

В.А.Туманский
А.В.Чепец

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: карцинома эндометрия, рецепторы эстрогена – α , рецепторы прогестерона, p53, p16, Ki-67, каспаза-3, степень опухолевой дифференцировки.

Надійшла: 21.08.2016
Прийнята: 12.09.2016

УДК: 618.14–006.6–092.18–07:577.112

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНА- α И ПРОГЕСТЕРОНА, p16 И p53, Ki-67 И КАСПАЗЫ-3 В ИНВАЗИВНОЙ ЭНДОМЕТРИОИДНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ТЕЛА МАТКИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Исследование инвазивно-метастатических свойств опухолей и их раннее прогнозирование в биоптатах больных» (номер государственной регистрации 0114U000967).

Реферат. При помощи иммуногистохимических и морфометрических методик изучена инвазивная pT₁₋₄N_xM_xG₁₋₃ эндометриоидная аденокарцинома (ЭА) различной дифференцировки в удаленной матке 56 больных. Установлено, что по мере ухудшения дифференцировки ЭА в ее клетках снижается уровень экспрессии рецепторов эстрогена- α (РЭ- α), рецепторов прогестерона (РП), каспазы-3 и возрастает уровень экспрессии p16, Ki-67, а в клетках опухолевой стромы увеличивается уровень экспрессии каспазы-3. Степень дифференцировки опухоли имеет достоверные связи с уровнями экспрессии РЭ- α ($\gamma=-0,68$), РП ($\gamma=-0,78$), p53 ($\gamma=-0,45$ в ЭА низкой и высокой экспрессией p53; $\gamma=0,75$ в ЭА с гиперэкспрессией p53), p16 ($\gamma=0,76$), Ki-67 ($\gamma=0,34$), каспазы-3 ($\gamma=-0,84$) в клетках ЭА и с уровнем РЭ- α ($\gamma=-0,36$), каспазы-3 ($\gamma=0,84$) в клетках опухолевой стромы.

Morphologia. – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 302-307.

© В.А.Туманский, А.В.Чепец, 2016

✉ tumanskiy@zsmu.zp.ua

Tumanskiy V.A., Chepets A.V. Comparison of immunohistochemical characteristics of expression estrogen receptors-alpha, progesterone receptors, p16, p53, Ki-67 and caspase 3 in invasive endometrial adenocarcinoma of different grade.

ABSTRACT. Background. Endometrial cancer occupies the sixth place among newly diagnosed neoplasm in women each year. **Objective.** Immunohistochemical characterization of the expression of the estrogen receptors- α , progesterone receptors, p16, p53, Ki-67, caspase-3 by the cells of invasive endometrioid endometrial adenocarcinomas of various grade. **Methods.** The invasive endometrioid endometrial adenocarcinoma (stage pT₁₋₄M_xN_xG₁₋₃) in the uteruses of 56 perimenopausal women with the verified diagnosis of endometrial cancer were analyzed. For this purpose, immunohistochemical and morphometrical studies were used. **Results.** The expression levels of p16 and Ki-67 significantly reduce in the tumor cells ($p<0,05$). The caspase-3 expression level significantly increased in the tumor stromal cells with FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) grade increasing ($p<0,05$). The FIGO grade of the invasive endometrioid endometrial carcinoma has significant relations with the expression levels of the estrogen receptor- α ($\gamma=-0,68$), progesterone receptors ($\gamma=-0,78$), p53 ($\gamma=-0,45$ in the group of adenocarcinomas with low and high expression levels of p53; $\gamma=0,75$ in the adenocarcinomas group with overexpression of p53), p16 ($\gamma=0,76$), Ki-67 ($\gamma=0,34$), caspase-3 ($\gamma=-0,84$) in the tumor cells and estrogen receptor - α ($\gamma = -0,36$), caspase-3 expression levels in tumor stromal cells ($\gamma = 0,84$). **Conclusion.** With increasing of FIGO grade of the invasive endometrioid endometrial adenocarcinoma the sensitivity of tumor cells to regulatory signals of estrogen and progesterone decreases. The expression level of p16 increases, which indicates the violations of p16-associated cell cycle control mechanism. The proliferation level of tumor cell increases and the level of tumor cells apoptosis decreases.

