

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

СОБИВЧАК

Мария Сергеевна

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ
ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ**

Научная специальность: 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Доктор медицинских наук

Протасова Анна Эдуардовна

Доктор медицинских наук

Раскин Григорий Александрович

Санкт-Петербург – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МАЛИГНИЗАЦИИ ЭНДОМЕТРИАЛЬНОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	13
1.1 Эпидемиология гиперплазии эндометрия и эндометриального рака.....	13
1.2 Становление понятий и классификационных подходов эндометриальной гиперплазии.....	15
1.3 Взаимосвязь гиперплазии эндометрия и эндометриального рака. Гипотезы эндометриальной малигнизации.....	22
1.4 Эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия как морфологическая форма предрака.....	29
1.5 Иммуногистохимические характеристики гиперплазии и рака эндометрия. Молекулярные предикторы эндометриальной малигнизации.....	33
Глава 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	49
2.1 Характеристика проведенного исследования.....	49
2.2 Метод морфологического исследования.....	51
2.3 Метод иммуногистохимического исследования.....	54
2.4 Статистические методы исследования.....	60
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	61
3.1 Структура заболеваний эндометрия в исследуемой группе 818 женщин.....	61
3.2 Клинико-морфологические особенности доброкачественной эндометриальной гиперплазии, эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии и эндометриоидного рака эндометрия.....	63

3.3 Иммуногистохимические особенности доброкачественной эндометриальной гиперплазии, эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии и эндометриоидного рака эндометрия.....	79
Глава 4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	102
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	110
ВЫВОДЫ.....	111
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	113
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	116

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Актуальность изучения проблемы гиперпластических процессов эндометрия обусловлена высоким уровнем заболеваемости, а также отсутствием точных представлений о механизмах перехода предракового процесса в рак. В структуре гинекологических заболеваний гиперплазия эндометрия занимает второе место после инфекционных заболеваний (от 15 до 50% по данным разных авторов) [4, 15, 93, 150]. Однако, в связи с появлением новых диагностических критериев и внедрением новой классификационной системы эндометриальной гиперплазии, на сегодняшний день отсутствуют эпидемиологические данные распространенности ГПЭ согласно критериям ВОЗ.

Эндометриальная гиперплазия, особенно ее атипическая форма, имеет высокие риски трансформации в эндометриальный рак, который в настоящее время занимает второе место среди злокачественных новообразований у женщин после рака молочной железы. Ежегодно в мире эндометриоидным раком заболевают до 417 000 женщин, 104 051 – в странах Европейского Союза, 54 721 – в Соединенных Штатах Америки и 22 755 – в России [43]. Отмечается неуклонный рост заболеваемости эндометриоидным раком, как в Европе, так и в России, и в Санкт-Петербурге. С 2009 по 2020 гг. в России отмечен значительный, в сравнении с другими локализациями, прирост заболеваемости эндометриоидным раком. Его показатель составил 39%. Кумулятивный риск развития злокачественного новообразования эндометрия также увеличился на 0,45 за 10 лет и сейчас составляет 2,35 [10].

Сегодня не существует объективных предикторов динамики развития гиперплазии эндометрия в направлении спонтанной регрессии (20-50%) или,

наоборот, прогрессирования в аденокарциному, риск которой в случае атипичной гиперплазии эндометрия может достигать 40-50% [21].

В настоящее время определение понятия гиперплазии эндометрия не изменилось, ее рассматривают как пролиферацию преимущественно железистой ткани, в результате чего повышается соотношение железа/стромы по сравнению с нормальным эндометрием [93].

Однако в результате многочисленных научных изысканий и углубленного изучения молекулярных процессов меняются подходы к патогенезу и классификации гиперпластических процессов эндометрия.

В некоторых исследованиях последних лет было показано, что если простая и сложная гиперплазия эндометрия без атипии являются результатом абсолютной или относительной гиперэстрогении, то атипичная гиперплазия эндометрия представляет собой прогрессирующее моноклональное мутационное повреждение в эпителиальных клетках с независимым от системного гормонального влияния локальным ростом [131].

В связи с предполагаемым различием патогенеза гиперплазии без атипии и атипичной гиперплазии эндометрия Endometrial Collaborative Group в 2000 г. предложила термин «эндометриальная интраэпителиальная неоплазия».

Ключевым гистологическим признаком эндометриальной интраэпителиальной неоплазии является уменьшение содержания стромы на единицу объема ткани по сравнению с эпителиальным (железистым) компонентом, превышающим 55% от общего ее объема, и признаками клеточной атипии, что позволяет характеризовать такие изменения как предраковое состояние эндометрия.

