

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ МАРКЕРИ АКТИВНОСТІ АПОПТОЗУ ТА ПРОЛІФЕРАЦІЇ У ЖІНОК З АДЕНОМІОЗОМ, ЯКІ ПЕРЕНЕСЛИ ПАПІЛЯРНУ КАРЦИНОМУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ



М.Д. ТРОНЬКО

д. мед. н., професор,
віцепрезидент НАМН України,
академік НАМН України,
член-кореспондент
НАН України, директор
ДУ «Інститут ендокринології
та обміну речовин імені
В.П. Комісаренка НАМН України»,
м. Київ
ORCID: 0000-0001-7421-0981

А.О. ДАНИЛОВА

лікар — акушер-гінеколог,
аспірантка відділу ендокринної
гінекології ДУ «Інститут педіатрії,
акушерства і гінекології імені
акад. О.М. Лук'янової
НАМН України», м. Київ
ORCID: 0000-0002-7921-169X

Л.В. КАЛУГІНА

д. мед. н., провідний науковий
співробітник відділення
ендокринної гінекології
ДУ «Інститут педіатрії,
акушерства і гінекології імені
акад. О.М. Лук'янової
НАМН України», м. Київ
ORCID: 0000-0003-2263-6627

Н.В. КОСЕЙ

д. мед. н., професор, головний
науковий співробітник
відділення ендокринної
гінекології ДУ «Інститут педіатрії,
акушерства і гінекології імені
акад. О.М. Лук'янової НАМН
України», завідувачка відділу
репродуктивного здоров'я ДНУ
«Центр інноваційних медичних
технологій НАН України», м. Київ
ORCID: 0000-0003-3085-3285

ВСТУП

На сьогодні аденоміоз є однією з найпоширеніших гінекологічних патологій, з якою щодня стикаються клініцисти. Згідно зі статистичними даними, поширеність захворювання варіює від 20 до 30% серед жінок репродуктивного віку [1]. З огляду на клінічні прояви, що досить неоднорідні та зазвичай включають у себе аномальні маткові кровотечі, хронічний тазовий біль, безпліддя тощо, аденоміоз становить не тільки медичну, а й соціально-економічну проблему [1–3]. Так, тазовий біль є одним з основних чинників зниження продуктивності праці жінок і охоплює майже 60% від загальної втрати трудової продуктивності. Річні витрати (на одну жінку, яка працює) становлять від 208 доларів США в Нігерії до 23 712 доларів США в Італії [4]. Важливо зазначити, що це захворювання не тільки негативно впливає на фізичний стан жінок, а й порушує їхній психоемоційний добробут, що супроводжується підвищеним ризиком розвитку тривожності та депресії [5–7]. На жаль, недостатність даних про етіологію та патогенез аденоміозу унеможливорює своєчасний вплив на патогенетичні ланки, що сприяє прогресуванню захворювання: так, затримка в установленні діагнозу в середньому сягає 6,7 року [8].

Варто зауважити, що серед жінок із папілярною карциномою щитоподібної залози (ПҚЩЗ) в анамнезі аденоміоз діагностується значно частіше порівняно з пацієнтками з нормальним тиреоїдним статусом (64,7 проти 20,0%; $p < 0,05$) [9]. Патогенетичні механізми такого взаємозв'язку ще до кінця не вивчені. Повідомлялося про порушення експресії деяких генів, зокрема CXCL12, GRIM-19, Pак4, що пов'язані не тільки з процесами проліферації, інвазії та міграції злоякісних клітин щитоподібної залози (ЩЗ), а й з індукуванням гетеротопії, поширенням і локальним розростанням ендометріальних клітин при аденоміозі [10–13]. Крім того, було продемонстровано залежність ступеня проліферації епітеліальних і стромальних клітин ендометрію від концентрацій тиреотропного гормону. Так, додавання ТТГ в дозі 4 мкг до культури

ендометріальних клітин призводило до підвищення рівня клітинної проліферації як еутопічного та ектопічного ендометрію жінок з ендометріозом, так і ендометрію жінок без гінекологічної патології [14].

Згідно з даними імуногістохімічного (ІГХ) дослідження, виконаного на базі Інституту педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України, еутопічний ендометрій жінок з аденоміозом, які перенесли ПҚЩЗ, характеризувався високим рівнем експресії естрогенових і прогестеронових рецепторів на тлі відносної гіпопрогестеронемії, що певною мірою може впливати на процеси проліферації та апоптозу клітин еутопічного ендометрію та подальшої інвазії ендометрію-їдних гетеротопій [15]. Аберантна експресія стероїдних рецепторів призводить до порушення співвідношення проапоптичних і антиапоптичних факторів і зумовлює молекулярні механізми інвагації еутопічних клітин ендометрію та «підтримання» ектопічних вогнищ у міометріальному шарі, що позначається на клінічних проявах аденоміозу [16, 17].

Враховуючи вищезазначене, можна припустити певні патофізіологічні особливості перебігу захворювання у пацієнток з аденоміозом, які перенесли ПҚЩЗ в анамнезі, що зумовлює доцільність вивчення наявності чинників, які можуть бути використані як імуногістохімічні маркери активності проліферативного процесу в еутопічному ендометрії цієї когорти пацієнток.

Мета дослідження: оцінити активність механізмів апоптозу та проліферації еутопічного ендометрію пацієнток з аденоміозом, які перенесли ПҚЩЗ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Клінічне дослідження проводили на базі Інституту педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України.

