у женщин с сохранённой менструальной функцией во второй группе была выявлена очаговая или тотальная гиперплазия базального слоя. В базальном слое, а иногда и в подлежащем отделе функционального слоя эндометрия располагались мелкие железы округлой, овальной или несколько вытянутой формы, отдельные немного расширенные, выстланные однорядным цилиндрическим эпителием с относительно гиперхромными ядрами и небольшим количеством цитоплазмы. Распределение желез было неравномерным, также были видны кровеносные сосуды с утолщенными стенками. Следует отметить, что морфологические изменения эндометрия часто коррелировали с типом эпителия очагов АМ.

Очаговая гиперплазия базального слоя эндометрия развивается преимущественно в неизменной слизистой оболочке матки, важное значение в образовании данной патологии имеют искусственное прерывание беременности и хронический воспалительный процесс придатков матки [7].

У больных первой и второй групп была выявлена различная сопутствующая гинекологическая патология. Патология яичников в группе с сочетанием карциномы и аденомиоза была диагностирована у большинства больных – в 32 случаях (86,4%), из которых очаговая стромальная гиперплазия коркового слоя яичников обнаружена в 23 случаях (62%), периоофорит – в 8 (21,6%), гиперплазия текаклеток – в 4 (10,8%), гранулезоклеточная опухоль – в 2 (5%) случаях, муцинозная цистаденома яичника и зрелая тератома яичника (по одному случаю соответственно), эндометриоз яичника – в 2 (5%) случаях. Во второй группе патология яичников была обнаружена у 13 (39,3%) женщин, из которых эндометриоз яичника выявлен у 8 (24,2%) пациенток, хронический периоофорит – у 5 (15,1%), очаговая стромальная гиперплазия коркового яичников – у 3 (9%) муцинозная цистаденома обнаружена в 2 (6%) случаях.

Таким образом, в обеих группах было обнаружено наличие различной сопутствующей гинекологической патологии. Обращал на себя внимание высокий процент выявленной патологии яичников **в первой группе по сравнению со второй. Очаговая стромальная гиперплазия коркового слоя яичников была представлена в количестве 23 и 3 больных (62% и 9%), гиперплазия текаклеток в первой группе – 4 наблюдения и ни в одном случае во второй (11% и 0%), опухолей яичников – 4 и 2 случая (11% и 6%; $P < 0,05$).**

Наружный генитальный эндометриоз встречался несколько чаще во второй группе, чем в первой, но достоверного различия отмечено не было ($P>0,05$). В одном случае был диагностирован эндометриоз ректовагинальной перегородки. У пациенток с гранулёзноклеточными опухолями яичников в возрасте 63 и 68 лет были найдены множественные активные очаги АМ, **хотя, известно, после менопаузы частота АМ значительно снижается.**

Высокий процент обнаружения очаговой стромальной гиперплазии коркового слоя яичников, гиперплазии текаклеток, эстрогенпродуцирующих опухолей яичников коррелировал с активностью процесса, что подтверждало преобладание активных очагов АМ над неактивными в первой группе по сравнению со второй ($P<0,05$). **Все** указанные заболевания приводили к гиперэстрогении, которая являлась главным патогенетическим фактором для развития эстрогензависимого эндометриоидного рака тела матки, а также аденомиоза [3,5,10].

На следующем этапе изучались иммуногистохимические особенности аденомиоза в обеих группах.

Маркер апоптоза – АроСas обнаруживался в ядрах эпителия, стромальных клеток очагов АМ и эндометрия, а также эндотелия сосудов в виде коричневого окрашивания. Наиболее высокая экспрессия АроСas наблюдалась в эпителии очагов АМ типа гиперплазии с атипией ($11,2\pm2,2\%$), хотя была достоверно ниже, чем в участках ЭАК ($18,3\pm3,5\%$; $P<0,05$). В очагах АМ с атрофией активность маркера соответствовала $8,3\pm1,5\%$. Во второй группе апоптоз оказался менее выражен, чем в первой. При сравнительной оценке базального и функционального слоя эндометрия второй группы окрашивание АроСas в эпителии базального слоя было выше, чем в первой ($5,8\pm1,3\%$ и $4,2\pm0,8\%$). Экспрессия АроСas (*рис. 2а*) в эпителии базального слоя была близка к очагам АМ с гиперплазией без атипии ($5,6\pm1,8\%$; $P<0,05$).

