УДК 616-07:576.53:618.14-002.28

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОЦЕНКИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ И НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Махина Е.В., Пичигина А.К., Колдышева Е.В., Молодых О.П., Лушникова Е.Л.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии» Сибирского отделения РАМН, Новосибирск, e-mail: pathol@inbox.ru

Исследование пролиферативной активности клеток имеет большое значение для установления диагноза и прогноза широкого спектра патологических процессов. Особое значение имеет изучение пролиферативной активности разных клеточных популяций в тканях, для которых в физиологических условиях свойственны циклические и интенсивные процессы обновления (физиологической регенерации). Нарушения в таких
канях, к которым относится слизистая оболочка матки (эндометрий), соотношений между интенсивностью
пролиферации и дифференцировкой может быть одним из механизмов нарушения неопластической трансформации. Появление в последние десятилетия значительного количества методов и еще большего числа
маркеров пролиферации вызвало дополнительные трудности в выборе оптимального набора для достоверной и объективной оценки характера гиперпластических и неопластических процессов, в том числе и в эндометрии. В кратком обзоре отечественной и иностранной литературы рассматриваются основные подходы
к исследованию уровня пролиферативной активности клеток и тканей, а также некоторые маркеры этого
процесса, используемые в современных клинических и экспериментальных исследованиях. Подчеркивается важность комплексного подхода как для дифференциальной диагностики пролиферативных процессов
в эндометрии, так и для их прогноза и выбора наиболее эффективной тактики лечения.

Ключевые слова: эндометрий, гиперпластические и неопластические процессы, маркеры пролиферации, иммуногистохимия, радиоавтография

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE OF ASSESSMENT OF ENDOMETRIAL CELL PROLIFERATIVE ACTIVITY IN HYPERPLASTIC AND NEOPLASTIC PROCESSES

Makhina E.V., Pichigina A.K., Koldysheva E.V., Molodykh O.P., Lushnikova E.L.

Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS, Novosibirsk, e-mail: pathol@inbox.ru

The study of the proliferative activity of cells is of great importance for the diagnosis and prognosis of a wide range of pathological processes. Of particular importance is the study of the proliferative activity of different cell populations in tissues, which in physiological conditions are subjected to cyclic and intensive renewal processes (physiological regeneration). Abnormalities in these tissues, which include endometrium, breakdown correlations between the intensity of cell proliferation and differentiation can be one of the mechanisms of neoplastic transformation. Considerable number of methods and a greater number of markers of proliferation, which were introduced in research practice in recent decades, caused additional difficulties in the selection of the optimal set for accurate and objective assessment of the nature of hyperplastic and neoplastic processes, including the endometrium. In a brief review the main approaches to the study of the level of proliferative activity of cells and tissues are examined, as well as some markers of this process used in modern clinical and experimental studies. Importance of a complex approach for differential diagnosis of proliferative processes in endometrium is emphasized, as well as for prognosis and selection of the most effective course of treatment.

Keywords: endometrium, hyperplastic and neoplastic processes, proliferation markers, immunohistochemistry, autoradiography

Вопросы диагностики и лечения пролиферативных процессов матки являются наиболее сложными и актуальными в медицине. Гиперпластические процессы эндометрия (ГПЭ) относятся к числу наиболее распространенных гинекологических заболеваний, встречающиеся с частотой от 30 до 55% [5, 22]. ГПЭ представляют собой чрезвычайно сложную проблему практической гинекологии, которая связана, прежде всего, с тем, что при длительном течении без лечения может явиться фоном для развития рака эндометрия [21]. Согласно литератур-

ным данным, частота «озлокачествления» гиперпластических процессов эндометрия колеблется в достаточно широких пределах (0,25–50%) и определяется морфологическими особенностями заболевания, длительностью его рецидивирования, а также возрастом пациенток. По данным эпидемиологических исследований, ежегодно в мире выявляют примерно 150 тыс. новых больных раком тела матки, 42 тыс. из которых погибает.

В соответствии с классификацией ISGP, FIGO и ВОЗ эндометриальные гиперплазии

делят на типичную и атипическую (аденоматозную) формы, которые включают в себя как простые, так и сложные (комплексные) варианты [24, 43, 46], а также полипы эндометрия [15]. Особого внимания заслуживает проблема раннего выявления предраковых заболеваний, к которым относят атипическую гиперплазию эндометрия, аденоматозные полипы, железисто-кистозную гиперплазию в менопаузе [16].

Поиск оптимального сочетания неинвазивных и малоинвазивных методик для получения достаточной информации о состоянии эндометрия, выявления его начальных изменений продолжает оставаться актуальной задачей. К числу неинвазивных диагностических подходов следует отнести в первую очередь ультразвуковое исследование. Причем для оценки состояния эндометрия более информативной является трансвагинальная эхография, позволяющая визуализировать даже минимальные структурные нарушения. Однако следует заметить, что чувствительность и специфичность этих методов колеблется в пределах 60-80%. Гистологическое исследование соскобов слизистой оболочки матки - наиболее информативный метод диагностики ГПЭ в сравнении с УЗИ. Однако данный метод является инвазивным, требующим госпитализации, ограниченность получаемых образцов не позволяет в ряде случаев ставить достоверный диагноз. Поэтому одной из основных задач патоморфологии на современном этапе развития морфологических исследований является поиск наиболее эффективных диагностических и прогностических критериев патологических процессов, включая биомолекулярные маркеры, и разработка воспроизводимых стандартизированных технологий обработки и исследования биопсийного и операционного материала.

Одним из подходов к оценке выраженности гиперпластических процессов в эндометрии, получившим распространение в последние годы не только в научно-исследовательской, но и клинической практике, стало использование, наряду с визуальным исследованием (оценкой митотического индекса), методов иммуногистохимии. Следует отметить, что гистохимические методы и радиоавтография в настоящее время используются реже.