Усі жінки надали інформовану згоду на участь у дослідженні, яке виконано згідно з етичними принципами Гельсінської декларації.

До дослідження ввійшли 30 жінок репродуктивного віку, яким було встановлено діагноз «аденоміоз» на підставі клінічних даних

та даних трансвагінального УЗД органів малого таза відповідно до критеріїв морфологічного оцінювання матки MUSA (Morphological Uterus Sonographic Assessment) [18, 19].

Учасниць було розподілено на групи:

- I група – 15 жінок, яким в анамнезі було встановлено діагноз ПКЦЗ і проведено комбіноване лікування, середня тривалість періоду після тиреоїдектомії – $8,64 \pm 7,09$ року;
- II група – 15 жінок із необтяженим тиреоїдним статусом.

Проведено детальний аналіз анамнестичних даних, особливу увагу приділяли менструальній та репродуктивній функції пацієнток. Оцінювання ступеня вираженості тазового болю здійснювали за візуально-аналоговою шкалою: пацієнткам пропонували позначити на смужці завдовжки 10 см вираженість їхнього відчуття болю, де крайні точки 0 та 10 означали відповідно «відсутність болю» та «нестерпний біль». Ступінь вираженості больового синдрому оцінювали за такими параметрами: 0,1–2,5 см – слабкий біль, 2,6–5,0 см – помірний біль, 5,1–7,5 см – сильний біль, 7,6–10,0 см – нестерпний біль.

Морфологічне дослідження проводили на 30 біоптатах еутопічного ендометрію, що були отримані за допомогою пайпель-біопсії ендометрію в секреторну фазу менструального циклу (МЦ).

Отриманий біологічний матеріал фіксували в 10% розчині забуференого нейтрального формаліну. Проводку біоматеріалу (дегідратацію та просочування парафіном) здійснювали в автоматизованих гістопроцесорах (Milestone LOGOS Microwave Hybrid Tissue Processor, Milestone, Італія). Потім проводили заливку матеріалу в парафін із виготовленням парафінових блоків на станціях заливки та виготовлення парафінових блоків Thermo Scientific HistoStar (Thermo Fisher

Scientific, США). Гістологічні зрізи завтовшки 4 мкм виготовляли на напівавтоматизованому ротаційному мікротомі Thermo Scientific HM 340E.

Препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином з використанням автоматизованого коверстейнера Dako CoverStainer (Agilent, США). Гістохімічне забарвлення проводили мануально. Під час мікроскопічного дослідження матеріалу послуговувалися мікроскопом Nikon Eclipse E200 (Nikon Corporation, Японія).

ІГХ дослідження виконували на парафінових зрізах із використанням моноклональних антитіл відповідно до стандартного протоколу та рекомендацій виробників антитіл. Після депарафінізації та регідратації зрізів проводили високотемпературне демаскування антигенів нагріванням на водяній бані в Трис-ЕДТА (pH = 9,0) буфері, пригнічували активність ендogenous пероксидази 3% розчином перекису водню й наносили блокувальну сироватку. Інкубацію з первинними антитілами проводили відповідно до інструкцій фірм-виробників, візуалізацію ІГХ-реакції виконували з використанням системи детекції DAKO EnVision+System з діамінобензидином (DAKO, США). Зрізи дозabarвлювали гематоксиліном Маєра та занурювали в канадський бальзам. Було проведено ІГХ дослідження з використанням моноклональних антитіл до таких клітино-специфічних маркерів: Bcl-2 (DAKO, клон 124), Ki-67 (DAKO, клон MIB-1).

Статистичний аналіз проводили за статистичним пакетом Stata 12 (ліцензійна версія). Первинна база за досліджуваними клінічними характеристиками пацієнток створена в Microsoft Excel. Для описової характеристики клінічних параметрів дослідження застосовували методи варіаційної статистики з визначенням характеристик частоти виявлення якісних ознак

Т.М. КУЧМЕНКО

к. мед. н., старший співробітник лабораторії ультразвукової та функціональної діагностики ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ
ORCID: 0000-0001-8197-4437

Ю.М. БОНДАРЕНКО

молодший науковий співробітник лабораторії патоморфології «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені акад. О.М. Лук'янової НАМН України», м. Київ
ORCID: 0000-0003-0635-3969

Контакти:

Данилова Анна Олександрівна
ДУ «ІПАГ ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України»
04050, Київ, вул. Майбороди, 8
Тел.: +38 (097) 532-05-56
Email: danilovaannalex@gmail.com

Таблиця. Характеристика менструальної та репродуктивної функції обстежуваних пацієнток

Категорії	Група I	Група II	p
Менархе, років (M ± SD)	12,3 ± 0,9	12,6 ± 0,6	0,1236
Тривалість МЦ, дні (M ± SD)	30,1 ± 3,3	29,4 ± 2,8	0,3670
Тривалість менструальної кровотечі, дні (M ± SD)	6,3 ± 1,2	6,1 ± 1,5	0,5619
Варіативності (M ± SD)	2,3 ± 1,4	2,4 ± 1,5	0,7855
Пологи (M ± SD)	1,4 ± 0,6	1,3 ± 0,5	0,4745
Кесарів розтин, n (%)	2 (6,5%)	3 (9,4%)	0,9999
Аборти (M ± SD)	1,9 ± 1,1	2,1 ± 0,8	0,4113
Самовільні аборти (M ± SD)	1,3 ± 0,5	1,5 ± 0,7	0,1981
Первинне безпліддя, n (%)	4 (12,9%)	3 (9,4%)	0,7078