Ki-67–маркер пролиферативных процессов, по которому можно судить о количестве делящихся клеток, определялся в фазы митотического цикла G1, S, G2 в виде коричневого ядерного окрашивания эпителиальных и стромальных клеток очагов АМ и аутологичного эндометрия и эндотелия сосудов.

В результате исследования установлен рост пролиферативной активности в эпителии очагов АМ с возрастанием от изменений типа фазы пролиферации до гиперплазии без атипии и гиперплазии с атипией (*рис.2б*). Максимальная экспрессия Ki-67 определялась в участках ЭАК ($32,8\pm2,8\%$). В очагах АМ с атрофией Ki-67 был снижен ($3,6\pm0,7\%$; $P<0,05$).

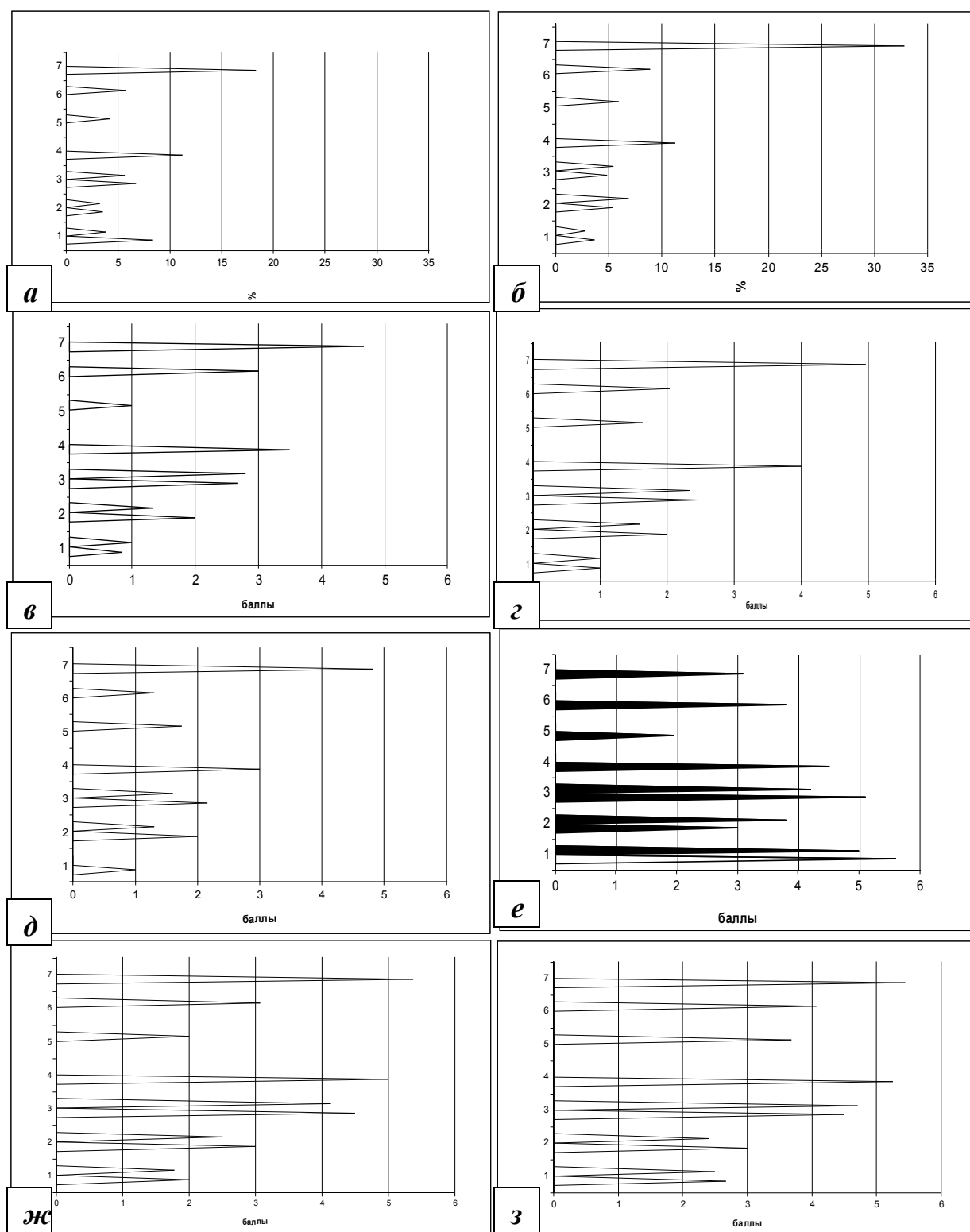


Рис 2. Экспрессия маркёров апоптоза, пролиферации, роста, неоангиогенеза и инвазии в эпителии очагов аденомиоза и аутологичного эндометрия у больных первой и второй групп.

- группа №1 – группа эндометриоидного рака и аденомиоза

☒☒☒☒ - группа №2- группа с аденомиозом без сочетанной патологии

- а- Экспрессия AроCас в очагах аденомиоза и аутологичном эндометрии*
- б- Экспрессия Ki-67 в очагах аденомиоза и аутологичном эндометрии*
- в- Экспрессия EGFR в очагах аденомиоза и аутологичном эндометрии*
- г- Экспрессия VEGF в очагах аденомиоза и аутологичном эндометрии*
- д- Экспрессия COX-2 в очагах аденомиоза и аутологичном эндометрии*
- е- Экспрессия TIMP-1 в очагах аденомиоза и аутологичном эндометрии*
- ж- Экспрессия MMP-2 в очагах аденомиоза и аутологичном эндометрии*
- з- Экспрессия MMP-9 в очагах аденомиоза и аутологичном эндометрии*

1- очаги АМ с атрофией эпителия

2-очаги АМ типа фазы пролиферации

3- очаги АМ типа гиперплазии без атипии

4- очаги АМ типа гиперплазии с атипией

5- эндометрий функционального слоя группы №2