Современные методы оценки пролиферативной активности клеток в клинических и экспериментальных исследованиях и маркеры пролиферации. Классическим методом определения активно пролиферирующих клеток является прямой подсчет количества митозов в гистоло-

гическом препарате (митотический индекс), который позволяет выявить клетки в фазе конденсации и расхождения хромосом, когда видны характерные фигуры митоза. Этот метод до сих пор широко применяется для оценки уровня пролиферации клеток в быстро обновляющихся тканях [11, 20, 26].

Другой возможностью исследовать пролиферацию клеток является радиоавтография с использованием ³Н-тимидина. Меченая таким образом вновь синтезированная молекула ДНК стабильна, и «разбавление» метки возможно лишь в ходе последующих клеточных делений [7, 10]. Основным недостатком этого метода считается ограничение его использования в клинических исследованиях и необходимость строгого соблюдения норм радиационной безопасности при работе с источниками ионизирующих излучений.

При использовании гистохимических методов, основанных на избирательной окраске молекулы ДНК (например, с помощью реактива Фельгена) и ее транскрипционно активных участков, с помощью цитофотометрии (или цитофлюорометрии) проводят количественную оценку ДНК в клетках.

Для оценки некоторых параметров пролиферативной активности клеток применяют также гистохимические методы выявления белков (аргентофильных) ядрышковых организаторов (AgNOR) [2, 27, 32]. Количество AgNOR возрастает после того как клетка вступает в клеточный цикл - в период от ранней G1-фазы до поздней S-фазы. Наименьшее содержание AgNOR выявлено в G1-фазе, а наиболее высокое – в S – G2фазах клеточного цикла [47]. При анализе пролиферативной активности клеточных линий в культуре установлено, что количество AgNOR в интерфазе соотносится со временем удвоения количества клеток: чем больше количество AgNOR в интерфазном ядре, тем выше скорость пролиферации клеток.

Наибольшее распространение получили методы иммуногистохимического выявления экспрессии молекулярно-биологических маркеров пролиферации в операционном и биопсийном материале, основанные на реакции специфического связывания маркированных антител с выявляемым агентом. При этом основными оцениваемыми параметрами являются интенсивность и распространенность экспрессии. В этой связи прежде всего следует упомянуть три наиболее используемых в клинической и экспериментальной практике маркера пролиферативной активности – Кі-67, PCNA и BdrU.

Наиболее изученным и, возможно, перспективным является ген МКІ67, кодирующий ядерный белок Кі-67, его рассматривают как «золотой стандарт» оценки пролиферативной активности клетки. Он отражает количество митотически активных клеток, так как экспрессируется во всех фазах клеточного цикла (G1, S, G2, M), кроме G0. Экспрессия Ki-67 начинается в конце G1 фазы клеточного цикла и достигает максимума в его митотическую фазу, т.е. интенсивность ядерного окрашивания может быть весьма вариабельной. Белок Кі-67 в основном связан с хромосомами, выявляется в области теломер, центромер, в ядрышках. Для оценки пролиферативной активности клеток эндометрия чаще всего используют именно маркер Кі-67, несмотря на то, что истинная роль этого белка в регуляции клеточного цикла до конца не ясна. В связи с этим не исключена возможность выявления ложнопозитивной экспрессии Кі-67. Кроме того, иммунореактивность Кі-67 во многом зависит от давности фиксации образцов, условий их хранения и методов демаскировки антигена [14].

Еще одним широко используемым маркером пролиферации является так называемый ядерный антиген пролиферирующих клеток - PCNA, ядерный белок массой 29 кДа. Благодаря экспрессии в S и G2 фазах клеточного цикла он считается хорошим маркером пролиферации. В дополнение к своей роли скользящего белка-фиксатора ДНК и вспомогательного фактора ДНКполимеразы РСNА взаимодействует с рядом других белков, вовлеченных в транскрипцию, реконструкцию хроматина, рекомбинацию, апоптоз и другие формы репарации ДНК. Синтез PCNA в ходе клеточного цикла коррелирует с синтезом ДНК-полимеразы дельта, однако содержание PCNA стабильно увеличивается и остается высоким до границы фаз G2/M [31, 45]. Относительным недостатком PCNA является его медленный катаболизм после завершения S-фазы цикла, однако это можно использовать для более полного выявления пролиферирующих клеток в медленно обновляющихся тканях [7].

5-бром-2'-дезоксиуридин (BrdU) можно назвать специфическим маркером S-фазы, он включается в ДНК, замещая собой тимидин в процессе репликации ДНК, встраиваясь в новую молекулу ДНК. Особенность использования этого вещества заключается в том, что больному перед операцией необходимо ввести BrdU; при экспериментальном исследовании производится интраперитонеальное или пероральное введение с последующей гистохимической оценкой.

Иммуногистохимическое окрашивание с антителами к BrdU позволяет обнаружить пролиферирующие клетки [1]. Для успешного иммуногистохимического выявления инкорпорированного BrdU требуется денатурировать ДНК. В клинических и экспериментальных целях нередко используется двойное (dual-stain) иммуногистохимическое окрашивание PCNA - BdrU, или Ki-67 – BdrU, иногда производится параллельное окрашивание серийных срезов с использованием PCNA, BdrU и Ki-67 [29, 42, 48, 49]. К недостаткам BrdU можно отнести его токсичность для включающих это вещество клеток и достаточно сильный мутагенный эффект, что может привести к возникновению точечных мутаций и /или блокировке репликации ряда генов [50].