Key words: endometrial neoplasms, estrogen receptors, progesterone receptors, tumor suppressor protein p53, cyclin-dependent kinase inhibitor p16, ki-67 antigen, caspase 3, neoplasm grading.

Citation:

Tumanskiy VA, Chepets AV. [Comparison of immunohistochemical characteristics of expression estrogen receptors-alpha, progesterone receptors, p16, p53, Ki-67 and caspase 3 in invasive endometrial adenocarcinoma of different grade]. *Morphologia.* 2016;10(3):302-7. Russian.

Введение

Рак эндометрия находится на шестом месте среди онкологических заболеваний у женщин по количеству ежегодно диагностируемых случаев [1] и характеризуется прогностически непредсказуемым течением. Одной из наиболее важных прогностических характеристик рака эндометрия является гистологическая дифференцировка опухоли (Grade) [2], которая дает представление об аномальности структур опухоли в сравнении со здоровыми тканями. В соответствии с рекомендациями Международной федерации гинекологии и акушерства (FIGO) выделяют 3 степени дифференцировки эндометриоидной аденокарциномы эндометрия (ЭАЭ), которые основываются на выраженности опухолевой аномалии и ядерной дисплазии клеток новообразования [2].

Многочисленные исследования продемонстрировали наличие связей между гистологической дифференцировкой рака эндометрия и рядом прогностических иммуногистохимических (ИГХ) маркеров, среди которых рецепторы эстрогенов (РЭ) и рецепторы прогестерона (РП) [3], онкосупрессорные протеины p53 и p16 [4], маркер пролиферации Ki-67 [5] и фермент апоптотического каскада каспаза-3 [6].

Тем не менее, остаются противоречивыми и требуют уточнения данные относительно силы и направленности связей экспрессии этих ИГХ маркеров со степенью дифференцировки ЭАЭ.

Цель работы – охарактеризовать экспрессию РЭ-α и РП, регуляторных протеинов p16 и p53, маркера пролиферации Ki-67 и фермента апоптотической дегградации каспазы-3 в опухолевых и стромальных клетках инвазивной ЭАЭ различной степени дифференцировки.

Материалы и методы

Проведены патогистологические и ИГХ исследования инвазивной ЭАЭ pT₁₋₄N_xM_x в удаленной матке 56 женщин 43-69 лет. Вырезанные кусочки ткани ЭАЭ фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине и заливали в парафин. В микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, выделили 3 группы наблюдений по степени гистологической дифференцировки ЭАЭ. I группа - ЭАЭ высокой (G1) степени дифференцировки (31 опухоль или 55,36% всех наблюдений), в которых формируются опухолевые железы, а солидные пласты составляют ≤5% площади срезов опухоли. II группа – умеренно дифференцированные (G2) ЭАЭ (18 опухолей или 32,14% всех наблюдений), в которых площадь солидного компонента равна 6-50% площади срезов. III группу составили низкодифференцированные (G3) аденокарциномы (7 опухолей или 12,5% всех наблюдений), где солидный компонент составляет ≥50% площади срезов опухоли.

ИГХ исследование проводили в парафиновых срезах по стандартной методике [7] с ис-

пользованием первичных антител *Rb a-Hu Estrogen Receptor Alpha, Clone SP1* («Thermo Scientific», США) (ER-α), *Rb a-Hu Progesterone Receptor, Clone SP2* («Thermo Scientific», США) (PR), *Mo a-Hu Ki-67 Antigen, Clone MIB-1* («DAKO», Дания), *Mo a-Hu Caspase 3 Ab-3, Clone 3CSP* («Thermo Scientific», США), *Mo a-Hu Anti-p16, Clone G175-405* («BioGenex», США), *Mo a-Hu p53 Protein, Clone DO-7* («DAKO», Дания), а также системы детекции EnVisionFLEX с диаминобензидином («DAKO», США). Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в бальзам.