6-эндометрий базального слоя группы №2

7-эндометриоидная аденокарцинома тела матки (группа №1)

При сопоставлении уровней пролиферации и апоптоза в исследуемых группах выявлено нарастание пролиферативной активности в эпителии очагов АМ типа фазы пролиферации с повышением в эпителии очагов АМ с гиперплазией без атипии, с атипией и с максимальным повышением в ЭАК. В очагах АМ с гиперплазией с атипией эпителия маркер пролиферации Ki-67 был значительно повышен, параллельно ему маркер апоптоза AроCас также повышался, но в меньшей степени, вероятно, компенсаторно сдерживая пролиферативную активность.

Экспрессия рецептора эпидермального фактора роста – EGFR (Epidermal growth factor receptor) определялась по коричневому окрашиванию цитоплазматической мембраны и цитоплазмы эпителиальных и эндотелиальных клеток. Содержание EGFR нарастало в эпителии активных очагов АМ типа фазы пролиферации, гиперплазии без атипии, гиперплазии с атипией ($P < 0,05$). Наиболее высокая экспрессия маркера была зафиксирована в очагах АМ типа гиперплазии с атипией ($3,5 \pm 0,4$ балла), но она отличалась от активности в участках ЭАК ($4,66 \pm 0,5$ балла). Во второй группе при сравнении иммуногистохимического окрашивания в эпителии аутологичного эндометрия экспрессия маркера была достоверно выше ($3 \pm 0,4$ балла) в базальном слое эндометрия, чем в функциональном ($0,9 \pm 0,15$ балла; $P < 0,05$). EGFR служит и достаточно сильным ангиогенным фактором, поэтому усиление его продукции может приводить к стимуляции неоангиогенеза при гиперпластических процессах и карциноме эндометрия (*рис.2 в*). Высокая экспрессия EGFR наблюдается в эндометрии, теряющем чувствительность к прогестерону [12,14].