С 2014 года ВОЗ приняла новую бинарную классификация ГПЭ, утвердив для использования новый термин эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия (ЭИН) и новые критерии ее диагностики, при этом подчеркнув, что критерии диагноза остаются субъективными. Пересмотр рубрикатора ВОЗ 2020 года подтвердил и рекомендовал использовать бинарную классификацию

ГПЭ. Обязательными являются только морфологические критерии диагноза, а иммуногистохимические (ИГХ) маркеры являются желательными.

Однако проведенные исследования показывают, что только гистологическая оценка препарата атипической ГЭ носит субъективный характер и сходные результаты у разных гистологов выявляются меньше, чем в 50% случаев [119]. Что говорит о необходимости более точной диагностики. В этом аспекте изучается роль ИГХ маркеров, которые показывают клеточные изменения на молекулярном уровне, и могут играть как диагностическую, так и прогностическую роль в оценке эндометриальной малигнизации.

Наиболее распространенные генетические изменения при аденокарциноме эндометрия включают так называемую микросателлитную нестабильность, которая, в свою очередь, может приводить к множественным генным мутациям (MLH1, MLH2 и MSH6), а также вызывать мутацию гена супрессора опухолей PTEN (phosphatase/tensin homolog) [26, 124]. Другими генетическими изменениями характерными для эндометриального рака являются потеря экспрессии PAX2 и ARID1a [124, 126, 137, 193]. Выявление таких иммуногистохимических изменений в эндометрии может служить маркером наследственной формы аденокарциномы эндометрия и предиктором малигнизации эндометриальной гиперплазии. Однако, накопленных данных еще недостаточно, чтобы внедрить эти показатели в рутинную практику врача.

Дифференциальная диагностика между доброкачественной гиперплазией и истинной неоплазией эндометрия имеет важное клиническое значение вследствие различия степени риска малигнизации. Правильный диагноз поможет назначить адекватную терапию и избежать недостаточно эффективного или чрезмерно радикального лечения, особенно у женщин репродуктивного возраста. ИГХ исследование в этом отношении является перспективным, однако, нет четких показаний для его назначения при эндометриальной гиперплазии.

Учитывая уже известные различия в молекулярных характеристиках рака эндометрия, согласно молекулярной классификации РЭ, можно предположить,

что имеется подобная закономерность и в гиперпластических процессах эндометрия, и при ее выявлении, возможно, будет установить новые диагностические критерии, которые помогут спрогнозировать риск малигнизации гиперплазии эндометрия и диагностировать конкретный тип возможной опухоли. Что станет ключевым моментом в подходе к лечению и дальнейшей тактике ведения пациенток с данной патологией.

Цель исследования

Выявление клиничко-морфологических и молекулярных предикторов злокачественной трансформации эндометриальной гиперплазии.

Задачи исследования

1. Выявить распространенность гиперпластических процессов эндометрия в исследуемой группе согласно бинарной классификации.
2. Оценить факторы риска малигнизации гиперплазии эндометрия на основании анамнестических и клинических данных.
3. Оценить морфологические и молекулярные особенности доброкачественной, атипической эндометриальной гиперплазии и эндометриоидной аденокарциномы эндометрия.
4. Определить прогностические критерии злокачественной трансформации гиперплазии эндометрия на основании оценки клинических, морфологических, и иммуногистохимических показателей.
5. Уточнить показания для использования ИГХ маркеров у пациенток с подозрением на гиперпластические и неопластические заболевания эндометрия.

Научная новизна исследования

Впервые проводилась оценка распространенность ГПЭ в РФ согласно бинарной классификации ВОЗ в исследуемой группе 818 женщин. Впервые

уточняется диагностическая и прогностическая значимость выбранной ИГХ панели для оценки малигнизации ГЭ, и устанавливаются четкие показания для использования ИГХ маркеров у пациенток с подозрением на ГПЭ.

Теоретическая значимость работы

Полученные данные позволили установить последовательность молекулярных событий в процессе эндометриального канцерогенеза.

Практическая значимость работы

Данное исследование выявляет клинические и молекулярные предикторы злокачественной трансформации гиперплазии эндометрия, уточняет показания для использования ИГХ маркеров у пациенток с ГПЭ.

Методология и методы исследования

Первая часть исследования носит ретроспективный характер и включает анализ гистологических заключений 818 женщин с подозрением на ГПЭ по данным клинической картины и/или ультразвуковым признакам, которым была выполнена гистероскопия с морфологической верификацией диагноза. Цель данной части работы – выявление структуры патологии эндометрия и распространенности эндометриальной гиперплазии согласно бинарной классификации ВОЗ.