Уровень ядерной экспрессии РЭ-α и РП оценивали по шкале D.C. Allred [8] как сумму баллов количества иммунопозитивных (ИПЗ) клеток и интенсивности окрашивания их ядер, выделяя низкий (1 балл), умеренный (2 балла) и высокий (3 балла) уровни экспрессии рецепторов гормонов.

Уровень пролиферативной активности клеток ЭАЭ определяли по ядерной экспрессии Ki-67 в баллах по B. Risberg et al. [9] и градуировали на низкий уровень (1 балл), умеренный (2-3 балла) и высокий (4 балла).

Низкий уровень экспрессии (УЭ) p53 регистрировали при наличии <10% клеток ЭАЭ с ИПЗ ядрами, высокий уровень – при наличии 11–29% клеток с ИПЗ ядрами, свидетельством гиперэкспрессии p53 было наличие ≥30% клеток с ИПЗ ядрами [10].

Экспрессию p16, каспазы-3 опухолевыми клетками оценивали методом фотоцифровой морфометрии [11] с использованием программы Image J в стандартизованной площади фотоцифрового изображения гистологического среза опухоли в фотокамере Camedia C5060WZ (Olympus, Япония), снятого в микроскопе Axioplan 2 («Carl Zeiss», Германия) при увеличении x200, и градуировали в условных единицах оптической плотности (УЕОП) на 4 уровня: негативная реакция – 0–20 УЕОП; низкий УЭ – 21–50 УЕОП; умеренный УЭ – 51–100 УЕОП; высокий УЭ – более 100 УЕОП.

Результаты исследования статистически обрабатывали при помощи статистического пакета «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., лицензия №AXXR712D833214FAN5). Вычисляли медиану уровня экспрессии (Me), нижнюю и верхнюю квартили (Q₁, Q₃). Анализ различий экспрессии прогностических ИГХ маркеров в ЭАЭ различной степени дифференцировки производился при помощи непараметрического однофакторного дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса. Наличие связей между УЭ исследуемых прогностических ИГХ маркеров и степенью дифференцировки ЭАЭ определяли путём расчёта коэффициента γ (для непараметрических данных). Результаты считали достоверными при p<0,05.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований выявлено, что по мере ухудшения дифференцировки ЭАЭ (от G1 к G3) статистически значимо снижается уровень экспрессии РЭ-α в железистых опухолевых клетках: медиана УЭ РЭ-α в клетках высокодифференцированной (G1) ЭАЭ равна 7,0 (7,0; 7,0) баллов, в умеренно дифференцированной (G2) ЭАЭ она составляет 6,0 (5,0; 7,0) баллов и в низкодифференцированной (G3) ЭАЭ - 3,0 (1,0; 5,0) балла ($p < 0,05$) (таблица 1). Уровень экспрессии РП в железистых клетках ЭАЭ также статистически значимо снижается с ухудшением дифференцировки опухоли: медиана УЭ РП в железистых клетках высокодифференцированной (G1) ЭАЭ равна 8,0 (8,0; 8,0) баллов, в умеренно дифференцированной (G2) карциноме она составляет 7,0 (6,0; 8,0) баллов и

в низкодифференцированной G3 аденокарциноме - 2,0 (0,0; 7,0) балла ($p < 0,05$) (таблица 1). Полученные результаты совпадают с данными исследований D. Bender с соавторами [3]. В то же время I. Markova с соавторами [12] не выявили зависимости между УЭ РЭ-α, РП и степенью дифференцировки аденокарциномы, отметив лишь тренд на уменьшение УЭ РП в низкодифференцированных опухолях.