Активность сосудистого фактора роста VEGF (Vascular growth factor) проявлялась в виде коричневого окрашивания мембраны и цитоплазмы эпителиальных и эндотелиальных клеток (*рис.1г*). В эпителии очагов АМ типа гиперплазии с атипией и в опухолевых клетках экспрессия равнялась $4\pm 0,1$ и $4,95\pm 0,5$ баллам и была достоверно выше ($P<0,05$), чем окрашивание эпителия очагов АМ типа фазы пролиферации, гиперплазии без атипии, а также с атрофией (*рис.2г*). В эпителии неактивных очагов АМ показатели VEGF соответствовали $1\pm 0,05$ и $0,8\pm 0,1$ балла в первой и второй группах. В эпителии базального и функционального слоя эндометрия второй группы наблюдалась экспрессия, равная $2\pm 0,25$ и $1,64\pm 0,1$ балла ($P<0,05$). Активность маркера в эпителии очагов АМ типа гиперплазии без атипии приближалась к эпителию базального слоя эндометрия.

Маркер инвазивного роста – матриксная металлопротеиназа II типа – MMP-2 (matrix metalloproteinase II type) определялся в виде коричневого окрашивания цитоплазмы стромальных и эпителиальных клеток (*рис.1е*), а также эндотелия сосудов активных очагов аденомиоза и аутологичного эндометрия. В ЭАК экспрессия MMP-2 была наиболее активна ($5,37\pm 0,6$ балла), близка к экспрессии в эпителии очагов АМ типа гиперплазии с атипией ($5\pm 0,4$ балла) и гиперплазии без атипии ($4,5\pm 0,35$ балла; *рис.2 ж*). В эпителии очагов АМ с атрофией активность маркера была снижена ($2\pm 0,2$ балла; $P<0,05$). Экспрессия маркера в эпителии очагов АМ типа гиперплазии без и с атипией обеих групп была примерно одинаковой, достоверного различия не установлено ($P>0,05$). Обращало на себя внимание повышение окрашивания маркера в эпителии базального слоя аутологичного эндометрия второй группы по сравнению с функциональным слоем ($P<0,05$).

При оценке экспрессии MMP-9 была выявлена тенденция, аналогичная MMP-2. MMP-9 интенсивно выявлялась в цитоплазме стромальных и эпителиальных клеток, эндотелии сосудов. Активность маркера возрастала в эпителии очагов АМ с гиперплазией без атипии по сравнению с эпителием очагов АМ типа фазы пролиферации. Наиболее высокая активность наблюдалась в эпителии очагов АМ типа гиперплазии с атипией. В эпителии очагов АМ с атрофией было самое слабое иммуногистохимическое окрашивание (*рис.2з*; $P<0,05$).

Тканевый ингибитор металлопротеиназ I типа – TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteinases) определялся в эпителиальных и стромальных клетках и эндотелии сосудов в виде коричневого окрашивания цитоплазмы. При этом отмечено достоверное повышение экспрессии TIMP-1 в эпителии очагов АМ типа гиперплазии без атипии ($5,1\pm 0,2$). В эпителии очагов АМ с гиперплазией с атипией (*рис.2е*), напротив, обнаруживалось снижение маркера ($4,5\pm 0,3$ балла) с выраженным уменьшением активности в участках ЭАК ($3,09\pm 0,2$

балла; $P < 0,05$). Высокая интенсивность окрашивания TIMP-1 в эпителии очагов АМ типа гиперплазии без атипии может объясняться его компенсаторной попыткой уравновесить активность металлопротеиназ, поддержанием гомеостаза компонентов внеклеточного матрикса. В эпителии очагов АМ с атрофией экспрессия TIMP-1 была повышена в первой ($5,5 \pm 0,5$ балла) и второй группах ($5, \pm 0,2$ балла) на фоне низкой металлопротеиназной активности, что и препятствовало инвазии ($P < 0,05$).