Вторая часть исследования носит сравнительный характер и включает 107 женщин, которые разделены на три группы согласно диагнозу. Диагноз устанавливался на основании морфологических критериев ВОЗ 2014 года после пересмотра препаратов в специализированной онкопатоморфологической лаборатории.

Критерии включения:

1. Гистологически подтвержденный диагноз эндометриальная гиперплазия без атипии.

2. Гистологически подтвержденный диагноз эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия.
3. Гистологически подтвержденный диагноз эндометриоидная аденокарцинома эндометрия.

Критерии исключения:

1. Неэндометриоидный тип рака эндометрия.
2. Наследственные формы эндометриоидного рака (синдром Линча).
3. Прием Тамоксифена.

Клинические методы обследования включали клинико-анамнестический метод. Были проанализированы данные историй болезни с оценкой факторов риска гиперпластических и неопластических заболеваний эндометрия

Оценивались:

1. Возраст, этап старения репродуктивной системы (STRAW+10).
2. Коморбидный фон (наличие ожирения, избыточной массы тела, гипертонической болезни, сахарного диабета, заболеваний щитовидной железы).
3. Акушерско-гинекологический анамнез (возраст начала менструации и их характер, перенесенные пациентками гинекологические заболевания, особенно эндометриальную гиперплазию, бесплодие, количество беременностей с их исходами, возраст наступление менопаузы).
4. Анамнез заболевания (клиническая картина, результаты предыдущих гистологических заключений, оценивающих эндометрий, при их наличии).

Морфологический метод: проведен морфологический пересмотр препаратов в специализированной онкопатоморфологической лаборатории, выполнено ИГХ исследование с оценкой экспрессии BAF250a (ARID1A), PTEN, β-катенина, PAX2, PDL1, с определением MSI/MMR статуса (MSH6, PMS2, MLH1, MLH6), индекса пролиферации (Ki-67) и рецепторного профиля (экспрессия рецепторов стероидных гормонов – Er и Pr).

Далее выполнена статистическая обработка полученных результатов с использованием IBM SPSS Statistics 24.

Для определения прогностической роли ИГХ маркеров, возможной малигнизации эндометриальной гиперплазии и оценке 3х летней выживаемости был проведен мониторинг состояния пациенток через 3-5 лет от момента постановки диагноза путем телефонного опроса и отслеживания медицинской документации.

Положения, выносимые на защиту

1. Распространенность гиперпластических процессов эндометрия согласно бинарной классификации Всемирной организации здравоохранения в группе 818 женщин с подозрением на эндометриальную гиперплазию по клиническим и ультразвуковым данным составила: в 30% – доброкачественная эндометриальная гиперплазия и 4% – ЭИН.
2. Клиническими факторами эндометриальной малигнизации могут служить возраст, период репродуктивного старения и сопутствующие соматические заболевания такие, как гипертоническая болезнь и сахарный диабет 2 типа.
3. Потеря экспрессии PAX2, PTEN могут рассматриваться как начальные признаки злокачественной трансформации гиперплазии эндометрия.
4. Прогностическая роль иммуногистохимических маркеров в оценке рисков малигнизации эндометриальной гиперплазии пока не ясна и требует дальнейшего изучения.
5. Комплексная оценка клинико-морфологических данных и экспрессии панели маркеров PAX2, PTEN, *ARID1A*, β -катенина, индекса Ki-67, PMS2 и MLH1 позволит улучшить диагностический поиск при подозрении на малигнизацию гиперплазии эндометрия.

Практические рекомендации

1. В случаях необходимости дополнительной дифференциальной диагностики доброкачественной эндометриальной гиперплазии и эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии рекомендовано иммуногистохимическое определение PAX2 и PTEN.
2. У пациенток старше 55 лет и/или в периоде постменопаузы при морфологически подтвержденном диагнозе эндометриальная гиперплазия ввиду высокой вероятности у них наличия эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии следует определять PAX2 и PTEN.
3. У пациенток со значимыми факторами риска развития эндометриального рака (возраст старше 55 лет, период постменопаузы, наличие гипертонической болезни, наличие сахарного диабета 2 типа) с морфологически верифицированным диагнозом эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия определение MMR/MSI, ARID1a позволит исключить или выявить сосуществующий рак эндометрия.