(кількість випадків та розподіл у %), середньої арифметичної (М) та стандартного відхилення (SD) для кількісних ознак. Оцінювання суттєвості (вірогідності) різниці між групами за їхніми частотними характеристиками проводили за критерієм хі-квадрат (χ^2) і точним критерієм Фішера. Порівняння кількісних параметрів проводили за критерієм Вілкоксона – Манна – Вітні та t-критерієм. Вірогідність різниці між групами визначали при заданому максимальному рівні похибки не більш як 5% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ

Середній вік пацієнток становив $39,3 \pm 5,5$ року в групі I та $38,2 \pm 5,2$ року в групі II ($p > 0,05$). Згідно з аналізом антропометричних даних, серед обстежуваних пацієнток переважав нормостенічний конституціональний морфотип, середні показники індексу маси тіла становили $24,7 \pm 4,6$ кг/м² та $25,3 \pm 4,0$ кг/м² ($p > 0,05$) у групах I та II відповідно.

Характеристика менструальної та репродуктивної функції обстежуваних жінок представлена в таблиці.

Провідною скаргою пацієнток був синдром тазового болю. Усі жінки, включені до дослідження, скаржилися на наявність вторинної дисменореї; 4 (26,7%) пацієнтки I групи та 3 (20,0%) жінки II групи асоціювали виникнення тазового болю з фізичним навантаженням; 4 (26,7%) пацієнтки I групи та 4 (26,7%) жінки II групи мали незадоволеність статевим життям унаслідок диспареунії ($p > 0,05$).

Оцінювання інтенсивності больового синдрому за візуально-аналоговою шкалою продемонструвало однорідність його вираженості в обох групах. Так, показники інтенсивності тазового болю в менструальний період відповідали рівню «сильний біль» і становили $6,9 \pm 0,8$ та $6,7 \pm 0,8$ см у пацієнток I та II групи відповідно ($p > 0,05$). У міжменструальний період вираженість больового синдрому була дещо нижча, однак теж відповідала рівню «сильний біль» – $5,9 \pm 1,0$ та $5,5 \pm 0,9$ см у групах I та II відповідно ($p > 0,05$).

Серед порушень МЦ обстежені жінки зауважували нерегулярність менструації – 2 (13,3%) пацієнтки I групи та 2 (13,3%) пацієнтки II групи ($p > 0,05$), рясні менструальні кровотечі – 7 (46,7%) жінок I групи та 6 (40,0%) жінок II групи ($p > 0,05$). На наявність міжменструальних мастких кров'янистих виділень поскаржилися 10 (66,7%) і 9 (60,0%) жінок I та II групи відповідно ($p > 0,05$).

Морфологічне оцінювання 30 біопатів еутопічного ендометрію продемонструвало відповідність структури ендометрію секреторній фазі МЦ у 12 (80%) пацієнток I групи та 13 (86,7%) осіб II групи, у 3 (20%) пацієнток I групи та 2 (13,3%) пацієнток II групи було виявлено ациклічний гіпопластичний ендометрій. Серед зразків, які відповідали фазі МЦ, у 2 (13,3%) жінок I групи та 1 (6,7%) пацієнтки II групи були встановлені зміни, характерні для гіперплазії ендометрію без атипії, а у 2 (13,3%) осіб II групи виявлено функціональні поліпи ендометрію на тлі вогнищового хронічного ендометриту. Матеріал, що не відповідав структурі ендометрію секреторної фази МЦ або мав гіперпластичні зміни, було виключено з подальшого дослідження.

ІГХ дослідження проводили на 20 біоптатах еутопічного ендометрію: 10 зразків пацієнток I групи та 10 зразків пацієнток II групи. Це дослідження показало різний рівень

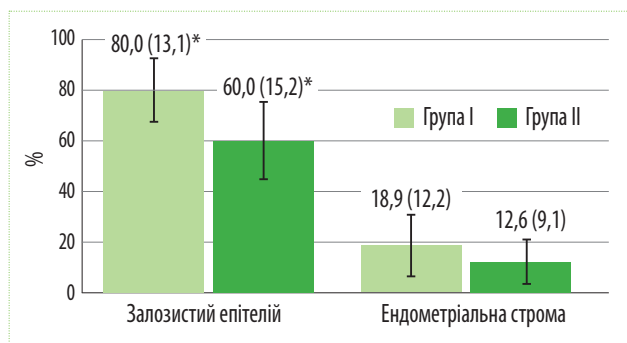


Рисунок 1. Експресія Bcl-2 в еутопічному ендометрії обстежених пацієнток, М(SD)

* різниця вірогідна між групами I та II ($p < 0,05$)

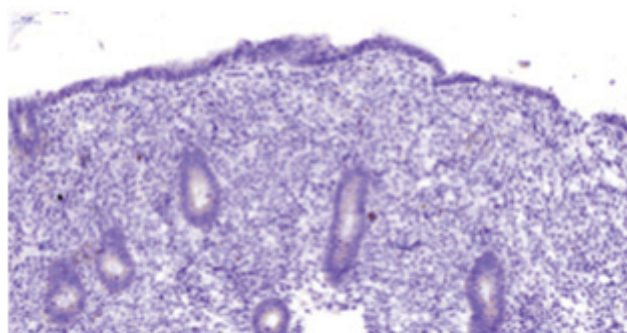


Рисунок 1А. ІГХ аналіз рівня експресії Bcl-2 в еутопічному ендометрії пацієнток I групи. 20-разове збільшення, масштабна смуга – 50 мкм