Циклооксигеназа-2 (COX-2) – мембранный протеин, обеспечивающий синтез эстрогенов из андрогенов в периферических тканях, следствием этого является местное повышение эстрогенов в очагах АМ. Повышению COX-2 способствуют цитокины, факторы роста и неоангиогенеза, в том числе VEGF [8,12,14]. COX-2 (*рис.1d*) проявлялась коричневым окрашиванием цитоплазмы и цитоплазматической мембраны эпителиальных клеток и клеток стромы с наивысшим уровнем экспрессии в эпителии очагов АМ типа гиперплазии с атипией ($3 \pm 0,25$ балла) и ЭАК ($4,8 \pm 0,85$ балла). Окрашивание COX-2 присутствовало в эпителии всех типов очагов АМ (*рис.2d*), но было наименее выраженным в очагах АМ с атрофией эпителия у больных первой группы; во второй группе окрашивание отсутствовало ($P < 0,05$).

Обсуждение результатов исследования.

Сопоставляя результаты настоящего исследования и данные литературы, можно сделать вывод о возможном наличии аутокринного патогенетического механизма, обеспечивающего локальный гиперэстрогенизм в очагах АМ и эндометриоидного рака тела матки посредством COX-2, а также о вероятном взаимовлиянии ЭАК и АМ при их сочетании. У **пациенток первой группы** преобладал общий и местный гиперэстрогенизм, что явилось важным патогенетическим фактором как для развития эндометриоидного рака [10,11], так и для АМ. Общий гиперэстрогенизм, обусловленный повышенной выработкой эстрогенов яичниками, и локальный с участием COX-2 способствовали, с одной стороны, автономному росту очагов АМ, а с другой – развитию гиперплазии с атипией. В дальнейшем, на фоне общего гиперэстрогенизма и повышения активности COX-2, MMPs и снижения TIMP-1 возможен переход атипической гиперплазии в рак *in situ*. Взаимодействие COX-2, факторов роста и неоангиогенеза обладают синергентным влиянием [12,16].

Резюмируя вышесказанное, следует отметить, что COX-2 стимулирует автономный рост очагов АМ и опухолевых клеток, которые становятся независимыми от центральной гормональной регуляции. Повышению экспрессии COX-2 также содействуют цитокины (Интерлейкин-1), факторы роста и неоангиогенеза, прежде всего VEGF [16]. При этом экспрессия COX-2 в очагах АМ первой группы была выше, чем во второй ($P < 0,05$), что может свидетельствовать о перекрестных аутокринных и паракринных взаимовлияниях.

Необходимо отметить роль MMPs и TIMP в развитии гиперплазии с атипией эпителия в очагах АМ и их участие в морфогенезе рака тела матки. В эпителии очагов АМ типа фазы пролиферации и гиперплазии без атипии выявлено увеличение экспрессии MMPs наряду с компенсаторным повышением TIMP-1 для уравнивания активности MMPs. По мере развития атипической гиперплазии в очагах АМ на фоне сохраняющейся высокой металлопротеиназной активности TIMP-1 снижается, что приводит к истощению компенсаторных механизмов и срыву регуляции. В ЭАК сохранение высоких показателей MMPs, а также значительное снижение TIMP-1 обеспечивает инвазию опухолевых клеток. С другой стороны, повышение продукции MMPs стромальными и эпителиальными клетками очагов аденомиоза приводит к расщеплению экстрацеллюлярного матрикса, собственной пластинки эндометрия и интерстициальной ткани миометрия, и как следствие – распространению инвазии стромальных клеток и эпителия вглубь миометрия, чему в значительной мере способствует разного рода травматизация слизистой оболочки матки, в т.ч. аборты. Следует подчеркнуть, что атипическая гиперплазия эндометрия, являющаяся источником эндометриоидного эстрогензависимого рака тела матки, в свою очередь, развивается из базального слоя эндометрия [13].