К высокоспецифичным маркерам пролиферации относят гистон Н3, фосфорилирование которого по Ser(10) и Ser(28) в клетках эукариот происходит во время митоза, что играет важную роль для конденсации хромосом [34, 35]. Фосфорилирование Н3 по Ser(28) является более специфичным в отношении маркирования митоза, поэтому этот маркер используют для выявления клеток в М-фазе клеточного цикла. К положительным свойствам этого маркера относится стабильность при фиксации формальдегидом и заливке образца в парафин [10].

Регуляторные субъединицы циклин-зависимых киназ — циклины также представляют определенный интерес в качестве маркеров пролиферативного процесса. Чаще всего используется маркирование циклинов D₁ и B₁, что позволяет разделять клетки, находящиеся в G1 и G2 фазах клеточного цикла. Особенностью выявления циклинов является обязательная тепловая демаскировка препаратов [10].

В последнее время для определения пролиферативной активности клеток используют молекулярный маркер МСМ2 (Mini Chromosome Maintenance Protein 2), увеличение экспрессии которого обнаружено при цервикальной интраэпителиальной неоплазии, плоскоклеточных раках шейки матки, кожи, легких, пищевода, переходноклеточном раке мочевого пузыря, аденокарциномах эндометрия и простаты, муцинозной аденокарциноме яичников, почечноклеточном раке, лимфомах, олигодендроглиоме. Величина экспрессии МСМ2 коррелирует со степенью дифференцировки опухолей.

В качестве альтернативы иммуногистохимического исследования, в том случае если нужное для исследования количество ткани получить невозможно по социальным или техническим причинам, может быть предложен метод определения экспрессии молекулярных маркеров на цитологических препаратах – метод иммуноцитохимии. Однако при этом следует учитывать известные разночтения в результатах, связанные со временем и способом фиксации, а также другими техническими особенностями методов. Основным недостатком иммуноцитохимического метода считается невозможность использования архивного материала [44]. Методами иммуноцитохимии определяют такие маркеры пролиферативной активности, как FEN-1 (флэпэндонуклеаза-1) – фермент, принимающий участие в репликации и репарации ДНК, кроме того FEN-1 тесно взаимодействует с ядерным антигеном пролиферирующих клеток (PCNA) [18].

Значение оценки пролиферативной активности клеток эндометрия в диагностике и прогнозе доброкачественных и злокачественных гиперпластических процессов в эндометрии. В настоящее время большинство исследователей и клиницистов считают, что диагностика и особенно прогноз пролиферативных процессов в матке невозможны без комплексного подхода, который заключается не только в применении комплекса клинико-инструментальных и морфологических методов, но и в использовании комплекса морфолои молекулярно-биологических гических методов при анализе биопсийного и операционного материала. Применение широкого спектра морфометрических, гистохимических и иммуноморфологических методов диагностики позволяет более точно верифицировать сложные в морфологическом плане гиперпластические процессы эндометрия, сводить к минимуму количество диагностических ошибок [17].

Сложности в диагностике и прогнозе доброкачественных и злокачественных пролиферативных процессов в эндометрии определяются несоответствием между экспрессией ряда ключевых молекулярных маркеров, морфологической картиной и выраженностью клинических симптомов.

В качестве диагностических и прогностических маркеров, свидетельствующих о нарушениях в соотношениях процессов пролиферации и дифференцировки и функционировании эндометрия, позволяющих провести дифференциальный диагноз, подобрать наиболее адекватную терапию, сделать прогноз по поводу течения заболевания и его исхода, в клинической и экспериментальной практике изучают рецепторный гормональный статус (по экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону – ER, PR), маркеры пролиферации (PCNA, Ki-67, белки, связанные с клеточным циклом –

сусlin D1, сусlin E, p21/WAF1 и др.), онкогены (c-ErbB-2), продукты генов-супрессоров (pRb, p53), антиапоптотические белки (Bcl-2), адгезивные молекулы (CD44s), маркеры ангиогенеза (VEGF), протеолитические ферменты (катепсин D), белки теплового шока (hsp27), матриксные металлопротеиназы (MMT) [2, 40, 49].

Оценка пролиферативной активности клеток эндометрия при разных формах гиперплазий, аденомиозе и раке является лишь составной частью комплексного патоморфологического исследования, имеет преимущественно прогностическое значение, а также может использоваться при дифференциальной диагностике. Такой подход обусловлен рядом обстоятельств.

Данные об экспрессии маркеров пролиферации – PCNA и Ki-67 – в клетках эндометрия при разных формах гиперплазий носят противоречивый характер. Наряду с сообщениями о возрастании пролиферативной активности клеток эндометрия при типической и атипической гиперплазии [9, 30], многие исследователи отмечают снижение экспрессии PCNA и Ki-67 как при типичной, так и при атипической гиперплазии [13, 23, 25] по сравнению с нормальным эндометрием в стадии пролиферации. Другие авторы при использовании метода ОТ-ПЦР не выявили достоверных различий в экспрессии маркеров пролиферации между простой, комплексной и атипической гиперплазией эндометрия. Результаты иммуногистохимического исследования свидетельствуют о повышении уровня экспрессии Кі-67 и снижении экспрессии опухолевого супрессора РТЕМ при атипической гиперплазии по отношению к простой и комплексной гиперплазии эндометрия [6]. Полученные данные о снижении экспрессии маркеров пролиферации клеток эндометрия при типичной и атипической гиперплазии в значительной мере противоречат традиционному пониманию генеза гиперпластических процессов, при которых избыточный рост желез рассматривается как следствие усиленной пролиферации эпителиоцитов.

При оценке пролиферативной активности эпителиальных и стромальных клеток эндометрия при различных вариантах его гиперплазии и интраэпителиальной неоплазии установлено, что экспрессия маркера Кі-67 в эпителии желез выше, чем в строме, исключение составляет простая гиперплазия эндометрия, где наблюдается высокая экспрессия этого антигена в строме [4].