Нами не выявлено достоверных различий в уровнях экспрессии РЭ-α и РП в клетках стромы ЭАЭ различной степени дифференцировки ($p > 0,05$) (таблица 1). Это свидетельствует о том, что статистически значимое снижение соотношения УЭ РЭ-α и РП в ЭАЭ различной степени дифференцировки происходит преимущественно за счёт снижения УЭ РЭ-α и РП в железистых, а не в стромальных клетках опухоли.

Таблица 1

Характеристика экспрессии иммуногистохимических маркеров в железистых клетках и в клетках стромы эндометриоидных аденокарцином эндометрия разной степени дифференцировки

ИГХ маркер	Опухолевый компармент	Медиана экспрессии ИГХ маркеров в опухолях разной степени дифференцировки			p
		G1	G2	G3	
		Me _{G1} (Q ₁ ; Q ₃)	Me _{G2} (Q ₁ ; Q ₃)	Me _{G3} (Q ₁ ; Q ₃)	
РЭ-α	железы	7,0 (7,0; 7,0) баллов	6,0 (5,0; 7,0) баллов	3,0 (1,0; 5,0) баллов	0,01300*
	строма	5,0 (5,0; 6,0) баллов	5,0 (4,0; 6,0) баллов	4,0 (2,0; 5,0) баллов	0,16560
	железы/строма	1,40 (1,17; 1,50)	1,20 (1,00; 1,75)	0,65 (0,00; 1,00)	0,01650*
РП	железы	8,0 (8,0; 8,0) баллов	7,0 (6,0; 8,0) баллов	2,0 (0,0; 7,0) баллов	0,00500*
	строма	6,0 (5,0; 7,0) баллов	5,0 (5,0; 6,0) баллов	2,0 (0,0; 7,0) баллов	0,36680
	железы/строма	1,33 (1,14; 1,60)	1,37 (1,00; 1,60)	0,67 (0,37; 1,17)	0,00580*
p53	железы	5,00 (4,00; 19,00) %	15,00 (7,00; 24,50) %	11,50 (2,00; 72,50) %	0,94150
p16	железы	38,36 (32,49; 47,92) УЕОП	61,39 (52,70; 73,11) УЕОП	77,41 (67,55; 84,14) УЕОП	0,00010*
	строма	2,50 (1,54; 3,23) УЕОП	3,36 (2,95; 4,29) УЕОП	3,99 (3,37; 5,59) УЕОП	0,27600
Ki-67	железы	2,0 (1,0; 2,0) балла	2,0 (2,0; 2,0) балла	3,0 (3,0; 4,0) балла	0,01290*
	строма	1,0 (1,0; 1,0) баллов	1,0 (1,0; 1,0) баллов	1,0 (1,0; 1,0) баллов	0,63567
Каспаза-3	железы	74,31 (72,02; 101,30) УЕОП	59,80 (46,64; 71,06) УЕОП	26,38 (20,52; 33,68) УЕОП	0,00001*
	строма	30,13 (20,49; 34,59) УЕОП	52,21 (41,87; 58,47) УЕОП	72,11 (69,94; 91,76) УЕОП	0,00001*

Примечания:

Me_{G1} – медиана уровня экспрессии иммуногистохимического маркера в группе высокодифференцированных эндометриоидных аденокарцином (G1); Me_{G2} – медиана уровня экспрессии иммуногистохимического маркера в группе умеренно дифференцированных эндометриоидных аденокарцином (G2); Me_{G3} – медиана уровня экспрессии иммуногистохимического маркера в группе низкодифференцированных эндометриоидных аденокарцином (G3); Q₁ – верхняя квартиль; Q₃ – нижняя квартиль; p рассчитан при помощи однофакторного дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса;

* - $p < 0,05$ – уровни экспрессии иммуногистохимического маркера отличаются с вероятностью 95% в 3 группах эндометриоидных аденокарцином разной степени дифференцировки.

Установлено, что между УЭ РЭ-а в железистых опухолевых клетках и степенью дифференцировки ЭАЭ существует обратная связь умеренной силы ($\gamma=-0,68$), аналогичная по направ-

ленности и силе связь прослеживается между УЭ РЭ-а в клетках стромы и степенью дифференцировки опухоли ($\gamma=-0,36$) (таблица 2).