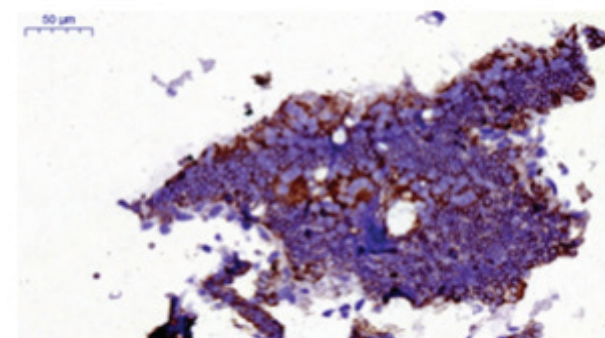


Рисунок 1Б. ІГХ аналіз рівня експресії Bcl-2 в еутопічному ендометрії пацієнток II групи. 20-разове збільшення, масштабна смуга – 50 мкм

експресії Bcl-2 в залозистому епітелії ендометрію всіх пацієнток. Високі рівні експресії цього маркера зафіксовано в 70% зразків ендометрію жінок I групи та у 62,5% пацієнток II групи ($p > 0,05$). Однак середній відсоток імунопозитивних клітин у I групі (80,0 (13,1)%) клітин залозистого епітелію експресували Bcl-2) був значно вищий порівняно з групою II (імунопозитивна реакція зафіксована у 60,0 (15,2)%) клітин).

У стромальному епітелії експресію Bcl-2 було виявлено в 90% зразків ендометрію осіб I групи та 100% пацієнток II групи ($p > 0,05$), середній відсоток позитивних клітин у групах статистично не відрізнявся (рис. 1, 1А, 1Б).

Слабкий рівень експресії Bcl-2 зафіксовано в 30% зразків ендометрію I групи та 37,5% зразків II групи ($p > 0,05$), кількість імунопозитивних клітин статистично не відрізнялась і становила 13,3 (5,8)% та 8,3 (2,9)% ($p > 0,05$) відповідно.

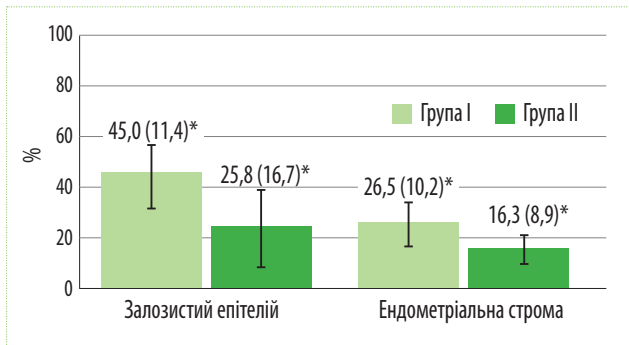


Рисунок 2. Експресія Ki-67 в еутопічному ендометрії обстежених пацієнток, M(SD)

* різниця вірогідна між групами I та II ($p < 0,05$)

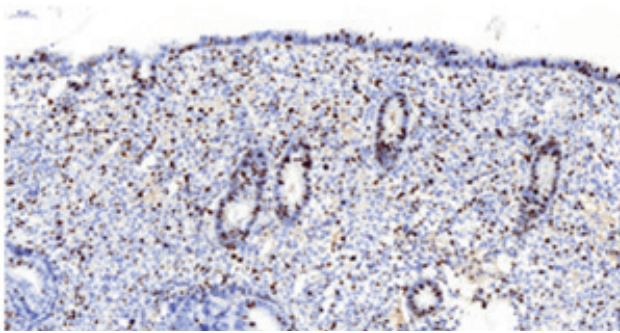


Рисунок 2А. ІГХ аналіз рівня експресії Ki-67 в еутопічному ендометрії пацієнток I групи. 20-разове збільшення, масштабна смуга – 50 мкм

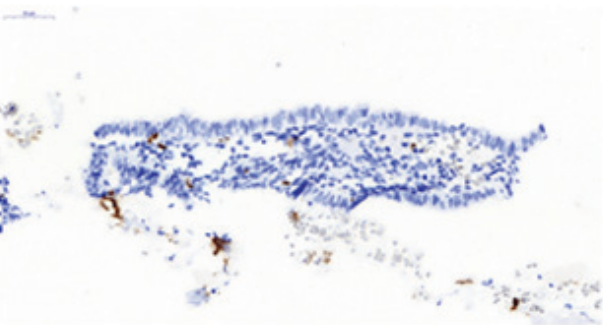


Рисунок 2Б. ІГХ аналіз рівня експресії Ki-67 в еутопічному ендометрії пацієнток II групи. 20-разове збільшення, масштабна смуга – 50 мкм

ІГХ фарбування еутопічного ендометрію продемонструвало значно вищий відсоток проліферуючих клітин в ендометрії пацієнток I групи як у залозистому, так і в стромальному епітелії. Так, у 60% зразків ендометрію пацієнток I групи 45,0 (11,4)% клітин залозистого епітелію експресували Ki-67, у 75% зразків ендометрію пацієнток II групи імунопозитивна реакція була зафіксована у 25,8 (16,7)% клітин ($p < 0,05$). Імунопозитивна реакція клітин стромального епітелію виявлена в 100% біоптатів ендометрію пацієнток I та II груп, однак кількість позитивних клітин була значно вищою у групі I (рис. 2, 2А, 2Б).