Степень достоверности и апробации результатов

Сбор клинических данных проводился на основании медицинской документации. Пересмотр гистологического материала для постановки окончательного диагноза был выполнен экспертом в области онкопатоморфологии. Для ИГХ исследования были использованы стандартизированные антитела, контроль результатов также проводился согласно протоколам к каждому из антител. Создание и оформление базы данных и статистическая обработка результатов исследования выполнялись с использованием пакетов программ Microsoft Office и IBM SPSS Statistics 24. Для проверки статистических гипотез был выбран p критерий меньше 0,05 ($p < 0,05$), только при этом значении p разница между выборками считалась статистически достоверной. Все результаты и выводы представленной диссертации основаны только на статистически достоверных данных.

Материалы диссертационной работы доложены и опубликованы в сборнике тезисов на XXIV Международной медико-биологической научной конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2021); VII Петербургском онкологическом форуме «Белые Ночи» (Санкт-Петербург, 2021); XXV Международная медико-биологическая научная конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2022); VIII Петербургском онкологическом форуме «Белые Ночи» (Санкт-Петербург, 2022).

По теме диссертационного исследования опубликовано 9 печатных работ в том числе в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации и в двух журналах, входящим в реферативную базу Scopus.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа представлена на 137 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 24 отечественных и 176 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 34 рисунками.

Глава 1

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МАЛИГНИЗАЦИИ ЭНДОМЕТРИАЛЬНОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Эпидемиология гиперплазии эндометрия и эндометриального рака

Эпидемиологическая ситуация в отношении гиперпластических процессов эндометрия на сегодняшний день остается не достаточно изучена. Это связано, во-первых, с отсутствием обязательного регистра данной патологии. Во-вторых, в связи с введением новой классификации ГПЭ и появлением новой нозологической единицы – эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия (ЭИН). В настоящее время отсутствуют эпидемиологические исследования, которые уточняют распространенность ЭИН и доброкачественной эндометриальной гиперплазии в Российской популяции и мире в целом.

По существующим данным в развитых странах насчитывается порядка 200 000 новых случаев ГПЭ ежегодно [48].

Большинство авторов в своих работах приводят результаты наиболее крупного популяционного исследования 2009 года. Оно включило более 63 000 гистологических образцов эндометрия и выявило заболеваемость простой ГЭ 58 на 100 000 женщин в год, сложной ГЭ – 63 на 100 000 и АГЭ – 17 на 100 000 [108].

Работы отечественных авторов, таких как Б.И. Железнов, Е.А. Смирнова, которые описывают частоту встречаемость АГЭ, датируются 1970 гг. По результатам этих ученых АГЭ наблюдается от 1,7% до 5,8% случаев всех исследуемых образцов эндометрия [7, 18].

На сегодняшний день имеется дефицит современных статистических данных о распространенности ГПЭ в российской популяции.

Отдельного внимания заслуживает частота встречаемости АГЭ и минимального рака эндометрия у женщин репродуктивного возраста. Именно для этой категории женщин важно установить правильный диагноз, оценить риски малигнизации и возможности проведения консервативной терапии с целью сохранения репродуктивной функции.

Исходя из нескольких исследований, можно говорить о том, что АГЭ и начальный РЭ встречается у женщин моложе 40 лет в 5-25% случаев [63, 64, 88].

По данным Национального ракового института рак эндометрия диагностируется примерно в 7% у женщин репродуктивного возраста [42].

В последнее время наблюдается тенденция к увеличению случаев заболеваемости АГЭ и начальным РЭ у женщин репродуктивного возраста. В США проанализированные случаи страховых обращений по этим диагнозам за 10 лет и выявлено 4 007 пациенток до 45 лет с установленным предраком и раком эндометрия, то есть в среднем это 400 женщин в год, которым можно при правильно установленном диагнозе сохранить при необходимости детородную функцию [141].

По данным Я.В. Бохмана в 50% случаях атипическая гиперплазия переходит в инвазивный рак эндометрия [3].

Рак тела матки (carcinoma of the uterine corpus, РТМ) самая частая злокачественная опухоль женских половых органов в развитых странах после рака молочной железы и 2-ая по частоте после рака шейки матки в мире. РТМ является морфологически гетерогенным злокачественным новообразованием. В данном диссертационном исследовании рассматривается только эндометриоидный тип рака эндометрия, так как ЭИН является предраком этого морфологического типа. Эндометриоидная аденокарцинома определяется в 80% случаев злокачественных заболеваний тела матки [17].