Таблица 2
Характеристика связей между уровнями экспрессии иммуногистохимических маркеров в железистых клетках и в клетках стромы инвазивной ЭАЭ и степенью ее дифференцировки

Иммуногистохимический маркер	G	Иммуногистохимический маркер	G
РЭ-а в железистых клетках	-0,68*	p16 в железистых клетках	0,76*
РЭ-а в клетках стромы	-0,36*	P16 в клетках стромы	0,52*
РП в железистых клетках	-0,78*	Ki-67 в железистых клетках	0,34*
РП в клетках стромы	-0,27	Ki-67 в клетках стромы	0,00
p53 в железистых клетках	-0,05	Каспаза-3 в железистых клетках	-0,84*
p53 в железистых клетках в ЭАЭ с аберрантной гиперэкспрессией p53	0,75*	Каспаза-3 в клетках стромы	0,84*
p53 в железистых клетках в ЭАЭ с очаговой экспрессией p53	-0,45*		

Примечание: анализ связей между экспрессией иммуногистохимических маркеров выполнен путём расчёта непараметрического коэффициента γ ; * - отмечены статистически значимые связи на уровне ($p<0,05$).

Между УЭ РП в железистых опухолевых клетках выявлена обратная сильная связь со степенью дифференцировки ЭАЭ ($\gamma=-0,78$). Снижение УЭ РЭ-а и РП в железистых клетках и в клетках стромы ЭАЭ свидетельствует о нарастании сигнальной дерегуляции в клетках опухолевых желез и стромы по мере ухудшения гистологической дифференцировки опухоли. Наиболее вероятно это способствует автономизации и прогрессии опухолевого роста.

В ЭАЭ разной степени дифференцировки не выявлено статистически значимой разницы в УЭ p53 в железистых опухолевых клетках ($p>0,05$) (таблица 1), при анализе связей не выявлено также зависимостей между УЭ p53 в железистых опухолевых клетках и степенью дифференцировки ЭАЭ (таблица 2). I.Markova с соавторами [12] сообщали о статистически значимом росте УЭ p53 клетками низкодифференцированной аденокарциномы по сравнению с высоко- и умеренно дифференцированными. Отличия в результатах объясняются меньшим объёмом исследованной нами выборки, что, вероятно, не позволило выявить статистически достоверную разницу в УЭ белка p53 в ЭАЭ разной степени дифференцировки.

Тем не менее, при разделении ЭАЭ на 2 подгруппы по особенностям экспрессии p53, в подгруппах прослеживаются определённые закономерности. В подгруппе ЭАЭ с очаговой низкой и высокой экспрессией p53 (46 случаев), которая, вероятно, связана с диким типом p53 [13], прослеживается обратная связь умеренной силы между УЭ p53 в железистых опухолевых клетках и степенью дифференцировки ЭАЭ ($\gamma=-0,45$). Это может свидетельствовать о нарастании

нарушений в активации нормального p53-зависимого механизма контроля клеточного цикла с ухудшением дифференцировки ЭАЭ. В группе ЭАЭ с аберрантной гиперэкспрессией p53 (10 случаев), которая связывается с мутацией p53 [13], наблюдается прямая сильная связь между УЭ p53 в железистых опухолевых клетках и степенью дифференцировки ЭАЭ ($\gamma=0,75$). Это косвенно говорит об увеличении количества нарушений в клеточном цикле при ухудшении дифференцировки ЭАЭ с повреждённым p53-зависимым механизмом контроля целостности ДНК.