ОБГОВОРЕННЯ

На сьогодні безперечним є факт, що аденоміоз – це естрогензалежне захворювання. Згідно з сучасною концепцією, одним із пускових механізмів його розвитку вважається ло-

кальна паракринна активність еутопічного та ектопічного ендометрію, що призводить до локальної супрафізіологічної продукції естрогенів [20]. Важливо зазначити, що в пацієнток із диференційованим раком ШЗ спостерігається незбалансований метаболізм естрогенів, які метаболічно трансформуються до канцерогенних метаболітів – естроген-3,4-хінонів і, взаємодіючи з ДНК, депуринуються, залишаючи апуринові ділянки в ДНК, що здатні генерувати онкогенні мутації [21]. Підвищене співвідношення депуринованих естрогенових ДНК-аддуктів до метаболітів і кон'югатів естрогену в крові може сприяти активній проліферації клітин з незворотно пошкодженою ДНК і розглядатись як один із патогенетичних механізмів розвитку як тиреоїдного канцерогенезу, так і гіперпроліферативної патології репродуктивної системи, зокрема аденоміозу.

Апоптоз є одним із базових механізмів підтримання гомеостазу, саме цей процес відіграє ключову роль в усуненні «неправильних» клітин із функціонального шару ендометрію протягом пізньої секреторної та менструальної фаз циклу [22]. Апоптична активність ендометріальних клітин регулюється великою кількістю регуляторних чинників, серед яких слід виокремити антиапоптичні (наприклад, Bcl-2, Bcl-xL) та проапоптичні (наприклад, Вах, каспаза-3) [23]. Bcl-2 – це антиапоптичний фактор, який інгібує апоптоз шляхом блокування вивільнення мітохондріального цитохрому С і взаємодії з Вах та Bcl-xL протеїном [24].

За даними фундаментальних ІГХ досліджень нормального ендометрію, експресія Bcl-2 була зафіксована в усіх складових ендометріальної тканини, однак ступінь експресії значно варіює протягом МЦ. Так, пік експресії цього маркера спостерігається в залозистих клітинах наприкінці фолікулярної фази МЦ, що зумовлює інгібування апоптозу ендометріальних клітин. З початком секреторної активності як у залозистому, так і в стромальному епітелії функціонального шару ендометрію рівень експресії Bcl-2 значно знижується, навіть до відсутності експресії [25]. В ендометрії жінок з аденоміозом виявлено абnormally високу експресію Bcl-2 як у проліферативну, так і в секреторну фазу МЦ, що є індикатором резистентності ендометріальних клітин до апоптозу [26, 27]. Отримані результати ІГХ дослідження еутопічного ендометрію в секреторну фазу МЦ продемонстрували високий рівень експресії Bcl-2 залозистими та стромальними клітинами ендометрію в пацієнток обох груп, однак слід зазначити, що кількість залозистих імунопозитивних клітин була значно вищою в пацієнток з обтяженим тиреоїдним анамнезом порівняно з групою контролю.

Крім антиапоптичної дії, Bcl-2 впливає і на інші клітинні функції, що залучені до патогенезу аденоміозу. Взаємодіючи з протеїном Bcl-xL через рецептор інозитол-1,4,5-трифосфат, який регулює вивільнення Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулуму до мітохондрій, Bcl-2 сприяє клітинній міграції [28]. Крім того, було продемонстровано здатність Bcl-2 посилювати як міграційні, так й інвазивні характеристики клітин шляхом впливу на експресію низки металопроїназ та їхніх інгібіторів [29]. Цікаво, що інгібування Bcl-2 призводило до зниження життєздатності, міграційних характеристик та підвищення частоти апоптозу ендометріальних клітин [26].

Кількість мітотично активних клітин, тобто ступень клітинної проліферативної активності, відображає рівень експресії Ki-67. За літературними даними, наявність маркера Ki-67 фіксується в ядрах клітин у фазах G1, S та G2 циклу поділу клітин і під час мітозу, а у фазі G0 клітини не експресують антиген Ki-67 [30]. Згідно з результатами фундаментальних ІГХ досліджень, маркер Ki-67 експресують предомінантно залозисті клітини функціонального шару ендометрію, переважно в проліферативну фазу МЦ, у секреторну фазу МЦ в нормальному ендометрії експресія цього маркера залозистими клітинами функціонального шару ендометрію не фіксується. Стромальні клітини помірно експресують антиген Ki-67 протягом усього МЦ [25]. Цікаво, що згідно з отриманими результатами ІГХ дослідження еутопічного ендометрію, було зафіксовано високу частоту експресії Ki-67 як залозистими, так і стромальними клітинами функціонального шару ендометрію в секреторну фазу МЦ, а в пацієнток

із ПКЦЗ в анамнезі спостерігалася вірогідно більша кількість залозистих і стромальних імунопозитивних клітин порівняно з групою контролю, що демонструє високу ростову активність еутопічного ендометрію в цієї когорти пацієнток.

ВИСНОВКИ

Результати ІГХ дослідження еутопічного ендометрію пацієнток з аденоміозом, які перенесли ПКЦЗ, продемонстрували високий ступінь проліферативної активності клітин еутопічного ендометрію на тлі вираженої резистентності до апоптозу, що може бути розглянуто як маркер агресивності перебігу захворювання в цієї когорти пацієнток.