При исследовании разных вариантов аденомиоза также получены сходные противоречивые данные о пролиферативной

активности различных клеточных популяций как эутопического, так и эктопического эндометрия [8, 9, 12, 38]. В основном исследователи отмечают тенденцию к повышению пролиферативной активности железистого и стромального компонентов эутопического эндометрия, что связано, по-видимому, с включением в анализируемые группы наблюдений с гиперпластическими изменениями [9, 12]. По данным проведенного нами иммуногистохимического исследования, пролиферативная активность секреторных эпителиоцитов при очаговом и стромальном вариантах аденомиоза была значительно ниже (соответственно на 70 и 89%, p < 0,05), чем в нормальном эутопическом эндометрии [19]. Наиболее высокий индекс меченых клеток выявлен нами в эпителиоцитах желез при очаговом аденомиозе $(23,2 \pm 2,9\%)$, при стромальном варианте этот показатель был в 2,8 раза меньше (p < 0.05), несмотря на то, что данный вариант в 100% случаев сопровождался железистой гиперплазией эндометрия.

Противоречивые данные об интенсивности пролиферативных реакций в железистых эпителиоцитах при разных вариантах гиперплазий и аденомиоза могут объясняться исходными индивидуальными различиями в группах наблюдений и различными методическими подходами к оценке данного параметра. Некоторые авторы рассчитывают не индекс мечения, а интенсивность окраски клеток с вычислением коэффициента экспрессии на основе полуколичественного морфометрического метода [9]. Следует отметить, что для такого подхода необходима высокая стандартизация микротомирования и окрашивания срезов при проведении иммуногистохимического анализа, а также использование фотоденситометрических приборов для объективной оценки интенсивности окрашивания. Полуколичественный метод определения интенсивности окрашивания тех или иных структур всегда носит выраженный субъективный характер.

Анализ характера распространения метки не выявил существенных различий в пролиферативной активности эпителиоцитов секреторных и кистозно трансформированных эндометриальных желез. В последних интенсивность мечения может быть даже выше, чем в простых эндометриальных железах. Эти данные не позволяют однозначно относить кистозно трансформированные железы как в эутопическом, так и эктопическом эндометрии к неактивным (регрессивным) только на основании их структурных характеристик. Показано, в частности, что в очагах регрессирующего

аденомиоза с кистозной трансформацией и в кистах возможно возобновление пролиферации эпителия с увеличением экспрессии ароматазы цитохрома P-450 [3].

При анализе интенсивности пролиферативных реакций в клетках эндометриальной стромы при аденомиозе установлено, что индекс меченых клеток стромы ниже, чем в нормальном эндометрии (на 72 и 44% соответственно при очаговом и стромальном вариантах, p < 0.05) [19]. При стромальном варианте аденомиоза этот показатель был в 2 раза выше, чем при очаговом. Следует отметить, что интенсивность метки была высокой в очагах псевдодецидуализации и в пограничных с миометрием зонах. По мере удаления от эндометрия в глубь миометрия интенсивность метки клеток стромы снижалась. Это обстоятельство (возможную неравномерность распределения пролиферирующих клеток, своеобразную стратификацию) следует учитывать при количественной оценке пролиферативной активности стромальных клеток.

Рак эндометрия в подавляющем большинстве случаев развивается на фоне гиперэстрогении и целого ряда эндокринных нарушений, нарушений липидного и углеводного обменов. Эндометриальные карциномы подразделяют на две широкие категории: І тип – эстроген-зависимые аденокарциномы с эндометриоидной морфологией; ІІ тип – эстроген-независимые аденокарциномы с папиллярной или только клеточной структурой [33, 39, 49]. Эти типы различаются по молекулярному профилю. В аденокарциномах І типа инактивация РТЕМ-генов совместно с дефектами генов, отвечающих за репарацию ДНК или мутации в генах К-гаѕ и/или β-катенина, вызывают большинство изменений, которые обусловливают прогрессию гиперплазии, эндометриальной интраэпителиальной неоплазии и затем развитие карциномы. В аденокарциномах ІІ типа выявляются мутации в генах TP53 и Her-2/neu, и эти карциномы часто возникают на фоне атрофированного эндометрия.

Инвазивный рост, гематогенная или лимфогенная диссеминация с последующим метастазированием могут определяться сверхэкспрессией ряда транскрипционных факторов, таких как RUNX1 ETV5/ERM. Поведение опухолей во многих случаях остается непредсказуемым для пациентов с одинаковым распространением и типом опухолевого процесса, в связи с чем авторами подчеркивается особая роль иммуногистохимических маркеров для прогноза течения и исхода заболевания. По данным клинико-морфологических исследований,

пролиферативная активность опухолевых клеток прямо коррелирует со степенью гистологической злокачественности [36], степенью инвазии и наличием метастазов и имеет обратную зависимость с наличием рецепции к стероидным гормонам [30]. Индекс пролиферации рассматривают также в качестве независимого прогностического признака, определяющего вероятность возникновения рецидива и общую выживаемость.

Ретроспективная оценка прогностического значения экспрессии рецепторов стероидных гормонов (ER и PR), онкобелка HER-2 и пролиферативного маркера Ki-67 с помощью иммуногистохимического исследования при эндометриоидной аденокарциноме показало, что положительный гормональный рецепторный статус свидетельствует о менее злокачественном течении опухолевого процесса и более высокой выживаемости, тогда как сверхэкспрессия HER2 и высокий пролиферативный индекс по Кі-67 выявляются в опухолях с высокой степенью злокачественности. Особенно неблагоприятное течение аденокарцином наблюдается при сочетании этих двух показателей [20].