По мере ухудшения дифференцировки ЭАЭ от G1 к G3 статистически значимо возрастает УЭ p16 в железистых опухолевых клетках: медиана УЭ p16 в клетках высокодифференцированной (G1) ЭАЭ составляет 38,36 (32,49; 47,92) УЕОП, в умеренно дифференцированных (G2) опухолях она равна 61,39 (52,70; 73,11) УЕОП и в низкодифференцированных (G3) ЭАЭ - 77,41 (67,55; 84,14) УЕОП ($p<0,05$) (см. таблицу 1). При этом УЭ p16 в клетках стромы опухоли достоверно не отличается в аденокарциномах разной степени дифференцировки ($p>0,05$) (см. табл. 1). Установлена прямая сильная связь между степенью дифференцировки ЭАЭ и УЭ p16 в железистых опухолевых клетках ($\gamma=0,76$, таблица 2). Известно, что увеличение УЭ белка p16 по мере ухудшения дифференцировки опухоли свидетельствует о росте нарушений p16-ассоциированного механизма контроля клеточного цикла, ведущего к подавлению апоптоза опухолевых клеток [10].

Уровень экспрессии Ki-67 статистически значимо возрастает по мере ухудшения дифференцировки ЭАЭ от G1-G2 к G3: медиана УЭ Ki-

67 в железистых опухолевых клетках в высокодифференцированной (G1) карциноме составляет 2,0 (1,0; 2,0) балла, в умеренно дифференцированной (G2) ЭАЭ она равна 2,0 (2,0; 2,0) балла и в низкодифференцированной (G3) карциноме - 3,0 (3,0; 4,0) балла ($p < 0,05$) (см. таблицу 1). В ЭАЭ разной степени дифференцировки не выявлено отличий в УЭ Ki-67 в клетках стромы ($p > 0,05$) (см. табл. 1). Установлена прямая умеренная связь между УЭ Ki-67 в железистых клетках опухоли и степенью дифференцировки ЭАЭ ($\gamma = 0,34$, таблица 2). A. D. Stănescu с коллегами [14] также выявили повышенное число Ki-67-позитивных клеток в низкодифференцированных аденокарциномах эндометрия. Это характеризует нарастание пула делящихся клеток в ЭАЭ по мере ухудшения её дифференцировки, что служит непрямым характерной ускорения роста клеточной массы и, соответственно, всей опухоли.

Установлено, что по мере ухудшения дифференцировки ЭАЭ от G1 к G3 достоверно снижается УЭ каспазы-3 в железистых опухолевых клетках: медиана УЭ каспазы-3 в железистых опухолевых клетках высокодифференцированной (G1) ЭАЭ составляет 74,31 (72,02; 101,30) УЕОП, в умеренно дифференцированных (G2) опухолях она равна 59,80 (46,64; 71,06) УЕОП и в низкодифференцированных ЭАЭ (G3) - 26,38 (20,52; 33,68) УЕОП ($p < 0,05$) (см. табл. 1). Уровень экспрессии каспазы-3 в железистых опухолевых клетках ЭАЭ имеет обратную сильную связь со степенью дифференцировки опухоли ($\gamma = -0,84$). Данные закономерности являются косвенным свидетельством снижения уровня каспаза-зависимого апоптоза в опухолевых железистых клетках по мере ухудшения дифференцировки ЭАЭ. Полученные результаты совпадают с данными Z.L.Guo с соавторами [15], которые также выявили связь между УЭ каспазы-3 и степенью гистологической дифференцировки аденокарциномы эндометрия.

Уровень экспрессии каспазы-3 в клетках опухолевой стромы достоверно возрастает по мере ухудшения дифференцировки ЭАЭ: медиана УЭ каспазы-3 в клетках стромы ЭАЭ G1, G2 и G3 степени дифференцировки составляет 30,13 (20,49; 34,59) УЕОП, 52,21 (41,87; 58,47) УЕОП и 72,11 (69,94; 91,76) УЕОП, соответственно ($p < 0,05$) (см. таблицу 1). Между УЭ каспазы-3 в клетках стромы ЭАЭ и степенью дифференцировки ЭАЭ существует прямая сильная связь ($\gamma = 0,84$, таблица 2).