Конфлікт інтересів

Автори декларують відсутність конфлікту інтересів і зв'язку з фармацевтичними компаніями.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

- Stratopoulou, C.A., Donnez, J., Dolmans, M.M. "Origin and Pathogenic Mechanisms of Uterine Adenomyosis: What Is Known So Far." *Reprod Sci* 28 (2021): 2087–97.
- García-Solares, J., Donnez, J., Donnez, O., Dolmans, M.-M. "Pathogenesis of uterine adenomyosis: invagination or metaplasia?" *Fertil Steril* 109.3 (2018): 371–9. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.12.030
- Chapron, C., Vannuccini, S., Santulli, P., et al. "Diagnosing adenomyosis: An integrated clinical and imaging approach." *Hum Reprod Update* 26.3 (2020): 392–411.
- Patel, B.G., Rudnicki, M., Yu, J., et al. "Progesterone resistance in endometriosis: origins, consequences and interventions." *Acta Obstet Gynecol Scand* 96.6 (2017): 623–32.
- Alcalde, A.M., Martínez-Zamora, M.Á., Gracia, M., et al. "Impact of Adenomyosis on Women's Psychological Health and Work Productivity: A Comparative Cross-Sectional Study." *J Womens Health* 30.11 (2021): 1653–9. Available from: [https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jwh.2020.8789], last accessed Jan 5, 2022.
- Alcalde, A.M., Martínez-Zamora, M.Á., Gracia, M., et al. "Assessment of Quality of Life, Sexual Quality of Life, and Pain Symptoms in Deep Infiltrating Endometriosis Patients With or Without Associated Adenomyosis and the Influence of a Flexible Extended Combined Oral Contraceptive Regimen: Results of a Prospective, Observational Study." *J Sex Med* 19.2 (2022): 311–8.
- Данилова, А.О. Якість життя жінок з аденоміозом та папілярною карциномою щитоподібної залози в анамнезі // *Репродуктивне здоров'я жінки*. – 2022. – № 1. – С. 63–68.
- Danylova, A.O. "Quality of women's life of with adenomyosis and papillary thyroid carcinoma in anamnesis." *Women's Reproductive Health* 1 (2022): 63–8. Available from: [http://repro-health.com.ua/article/view/258143].
- Ballard, K., Lowton, K., Wright, J. "What's the delay? A qualitative study of women's experiences of reaching a diagnosis of endometriosis." *Fertil Steril* 86.5 (2006): 1296–301.
- Danylova, A., Tatarchuk, T., Kalugina, L., Kuchmenko, T. "Hyperproliferative pathology of the reproductive system among female thyroid cancer survivors." *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 270 (2022): e33. Available from: [http://www.ejog.org/article/S030121521006771/fulltext].
- Zhu, X., Bai, Q., Lu, Y., et al. "Expression and function of CXCL12/CXCR4/CXCR7 in thyroid cancer." *Int J Oncol* 48.6 (2016): 2321–9. Available from: [http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2016.3485/abstract].
- Xie, X., Shi, X., Guan, H., et al. "P21-activated kinase 4 involves TSH induced papillary thyroid cancer cell proliferation." *Oncotarget* 8.15 (2017): 24882–91. Available from: [https://www.oncotarget.com/article/15079/text/].
- Li, J., Yin, G., Chen, M., et al. "Expression of CXCL12 and its receptor CXCR4 in patients with adenomyosis." *Oncol Lett* 13.4 (2017): 2731–6. Available from: [http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2017.5762/abstract].
- Yi, K.W., Kim, S.H., Ihm, H.J., et al. "Increased expression of p21-activated kinase 4 in adenomyosis and its regulation of matrix metalloproteinase-2 and -9 in endometrial cells." *Fertil Steril* 103.4 (2015): 1089–97.e2. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.12.124].
- Peyneau, M., Kavian, N., Chouzenoux, S., et al. "Role of thyroid dysimmunity and thyroid hormones in endometriosis." *Proc Natl Acad Sci* 116.24 (2019): 11894–9. Available from: [http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1820469116].
- Данилова, А.О. Особливості гормонального гомеостазу та рецепторного апарату ендометрію у жінок з аденоміозом, які перенесли папілярну карциному щитоподібної залози / А.О. Данилова, Л.В. Калугіна, Н.В. Косей [та ін.] // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2022. – № 3 (65). – С. 101–106.
- Danylova, A.O., Kalugina, L.V., Kosei, N.V., et al. "Peculiarities of hormonal homeostasis and endometrial receptor apparatus in women with adenomyosis, who suffered from papillary carcinoma of the thyroid gland." *Reprod Endocrinol* 3.65 (2022): 101–6. Available from: [http://reproduct-endo.com/article/view/265141/261171].
- Oehler, M.K., Grieschik, H., Fischer, D.C., et al. "Functional characterization of somatic point mutations of the human estrogen receptor α (hER α) in adenomyosis uteri." *Mol Hum Reprod* 10.12 (2004): 853–60. Available from: [https://academic.oup.com/molehr/article/10/12/853/1020616].
- Yang, H.L., Chang, K.K., Mei, J., et al. "Estrogen restricts the apoptosis of endometrial stromal cells by promoting TSLP secretion." *Mol Med Rep* 18.5 (2018): 4410–6.
- Van den Bosch, T., Dueholm, M., Leone, F.P.G., et al. "Terms, definitions and measurements to describe sonographic features of myometrium and uterine masses: A consensus opinion from the Morphological Uterus Sonographic Assessment (MUSA) group." *Ultrasound Obstet Gynecol* 46.3 (2015): 284–98.
- Harmsen, M.J., Van den Bosch, T., de Leeuw, R.A., et al. "Consensus on revised definitions of morphological uterus sonographic assessment (MUSA) features of adenomyosis: results of a modified Delphi procedure." *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021 Sep 29. Available from: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/uog.24786], last accessed May 25, 2022.
- Yen, C.F., Huang, S.J., Lee, C.L., et al. "Molecular Characteristics of the Endometrium in Uterine Adenomyosis and Its Biochemical Microenvironment." *Reprod Sci* 24.10 (2017): 1346–61.
- Zahid, M., Goldner, W., Beseler, C.L., et al. "Unbalanced estrogen metabolism in thyroid cancer." *Int J Cancer* 133.11 (2013): 2642–9.
- Hopwood, D., Levison, D.A. "Atrophy and apoptosis in the cyclical human endometrium." *J Pathol* 119.3 (1976): 159–66.
- Yang, J.H., Wu, M.Y., Chen, C.D., et al. "Altered apoptosis and proliferation in endometrial stromal cells of women with adenomyosis." *Hum Reprod* 22.4 (2007): 945–52.
- Takagi-Morishita, Y., Yamada, N., Sugihara, A., et al. "Mouse uterine epithelial apoptosis is associated with expression of mitochondrial voltage-dependent anion channels, release of cytochrome C from mitochondria, and the ratio of Bax to Bcl-2 or Bcl-X." *Biol Reprod* 68.4 (2003): 1178–84.
- Mertens, H.J., Heineman, M.J., Evers, J.L. "The expression of apoptosis-related proteins Bcl-2 and Ki67 in endometrium of ovulatory menstrual cycles." *Gynecol Obstet Invest* 53.4 (2002): 224–30.
- Li, J., Yanyan, M., Mu, L., et al. "The expression of Bcl-2 in adenomyosis and its effect on proliferation, migration, and apoptosis of endometrial stromal cells." *Pathol Res Pract* 215.8 (2019): 152477.
- Li, B., Wang, L., Fan, Y., et al. "Expression and significance of bcl-2, bax and ER in foci of adenomyosis." *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 47.12 (2012): 923–7.
- Fouqué, A., Leprier, E., Debure, L., et al. "The apoptotic members CD95, BclxL, and Bcl-2 cooperate to promote cell migration by inducing Ca²⁺ flux from the endoplasmic reticulum to mitochondria." *Cell Death Differ* 23.10 (2016): 1702–16. Available from: [https://www.nature.com/articles/cdd201661].
- Wick, W., Wagner, S., Kerkau, S., et al. "BCL-2 promotes migration and invasiveness of human glioma cells." *FEBS Lett* 440.3 (1998): 419–24.
- Miller, I., Min, M., Yang, C., et al. "Ki67 is a Graded Rather than a Binary Marker of Proliferation versus Quiescence." *Cell Rep* 24.5 (2018): 1105–1112.e5.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ МАРКЕРИ АКТИВНОСТІ АПОПТОЗУ ТА ПРОЛІФЕРАЦІЇ У ЖІНОК З АДЕНОМІОЗОМ, ЯКІ ПЕРЕНЕСЛИ ПАПІЛЯРНУ КАРЦИНОМУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