В последнее время в изучении молекулярных профилей гиперплазий эндометрия, аденомиоза и аденокарциномы эндометрия и разработке прогностических критериев течения этих заболеваний наметился комплексный подход, основанный на оценке выраженности экспрессии ряда генов, кодирующих как белки, участвующие в процессе пролиферации и дифференцировки клеток, так и белки, индуцирующие или ингибирующие апоптоз. Наиболее часто в этом аспекте анализируют экспрессию и корреляционные связи продуктов генов Ki-67, PCNA, генов-супрессоров опухолей р53 и pRb, онкогена с-erbB-2, антиапоптотического белка Bcl-2, рецепторов половых стероидных гормонов [40]. В частности, установлено, что гиперплазия эндометрия (типичная и атипическая) и эндометриальная аденокарцинома характеризуются различной выраженностью пролиферации и апоптоза клеток, которые оцениваются как по экспрессии маркерных белков, так и визуально. Как правило, более высокий уровень пролиферативной активности сочетается с более высоким уровнем апоптотической гибели клеток [41].

Подводя общий итог, можно сказать, что сведения о механизмах развития пролиферативных процессов в эндометрии остаются фрагментарными и недостаточно систематизированными. Развитие пролиферативных процессов связывают не только

с гиперэстрогенией, нарушениями экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов, но и с избыточным влиянием биологически активных веществ, обладающих пролиферативной активностью, а также с дисбалансом процессов пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Следует подчеркнуть, что количество методов исследования пролиферативной активности клеток постоянно увеличивается, с еще большей скоростью увеличивается количество маркеров этого процесса, что связано с расширением и углублением знаний о механизмах регуляции клеточного цикла. Поэтому исследование и интерпретация полученных о пролиферативной активности клеток требует пристального внимания как к отдельным маркерам и их экспрессии, так и ко всему спектру реакций, в которых они принимают участие.

Список литературы

- 1. Авдалян А.М., Бобров И.П., Климачев В.В., Лазарев А.Ф. Активность Topoisomerase II6 и уровень пролиферативной активности по степени бромдезоксиуридиновой (BrdU) метки в лейомиосаркоме тела матки // Арх. патол. -2011. № 1. C. 24–29.
- 2. Авдалян А.М., Бобров И.П., Климачев В.В., Лазарев А.Ф., Круглова Н.М. Прогностическое значение исследования плотности сосудов микроциркуляторного русла в опухоли и перитуморозной зоне по данным выявления белка CD31 и количества аргирофильных белков области адрышкового организатора (AgNOR) в эндотелии при лейомиосаркоме тела матки // Фундаментальные исследования. 2010. № 5. С. 12–20.
- 3. Аничков Н.М., Печеникова В.А., Костючек Д.Ф. Клинико-морфологические особенности эндометриоидной болезни: аденомиоза, эндометриоза яичников, экстрагенитального эндометриоза // Арх. патол. -2011. -№ 4. -C. 5-10.
- 4. Бантыш Б.Б., Пауков В.С., Коган Е.А. Иммуноморфологические особенности эпителиально-стромальных вза-имоотношений при гиперплазии и раке эндометрия // Арх. патол. 2012.- N-3.-C.22-25.
- 5. Давыдов А.И. Атипическая гиперплазия эндометрия: вопросы морфогенеза, классификация, диагностика и лечение // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2009.-N 3. C. 93–96.
- 6. Думановская М.Р., Чернуха Г.Е., Бурменская О.В. и др. Особенности экспрессии маркеров пролиферации в гиперплазированном эндометрии // Гинекология. -2013. -№ 2. -C. 4-8.
- 7. Епифанова О.И., Терских В.В., Захаров А.Ф. Радио-автография. М.: Высшая школа, 1977. 248 с.
- 8. Зайратьянц О.В., Адамян Л.В., Андреева Е.Н. и др. Молекулярно-биологические особенности эктопического и эутопического эндометрия при генитальном эндометриозе // Арх. патол. -2010. N 0.5
- 9. Зайратьянц О.В., Адамян Л.В., Сонова М.М. и др. Экспрессия ароматозы цитохрома P450 в эктопическом и эутопическом эндометрии при эндометриозе // Арх. патол. 2008.-N $\underline{5}.-C.$ 16—19.
- 10. Кирик О.В., Безнин Г.В, Коржевский Д.Э. Маркеры пролиферации, применяемые в гистологических исследованиях // Морфология. -2009. -№ 6. C. 95–100.
- 11. Киселев В.И., Ляшенко Л.А. Молекулярные механизмы регуляции гиперпластических процессов. М.: Димитрейд График Групп, 2005. 347 с.