Несмотря на то, что очаги АМ и карцинома эндометрия имеют общий источник происхождения – гиперплазированный базальный слой эндометрия, в настоящей работе не было зафиксировано случаев непосредственного прорастания аденокарциномы в миометрий. Полученные данные согласуются с мнением других авторов [9]. Это дает основание предположить иной механизм озлокачивания эпителия очагов АМ в соответствии с теорией «ракового поля» Willis [11,14] или посредством цитокинов, факторов роста в том числе, выделяемых карциномой. Возможно, под действием цитокинов, выделяемых опухолевыми клетками, происходит образование «ракового поля» со множественными очагами озлокачивания АМ, которые сливаясь, образуют ткань опухоли. Видимо, точка зрения Бохмана Я.В., утверждающего, что рак поглощает АМ, справедлива лишь отчасти и только на поздних стадиях развития карциномы [3].

Заключение

Прогрессирование и рост очагов аденомиоза происходит под влиянием общего и локального гиперэстрогенизма с участием местно продуцируемых факторов роста, прежде всего, **COX-2**, а также VEGF, EGF, обладающих синергентным действием. Местный гиперэстрогенизм и цитокины обеспечивают относительную автономность роста очагов аденомиоза. Очаги АМ с гиперплазией с атипией эпителия также могут явиться источником развития аденокарциномы тела матки.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Абдуллаева Г.М. Редкие формы рака тела матки (клиническое течение и факторы прогноза) / Автореф. дисс. ... канд. мед. наук // М.,-2009.- 28 с.
2. Адамян Л.В., Кулаков В.И. Эндометриозы // М.,- 2006- 416 с.
3. Бохман Я.В. Лекции по онкогинекологии // М.,-2007.- 303 с.
4. Железнов Б.И., Стрижаков А.Н. Генитальный эндометриоз // М.,- 1985.-160 с.
5. Иванян А.Н., Абузяров Р.Р., Бельская Г.Д. Эндометриоз /Учебно-методическое пособие //Смоленск.,- 2002- 71 с.
6. Коган Е.А., Унанян А.Л., Демура Т.А. и соавт. Клинико-морфологические параллели и молекулярные аспекты морфогенеза аденомиоза. // Арх патол.- 2008.- Т.70.-№5. – С. 8-12.
7. Кондриков Н.И. Патология матки / иллюстрированное руководство // М.,-2008.-331с.
8. Banu S.K., Lee J. Cyclooxygenase-2 regulates survival, migration, and invasion of human endometriotic cells through multiple mechanisms. // Endocrinology.-2008.- Vol.149.-№3.- P.1180-9.
9. Koshiyama M, Suzuki A., Ozawa M., et al. Adenocarcinomas arising from uterine adenomyosis: a report of four cases. // Int J Gynecol Pathol.- 2002.- Vol.21.-№3.-P.239-45.
10. Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs. /World Health Organization Classification of Tumours. /edited by Tavassoli F.A., Devilee P.// Lyon.- 2003.- 432 p.
11. Robboy, s pathology of the female reproductive tract /edited by Robboy S.J., Mutter G.L., Prat J. et al.// 2 d edition.- 2009.- P.450-453.
12. Samuelsson B, Morgenstern R, et al. Membrane Prostaglandin E Synthase-1: A Novel Therapeutic Target / Pharmacol Rev.// Am Societ Pharm Exper Ther.-2007.- Vol.59.- P.207–224.
13. Steven G., Silverberg M.D. The Endometrium: Pathologic Principles and Pitfalls. // Arch Pathol Lab Med.-2007.-Vol. 131.- P. 372-382.
14. Williams Gynecology / Edition 1st by Schorge JO, Halvorson LM, Schaffer JL.// 2008.- 1536 p.