Выводы

1. По мере ухудшения дифференцировки эндометриальной аденокарциномы тела матки от G1 к G3 в железистых опухолевых клетках достоверно снижается уровень экспрессии рецепторов эстрогена- α , рецепторов прогестерона, каспазы-3 и возрастает уровень экспрессии p16 и

Ki-67 ($p < 0,05$). В клетках стромы опухоли достоверно возрастает уровень экспрессии каспазы-3 ($p < 0,05$).

2. Между уровнями экспрессии рецепторов эстрогена- α в железистых клетках и в клетках стромы эндометриальной аденокарциномы существуют обратные связи умеренной силы со степенью дифференцировки опухоли ($\gamma = -0,68$ и $\gamma = -0,36$, соответственно). Между уровнем экспрессии рецепторов прогестерона в железистых клетках опухоли существует обратная сильная связь со степенью гистологической дифференцировки эндометриальной аденокарциномы тела матки ($\gamma = -0,78$).

3. В эндометриальных аденокарциномах с низкой и высокой экспрессией p53 имеет место обратная умеренная связь между уровнем экспрессии p53 в железистых опухолевых клетках и степенью гистологической дифференцировки опухоли ($\gamma = -0,45$). В аденокарциноме с аберрантной гиперэкспрессией p53 наблюдается прямая сильная связь между уровнем экспрессии p53 в железистых опухолевых клетках и степенью гистологической дифференцировки карциномы ($\gamma = 0,75$).

4. По мере ухудшения дифференцировки эндометриальной аденокарциномы от G1 к G3 статистически значимо возрастает уровень экспрессии p16 в железистых опухолевых клетках и не изменяется уровень экспрессии этого маркера в клетках стромы опухоли. Между степенью дифференцировки эндометриальной аденокарциномы и уровнем экспрессии p16 в железистых клетках опухоли имеет место прямая сильная связь ($\gamma = 0,76$).

5. Уровень экспрессии Ki-67 в железистых опухолевых клетках статистически значимо возрастает по мере ухудшения дифференцировки эндометриальной аденокарциномы от G1-G2 к G3. Между уровнем Ki-67 в железистых опухолевых клетках эндометриальной аденокарциномы и степенью дифференцировки опухоли имеет место прямая умеренная связь ($\gamma = 0,34$).

6. По мере ухудшения дифференцировки эндометриальной аденокарциномы от G1 к G3 достоверно снижается уровень экспрессии каспазы-3 в железистых опухолевых клетках и возрастает в клетках стромы опухоли. Уровень экспрессии каспазы-3 в железистых опухолевых клетках эндометриальной аденокарциномы имеет обратную сильную связь со степенью дифференцировки опухоли ($\gamma = -0,84$). Между уровнем экспрессии каспазы 3 в клетках опухолевой стромы существует прямая сильная связь со степенью дифференцировки опухоли ($\gamma = 0,84$).

Перспектива дальнейших исследований лежит в плоскости поиска взаимосвязи между механизмами морфогенеза, определяющими степень дифференцировки аденокарциномы эндометрия и экспрессией прогностических маркеров

для підбору найбільш оптимального набору імуногістохімічних маркерів, для індивиду-

ального прогноза течення ендометриоїдної аденокарциноми ендометрія.