- 12. Коган Е.А., Унанян А.Л., Демура Т.А. и др. Клинико-морфологические параллели и молекулярные аспекты морфогенеза аденомиоза // Арх. патол. 2008. № 5. С. 8—12.
- 13. Кондриков Н.И., Могиревская О.А. Гиперпластические процессы эндометрия: Иммуногистохимическое исследование // Материалы VI Российского форума «Мать и дитя». 2004. С. 380—381.
- 14. Коршунов А.Г., Шишкина Л.В., Голанов А.В. Пролиферативные маркеры в гемангиомах: иммуногистохимическое исследование и анализ прогностической значимости // Арх. патол. -2001. -№ 1. -C. 29–33.
- 15. Красильников Р.Г., Абдуллаев Р.Я. Трансвагинальное ультразвуковое исследование и магниторезонансная томография в диагностике гиперпластических процессов эндометрия // Международный медицинский журнал. − 2013. № 1. С. 113–117.
- 16. Курбанова М.Х., Хушвахтова Э.Х., Толибова Л.Х., Умарова З.З., Сайфиддинова Л.М. Значение эхографии в диагностике гиперпластических процессов эндометрия // Доклады академии наук Республики Таджикистан. 2007. Т.5, № 2. С. 473–478.
- 17. Метельская М.А., Рогов Ю.И., Григорьева Е.Е. Кобаль П.М., Шорец О.П. Иммуногистохимический статус гиперпластических процессов эндометрия и эндометроидных аденокарцином // Фундаментальные науки медицине: Материалы международной науч. конф. Минск: Беларус. навука, 2013. С. 40—42.
- 18. Назаркина Ж.К., Лаврик О.И., Ходырева С.Н. Флэпэндонуклеаза-1 и ее роль в процессах метаболизма ДНК в клетках эукариот // Молекулярная биология. 2008. Т. 42, № 3. С. 405—421.
- 19. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Молодых О.П., Пичигина А.К. Иммуноцитохимический анализ пролиферативной активности клеточных популяций эндометрия и миометрия при очаговом и стромальном аденомиозе // Бюл. экспер. биол. -2013. -T. 155, № 4. -C. 511–516.
- 20. Пожарисский К.М., Самсонова Е.А., Тен В.П. и др. Иммуногистохимический профиль эндометриоидной аденокарциномы тела матки: ER, PR, HER-2, Ki-67 и их прогностическое значение // Арх. патол. -2005. -№ 2. -C. 13-17.
- 21. Сагиндыкова Р.Р., Аскольская С.И., Коган Е.А., Чупрынин В.Д. Молекулярно-генетические механизмы гиперплазии и интраэпителиальной неоплазии эндометрия у женщин перименопаузального периода // Акушерство и гинекология. -2014. -№ 7. C. 22–28.
- 22. Сидорова И.С., Унанян А.Д., Власов Р.С. и др. Гиперпластические процессы эндометрия: Особенности клиники и терапии // Врач. -2011.- № 3.- С. 40-42.
- 23. Сухих Г.Т., Чернуха Г.Е., Сметник В.П. и др. Пролиферативная активность и апоптоз в гиперплазированном эндометрии // Акушерство и гинекология. 2005. № 5. С. 25–29.
- 24. Чепик О.Ф. Морфогенез гиперпластических процессов эндометрия // Практическая онкология. 2004. Т. 5, № 1. С. 9—15.
- 25. Чернуха Г.Е., Сухих Г.Т., Сметник В.И. и др. Состояние процессов пролиферации в гиперплазированной ткани эндометрия у женщин репродуктивного возраста // Проблемы репродукции. 2004. N₂ . 4. C. 30—34.
- 26. Чернышова А.Л., Коломиец Н.В., Бочкарева Н.В., Крицкая Н.Г. Иммуногистохимические критерии прогноза при раке эндометрия // Сибирский онкологический журнал. 2010. № 1. С. 79–84.
- 27. Шмаров Д.А., Погорелов В.М., Козинец Г.И. Современные аспекты оценки пролиферации и апоптоза в клини-ко-лабораторной диагностике // Клиническая лабораторная диагностика. 2013. \cancel{N} 1. C. 36–39.
- 28. Bozdogan O., Atasoy P., Erekul S. et al. Apoptosis-related proteins and steroid hormone receptors in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium // Int. J. Gynecol. Pathol. 2002. Vol. 21 (4). P. 375–382.

- 29. Chan R.W., Kaitu'u-Lino T., Gargett C.E. Role of label-retaining cells in estrogen-induced endometrial regeneration // Reproduct. Sci. 2012. Vol. 19. P. 102–114.
- 30. Cinel L., Polat A., Aydin O. et al. Bcl-2, iNOS, p53 and PCNA expression in normal, disodered proliferative, hyperplastic and malignant endometrium // Pathol. Int. 2002. Vol. 52. P. 384–389.
- 31. Cox L.S. Who binds wins: competition for PCNA rings out cell-cycle changes // Trends Cell Biol. 1997. Vol. 7. P. 493–498.
- 32. Derenzini M., Trere D. AgNOR proteins as a parameter of the rapidity of cell proliferation // Zentralbl. Pathol. 1994. Vol. 140. P. 7–10.
- 33. Doll A., Abal M., Rigau M. et al. Novel molecular profiles of endometrial cancer new light through old windows // J. Steroid Biochem. & Mol. Biol. 2008. Vol. 108. P. 221–229.
- 34. Goto H., Tomono Y., Ajiro K. et al. Identification of a novel phosphorylation site on histone H3 coupled with mitotic chromosome condensation // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274 (36). P. 25543–25549.
- 35. Hirata A., Inada K., Tsukamoto T. et al. Characterization of a monoclonal antibody, HTA28, recognizing a histone H3 phosphorylation site as a useful marker of M-phase cells // J. Histochem. Cytochem. 2004. Vol. 52. P. 1503–1509.
- 36. Horree N., van Diest P. J., van der Groep P. et al. Progressive derailment of cell cycle regulators in endometrial carcinogenesis // J. Clin. Pathol. 2008. Vol. 61. P. 36–42.
- 37. Ioachin E. Immunohistochemical tumor markers in endometrial carcinoma // Eur. J. Gynaecolog. Oncol. 2005. Vol. 26 (4). P. 363–371.
- 38. Khan M.S., Dodson A.R., Heatley M.K. Ki-67, oestrogen receptor, and progesterone receptor proteins in the human rete ovarii and in endometriosis // J. Clin. Pathol. 1999. Vol. 52. P. 517–520.
- 39. Liu F.S. Molecular carcinogenesis of endometrial cancer // Taiwanese J. Obstet. Gynecol. 2007. Vol. 46 (1). P. 26–32.
- 40. Mitselou A., Ioachin E., Vougiouklakis T. Immunohistochemical study of apoptosis-related Bcl-2 protein and its correlation with proliferation indices (Ki67, PCNA), tumor suppressor genes (p53, pRb), the oncogene c-erbB-2, sex steroid hormone receptors and other clinicopathological features, in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium // In Vivo. 2003. Vol. 17 (5). P. 469–477.
- 41. Mora L.B., Diaz J.I., Cantor A.B., Nicosia S.V. Differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma by computerized image cytometry of cell proliferation, apoptosis and Dcl-2 expression // Ann. Clin. Lab. Sci. 1999. Vol. 29 (4). P. 308–315.
- 42. Muskhelishvili L., Latendresse J.R., Kodell R.L., Henderson T.B. Evaluation of cell proliferation in rat tissues with BrdU, PCNA, Ki-67(MIB-5) immunohistochemistry and in situ hybridization for histone mRNA // J. Histochem. Cytochem. 2003. Vol. 51 (12). P. 1681–1688.
- 43. Narges I.M., Yarmohammadi M., Ahmadi S.A. Reproducibility determination of WHO classification of endometrial hyperplasia/well differentiated adenocarcinoma and comparison with computerized morphometric data in curettage specimens in Iran // Diagn. Path. 2009. Vol. 4. P. 4–10.
- 44. Risberg B., Karlsson K., Abeler V. et al. Dissociated expression of Bcl-2 and Ki-67 in endometrial lesions: Diagnostic and histogenetic implications // Int. J. Gynecol. Pathol. 2002. Vol. 21 (2). P. 155–160.
- 45. Schurtenberger P., Egelhaaf S.U., Hindges R. et al. The solution structure of functionally active human proliferating cell nuclear antigen determined by small-angle neutron scattering // J. Mol. Biol. 1998. Vol. 275. P. 123–132.
- 46. Sherman M.E., Ronnett B.M., Joffe O.B. et al. Reproducibility of biopsy diagnoses pf endometrial hyperplasia: Evodemnce supporting a simplified classification // Int. J. Gynecol. Pathol. 2008. Vol. 27 (3). P. 318–325.
- 47. Sirri V., Roussel P., Hernandez-Verdun D. The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle // Micron. 2000. Vol. 31. P. 121–126.