М.Д. Тронько, д. мед. н., професор, віцепрезидент НАМН України, академік НАМН України, член-кор. НАН України, директор ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ

А.О. Данилова, лікар — акушер-гінеколог, аспірантка відділу ендокринної гінекології ДУ «ІПАГ ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України», м. Київ

Л.В. Калугіна, д. мед. н., провідний науковий співробітник відділення ендокринної гінекології ДУ «ІПАГ ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України», м. Київ

Н.В. Косей, д. мед. н., професор, головний науковий співробітник відділення ендокринної гінекології ДУ «ІПАГ ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України», завідувачка відділу репродуктивного здоров'я ДНУ «ЦІМТ НАН України», м. Київ

Т.М. Кучменко, к. мед. н., старший співробітник лабораторії ультразвукової та функціональної діагностики ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ

Ю.М. Бондаренко, мол. наук. співробітник лабораторії патоморфології ДУ «ІПАГ ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України», м. Київ

Мета дослідження: оцінити активність механізмів апоптозу та проліферації еутопічного ендометрію в пацієнок з аденоміозом, які мали в анамнезі папілярну карциному щитоподібної залози (ПКЩЗ).

Матеріали та методи. Обстежено 63 жінки репродуктивного віку: I група — 31 пацієнтка з аденоміозом і ПКЩЗ в анамнезі, II група — 32 пацієнтки з аденоміозом і необтяженим тиреоїдним статусом.

У всіх жінок оцінювали ступінь інтенсивності тазового болю за візуально-аналоговою шкалою. Матеріал для морфологічного дослідження отримано за допомогою пайпель-біопсії ендометрію в секреторну фазу менструального циклу. Морфологічне дослідження проводили на 30 біоптатах еутопічного ендометрію (15 зразків — пацієнтки I групи та 15 зразків — пацієнтки II групи). Виконано імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл до клітинно-специфічних маркерів Bcl-2 (DAKO, клон 124) та Ki-67 (DAKO, клон MIB-1).