Литературні джерела References

1. Stewart BW, Wild CP. World cancer report 2014. IARC. Geneva: WHO Press; 2014. 630p.
2. The International Agency for Research on Cancer, author; Tavassoli FA, Devilee P; editors. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press; 2003, 432p.
3. Bender D, Buekers T, Leslie KK. Hormone receptors and endometrial cancer. *Proceedings in Obstetrics and Gynecology*. 2011;2(1):1–25.
4. Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I. Endometrial cancer. *Lancet*. 2005;366(9484):491–505.
5. Horrée N, van Diest PJ, Sie-Go DM, Heintz AP. The invasive front in endometrial carcinoma: higher proliferation and associated derailment of cell cycle regulators. *Human Pathology*. 2007;38:1232-8.
6. Peiró G, Diebold J, Baretton GB, Kimmig R, Löhns U. Cellular apoptosis susceptibility gene expression in endometrial carcinoma: correlation with bcl-2, bax, caspase-3 expression and outcome. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2001;20(4):359-67.
7. Dabbs DJ, editor. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*. 3rd ed. New York: Saunders; 2009. P766.
8. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark G. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Modern Pathology*. 1998;11:155-68.
9. Risberg B, Karlsson K, Abeler V, Lagrelius A, Davidson B, Karlsson MG. Dissociated expression of Bcl-2 and Ki-67 in endometrial lesions: diagnostic and histogenetic implications. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2002;21(2):155-60.
10. Buchynska LG, Nesina IP. Expression of the cell cycle regulators p53, p21WAF1/CIP1 and p16INK4A in human endometrial adenocarcinoma. *Experimental Oncology*. 2006;28(2):152-5.
11. Tumanskyi VO, Yevsieiev AV, Kovalenko IS, Zubko MD, inventors. Zaporizhia state medical university. [Method of photo digital morphometrical study of immunohistochemical micropreparations]. Ukraine patent UA 99314. 2015. Int. Cl. G01N 21/00, G06K 9/0. Ukrainian.
12. Markova I, Duskova M, Lubusky M, Kudela M, Zapletalová J, Procházka M, Pilka R. Selected Immunohistochemical Prognostic Factors in Endometrial Cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*. 2010;20:576-82.
13. Han G, Sidhu D, Duggan MA, Arseneau J, Cesari M, Clement PB. Reproducibility of histological cell type in high-grade endometrial carcinoma. *Modern Pathology*. 2013;26:1594-604.
14. Stanescu AD, Nistor I, Poteca AG, Ditescu D, Comanescu M. Prognostic biomarkers in endometrial adenocarcinoma. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2014;55(4):1339-44.
15. Guo ZL, Chen K, Wang XQ, Hu W. [Expression and relationship of Ezh2, Runx3 and caspase-3 in endometrial adenocarcinoma.]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2011;40(6):387-91.

Туманський В.А., Чепець О.В. Порівняльна імуногістохімічна характеристика експресії рецепторів естрогену- α , та прогестерону, p16 і p53, Ki-67 і каспази 3 в інвазивній ендометриоїдній аденокарциномі тіла матки різного ступеню диференціювання.

Реферат. З метою імуногістохімічної характеристики експресії рецепторів естрогену- α і прогестерону, p16, p53, Ki-67, каспази-3 клітинами інвазивної ендометриоїдної аденокарциноми ендометрію різного диференціювання Імуногістохімічними та морфометричними методиками досліджена інвазивна рT₁₋₄N_xM_xG₁₋₃ ендометриоїдна аденокарцинома (ЕА) в видаленій матці 56 хворих. Встановлено, що з погіршенням диференціювання ЕА в її клітинах знижується рівень експресії рецепторів естрогену- α (РЕ- α), рецепторів прогестерону (РП), каспази-3, зростає рівень експресії p16, Ki-67, а в клітинах пухлинної строми збільшується рівень експресії каспази-3. Ступінь диференціювання пухлини має достовірні зв'язки з рівнями експресії РЕ- α ($\gamma=-0,68$), РП ($\gamma=-0,78$), p53 ($\gamma=-0,45$ в ЕА з низькою та високою експресією p53; $\gamma=0,75$ в ЕА з гіперекспресією p53), p16 ($\gamma=0,76$), Ki-67 ($\gamma=0,34$), каспази-3 ($\gamma=-0,84$) в клітинах ЕА та з рівнем експресії РЕ- α ($\gamma=-0,36$), каспази-3 ($\gamma=0,84$) в клітинах пухлинної строми.

Ключові слова: карцинома ендометрію, рецептори естрогену – α , рецептори прогестерону, p53, p16, Ki-67, каспаза 3, ступінь пухлинного диференціювання.