- 48. Tanaka R., Tainaka M., Ota T. et al. Accurate determination of S-phase fraction in proliferative cells by dual fluorescence and peroxidase immunohistochemistry with 5-bromo-2'-deoxyuridine (BdrU) and Ki-67 antibodies // J. Histochem. Cytochem. 2011. Vol. 59 (8). P. 791–798.
- 49. Wei J.J., Paintal A., Keh P. Histologic and immunohistochemical analyses of endometrial carcinomas: Experiences from endometrial biopsies in 358 consultation cases // Arch. Pathol. Lab. Med. 2013. Vol. 137 (11). P. 1574–1583.
- 50. Xu F.M., Greenspan J.A., Davidson R.L. Replication-dependent mutagenesis by 5-bromodeoxyuridine: identification of base change and sequence effects on mutability // Somat. Cell. Mol. Genet. 1990. Vol. 16 (5). P. 477–486.

References

- 1. Avdalyan A.M., Bobrov I.P., Klimachev V.V., Lazarev A.F., *Arkhiv patologii*, 2011, no. 1, pp. 24–29.
- 2. Avdalyan A.M., Bobrov I.P., Klimachev V.V., Lazarev A.F., Kruglova N.M., *Fundamental'nye issledovaniya*, 2010, no. 5, pp. 12–20.
- 3. Anichkov N.M., Pechenikova V.A., Kostyuchek D.F., *Arkhiv patologii*, 2011, no. 4, pp. 5–10.
- 4. Bantysh B.B., Paukov V.S., Kogan E.A., *Arkhiv patologii*, 2012, no. 3, pp 22–25.
- 5. Davydov A.I. Voprosy gynekologii, akusherstva i perinatalogii, 2009, no. 3, pp. 93–96.
- 6. DumanovskayaM.R., ChernukhaG.E., BurmenskayaO.V. et al., *Ginekologiya*, 2013, no. 2, pp. 4–8.
- 7. Epifanova O.I., Terskikh V.V., Zakharov A.F. *Radioavto-grafiya*. Moscow, Vysshaya shkola, 1977. 248 p.
- 8. Zairat'yants O.V., Adamyan L.V., Andreyeva E.N. et al., *Arkhiv patologii*, 2010, no. 5. pp. 6–12.
- 9. Zairat'yants O.V., Adamyan L.V., Sonova M.M. et al., *Arkhiv patologii*, 2008, no. 5. pp. 16–19.
- 10. Kirik O.V., Beznin G.V., Korzhevskii D.E., Morfologiya, 2009, no. 6. pp. 95–100.
- 11. Kiselev V.I., Lyashenko L.A. *Molekultarnye mekhanizmy regulyatsii giperplasticheskikh protsessov.* Moscow, Dimitreid Grafik Grupp, 2005. 347 p.
- 12. Kogan E.A., Unanyan A.L., Demura T.A. et al., $Arkhiv\ patologii,\ 2008,\ no.\ 5.\ pp.\ 8–12.$
- 13. Kondrikov N.I., Mogirevskaya O.A., Materialy VI Rossiiskogo foruma «Mat i ditya», 2004, pp. 380–381.
- 14. Korshunov A.G., Shishkina L.V., Golanov A.V. Arkhiv patologii, 2001, no. 1, pp. 29–33.
- 15. Krasil'nikov R.G., Abdullaeyev R.Ya., Mezhdunarodnyi meditsinskii zhurnal, 2013, no. 1, pp. 113–117.
- 16. Kurbanova M.Kh., Khushvakhtova E.Kh., Tolibova L.Kh., Umarova Z.Z., Saifiddinova L.M., *Doklady akademii nauk Respubliki Tadzhikistan*, 2007, no. 2, pp. 473–478.
- 17. Metel'skaya M.A., Rogov Yu.I., Grigor'eyva E.E., Kobal P., Shorets O.P., Fundamental'nye nauki meditsine. Materialy mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii. Minsk, Belarusskaya nauka, 2013, pp. 40–42.
- 18. Nazarkina Zh.K., Lavrik O.I., Khodyreva S.N., *Molekulyarnaya biologiya*, 2008, Tom 42, no. 3, pp. 405-421.
- 19. Nepomnyashchikh L.M., Lushnikova E.L., Molodykh O.P., Pichigina A.K., *Bulleten eksperimental'noi biologii i meditsiny*, 2013, Tom 155, no. 4, pp. 511–516.
- 20. Pozharisskii K.M., Samsonova E.A., Ten V.P. et al., *Arkhiv patologii*, 2005, no. 2, pp. 13–17.
- 21. Sagindykova R.R., Askol'skaya S.I., Kogan E.A., Chuprynin V.D., *Akusherstvo i ginekologiya*, 2014, no. 7, pp. 22–28.
- 22. Sidorova I.S., Unanyan A.D., Vlasov R.S. et al., $\textit{Vrach}, 2011, \, \text{no.} \, 3, \, \text{pp.} \, 40\text{--}42.$
- 23. Sukhikh G.T., Chernukha G.E., Smetnik V.P. et al., Akusherstvo i ginekologiya, 2005, no. 5, pp. 25–29.