Результати. У залозистому епітелії еутопічного ендометрію учасниць дослідження зафіксовано високий рівень експресії Bcl-2 (70 та 62,5% зразків пацієнок I та II груп відповідно, $p > 0,05$), спостерігалася вірогідно вища кількість імунопозитивних клітин у зразках пацієнок I групи: $80,0 \pm 13,1\%$ проти $60,0 \pm 15,2\%$ у I та II групах відповідно ($p < 0,05$). У стромальному епітелії експресію Bcl-2 було виявлено в 90% зразків ендометрію пацієнок I групи та у 100% пацієнок II групи ($p > 0,05$), середній відсоток імунопозитивних клітин у групах вірогідно не відрізнявся: $18,9 \pm 12,2\%$ та $12,6 \pm 9,1\%$ у I та II групах відповідно ($p > 0,05$). Ступінь клітинної проліферації залозистого та стромального епітелію був значно вищим у зразках еутопічного ендометрію пацієнок I групи (залозистий епітелій: $45,0 \pm 11,4\%$ проти $25,8 \pm 16,7\%$ у пацієнок I та II груп відповідно ($p < 0,05$), стромальний епітелій: $26,5 \pm 10,2\%$ проти $16,3 \pm 8,9\%$ у пацієнок I та II груп відповідно ($p < 0,05$)).

Висновки. Результати імуногістохімічного дослідження еутопічного ендометрію пацієнок з аденоміозом, які перенесли ПКЩЗ, продемонстрували високий ступінь клітинної проліферативної активності на тлі вираженої резистентності до апоптозу, що може бути розглянуто як маркер агресивності перебігу захворювання в цієї когорти пацієнок.

Ключові слова: аденоміоз, папілярна карцинома щитоподібної залози, Bcl-2, Ki-67, гіперпроліферативна патологія, репродуктивний вік, апоптоз, проліферація.

IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF THE ACTIVITY OF APOPTOSIS AND PROLIFERATION IN WOMEN WITH ADENOMYOSIS WHO HAD PAPILLARY THYROID CARCINOMA

M.D. Tronko, MD, professor, vice-president of the NAMS of Ukraine, academician of the NAMS of Ukraine, corresponding member of the NAS of Ukraine, director of the SI "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv

A.O. Danylova, obstetrician-gynecologist, postgraduate student, Endocrine Gynecology Department, SI "O.M. Lukyanova Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the NAMS of Ukraine", Kyiv

L.V. Kaluhina, MD, leading researcher, Endocrine Gynecology Department, SI "O.M. Lukyanova Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the NAMS of Ukraine", Kyiv

N.V. Kosei, MD, professor, chief researcher, Endocrine Gynecology Department, SI "O.M. Lukyanova Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the NAMS of Ukraine"; head of the Department of Reproductive Health, SSI "Center for Innovative Medical Technologies of the NAS of Ukraine", Kyiv

T.M. Kuchmenko, PhD, senior worker, Laboratory of Ultrasound and Functional Diagnostics, SI "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAS of Ukraine", Kyiv

Y.M. Bondarenko, junior researcher, laboratory of pathomorphology, SI "O.M. Lukyanova Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the NAMS of Ukraine", Kyiv

Research objectives: to evaluate the activity of apoptosis and proliferation mechanisms of eutopic endometrium in patients with adenomyosis who had a history of papillary thyroid carcinoma (PTC).

Materials and methods. 63 women of reproductive age were examined: group I — 31 patients with adenomyosis and PTC in history, group II — 32 patients with adenomyosis and normal thyroid status. The intensity of pelvic pain was assessed using a visual analog scale in all women. The material for morphological research was obtained with Pipelle biopsy of the endometrium in the secretory phase of the menstrual cycle.

A morphological study was performed on 30 biopsies of eutopic endometrium (15 samples from patients of group I and 15 samples from patients of group II).

An immunohistochemical study was performed using monoclonal antibodies to cell-specific markers Bcl-2 (DAKO, clone 124) and Ki-67 (DAKO, clone MIB-1).

Results. High expression of Bcl-2 was detected in the endometrial glandular epithelial cells (EGECs) in 70% and 62.5% of samples in group I and II respectively ($p > 0.05$), the number of Bcl-2-positive cells was significantly higher in samples from group I ($80.0 \pm 13.1\%$ versus $60.0 \pm 15.2\%$ in group I and II respectively, $p < 0.05$). In endometrial stromal cells (ESCs) high expression of Bcl-2 was detected in 90% and 100% of samples from group I and II respectively ($p > 0.05$), no significant difference in the number of positive cells was found between groups ($18.9 \pm 12.2\%$ and $12.6 \pm 9.1\%$ in group I and II respectively, $p > 0.05$).

Expression of Ki-67 was detected in the EGECs in 70% and 62.5% ($p > 0.05$) of samples in group I and II respectively and in the ESCs in 100% of samples from groups I and II respectively. The immunocytochemical Ki-67 labelling index was much more prominent in group I ($45.0 \pm 11.4\%$ versus $25.8 \pm 16.7\%$ EGECs ($p < 0.05$); $26.5 \pm 10.2\%$ versus $16.3 \pm 8.9\%$ ESCs ($p < 0.05$) for group I and II respectively).

Conclusions. Altered proliferation of the eutopic endometrium with marked resistance to apoptosis was found in reproductive aged female with adenomyosis and PTC in history, that is can be considered as a marker of the aggressiveness of the disease course in this cohort of patients.

Keywords: adenomyosis, papillary thyroid carcinoma, Bcl-2, Ki-67, hyperproliferative pathology, reproductive age, apoptosis, proliferation.