- 24. Chepik O.F. *Prakticheskaya onkologia*, 2004, Tom 5, no. 1, pp. 9–15.
- 25. Chernukha G.E., Sukhikh G.T., Smetnik V.P. et al., *Problemy reproduktsii*, 2004, no. 4, pp. 30–34.
- 26. Chemyshova A.L., Kolomiets N.V., Bochkareva N.V., Kritskaya N.G., Sibirskii onkologicheskii zhurnal, 2010, no. 1, pp. 79–84.
- 27. Shmarova D.A., Pogorelov V.M., Kozinets G.I., Klinicheskaya laboratornaya diagnostika, 2013, no. 1, pp. 36–39.
- 28. Bozdogan O., Atasoy P., Erekul S. et al. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2002, Vol. 21 (4), pp. 375–382.
- 29. Chan R.W., Kaitu'u-Lino T., Gargett C.E. *Reproduct. Sci.*, 2012, Vol. 19, pp. 102–114.
- 30. Cinel L., Polat A., Aydin O. et al. *Pathol. Int.*, 2002, Vol. 52, pp. 384–389.
 - 31. Cox L.S. Trends Cell Biol., 1997, Vol. 7, pp. 493-498.
- 32. Derenzini M., Trere D. *Zentralbl. Pathol.*, 1994, Vol. 140, pp. 7–10.
- 33. Doll A., Abal M., Rigau M. et al. *J. Steroid Biochem. & Mol. Biol.*, 2008, Vol. 108, pp. 221–229.
- 34. Goto H., Tomono Y., Ajiro K. et al. *J. Biol. Chem.*, 1999, Vol. 274 (36), pp. 25543–25549.
- 35. Hirata A., Inada K., Tsukamoto T. et al. *J. Histochem. Cytochem.*, 2004, Vol. 52, pp. 1503–1509.
- 36. Horree N., van Diest P. J., van der Groep P. et al. *J. Clin. Pathol.*, 2008, Vol. 61, pp. 36–42.
- 37. Ioachin E. *Eur. J. Gynaecolog. Oncol.*, 2005, Vol. 26 (4), pp. 363–371.
- 38. Khan M.S., Dodson A.R., Heatley M.K. $\it J. Clin. Pathol.$, 1999, Vol. 52, pp. 517–520.
- 39. Liu F.S. *Taiwanese J. Obstet. Gynecol.*, 2007, Vol. 46 (1), pp. 26–32.
- Mitselou A., Ioachin E., Vougiouklakis T. *In Vivo*, 2003,
 17 (5), pp. 469–477.
- 41. Mora L.B., Diaz J.I., Cantor A.B., Nicosia S.V. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 1999, Vol. 29 (4), pp. 308–315.
- 42. Muskhelishvili L., Latendresse J.R., Kodell R.L., Henderson T.B. J. Histochem. Cytochem., 2003, Vol. 51 (12), pp. 1681–1688.
- 43. Narges I.M., Yarmohammadi M., Ahmadi S.A. *Diagn. Path.*, 2009, Vol. 4, pp. 4–10.
- 44. Risberg B., Karlsson K., Abeler V. et al. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2002, Vol. 21 (2), pp. 155–160.
- 45. Schurtenberger P., Egelhaaf S.U., Hindges R. et al. *J. Mol. Biol.*, 1998, Vol. 275, pp. 123–132.
- 46. Sherman M.E., Ronnett B.M., Joffe O.B. et al. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2008, Vol. 27 (3), pp. 318–325.
- 47. Sirri V., Roussel P., Hernandez-Verdun D. *Micron*, 2000, Vol. 31, pp. 121–126.
- 48. Tanaka R., Tainaka M., Ota T. et al. *J. Histochem. Cytochem.*, 2011, Vol. 59 (8), pp. 791–798.
- 49. Wei J.J., Paintal A., Keh P. Arch. Pathol. *Lab. Med.*, 2013, Vol. 137 (11), pp. 1574–1583.
- 50. Xu F.M., Greenspan J.A., Davidson R.L. Somat. Cell. Mol. Genet., 1990, Vol. 16 (5), pp. 477–486.

Рецензенты:

Селятицкая В.Г., д.б.н., профессор, зав. лабораторией эндокринологии, ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск;

Гуляева Л.Ф., д.б.н., профессор, зав. лабораторией молекулярных механизмов канцерогенеза, ФГБУ «НИИ молекулярной биологии и биофизики» Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 10.09.2014.