Ежегодно в мире эндометриоидным раком заболевают до 417 000 женщин, 104 051 – в странах Европейского Союза, 54721 – в Соединенных Штатах Америки и 22 755 – в России [43]. Отмечается неуклонный рост заболеваемости

эндометриоидным раком, как в Европе, так и в России, и в Санкт-Петербурге. С 2009 по 2019 гг. в России отмечен значительный, в сравнении с другими локализациями, прирост заболеваемости эндометриоидным раком. Его показатель составил 39%. Кумулятивный риск развития злокачественного новообразования эндометрия также увеличился на 0,45 за 10 лет и сейчас составляет 2,35 [10].

Средний возраст больных эндометриоидным раком в странах Европы и в России 63 года. Более 80% случаев встречается у женщин в возрасте старше 50 лет. Однако еще раз подчеркнем, что РЭ также встречается у женщин репродуктивного возраста. За 2019 год в России рак эндометрия выявлялся в 15% случаев у женщин до 45 лет [10].

1.2 Становление понятий и классификационных подходов эндометриальной гиперплазии

Хотя единого определения ГЭ нет, суть понятия наиболее часто сводится к изменению соотношения строма/железа в ткани эндометрия в сторону увеличения железистого компонента [21, 134].

По мнению других авторов, понятие ГЭ должно учитывать не только количественные изменения баланса железистого и стромального компонентов эндометрия, но и качественную перестройку эндометриальных желез, а именно появление признаков клеточной атипии разной степени выраженности вплоть до развития РЭ [14, 21, 23, 110].

Диагноз «гиперплазия эндометрия» устанавливается на основании цитологического или гистологического методов исследования эндометрия с использованием диагностических морфологических критериев, которые неоднократно претерпевали изменения. В основу диагностических критериев положена оценка баланса железистого и стромального компонентов

эндометрия, а также отсутствие или наличие атипических эпителиальных клеток.

Впервые эту патологию описал канадский ученый Thomas Cullen в своей монографии «Cancer of the uterus». Cullen обнаружил клетки атипичного эндометрия в зонах, прилегающих к фокусам эндометриальной аденокарциномы [56].

Только через полвека Gusberg описал аденоматозную гиперплазию и определил ее как предраковое заболевание эндометрия [92]. Далее были предложены термины атипичная гиперплазия и карцинома *in situ* для описания предракового процесса [45].

Уже тогда возникло понимание того, что ГЭ – это гетерогенная патология, которая имеет формы с разным потенциалом злокачественности, что требовало введение новых терминов и классификации.

В 1961 году появилась 1 классификация гиперпластических процессов эндометрия, которая включала в себя 4 категории: доброкачественная гиперплазия, атипичная гиперплазия типа I, атипичная гиперплазия типа II, атипичная гиперплазия типа III.

Впоследствии данная классификация и терминология неоднократно изменялась и пересматривалась (таблица 1). До 1985 года такие термины, как «легкая, умеренная и тяжелая гиперплазия», часто использовались в США, тогда как обозначения «кистозная» и «аденоматозная гиперплазия» были присущи европейским врачам. Отсутствие единого подхода вызывало путаницу и разногласия в терминологии между экспертами даже в одной стране [34].

В современной литературе для подразделения ГЭ используются две основные системы классификации, в основе которых заложена попытка стратификации риска малигнизации ГЭ.

Таблица 1 – Пересмотры классификационной системы гиперпластических процессов эндометрия [187]

Год	Терминология			
1961	Доброкачественная гиперплазия	Атипичная гиперплазия типа I	Атипичная гиперплазия типа II	Атипичная гиперплазия типа III
1963	Аденоматозная гиперплазия легкой степени	Аденоматозная гиперплазия средней степени	—	Аденоматозная гиперплазия тяжелой степени
1966	Кистозная гиперплазия	Аденоматозная гиперплазия	Анаплазия	Карцинома in situ
1972	Кистозная гиперплазия	Аденоматозная гиперплазия	Атипичная гиперплазия	Карцинома in situ
1978	Кистозная гиперплазия	Аденоматозная гиперплазия	—	Атипичная гиперплазия
1979	Гиперплазия без атипии	Гиперплазия с атипией легкой степени	Гиперплазия с атипией средней степени	Гиперплазия с атипией тяжелой степени
1985	Простая, неатипичная	Сложная, Неатипичная	Простая, атипичная	Сложная, атипичная
1994 ВОЗ	Простая гиперплазия без атипии	Сложная гиперплазия без атипии	Простая гиперплазия с атипией	Сложная гиперплазия с атипией (аденоматозная)
Примечание – перевод таблицы из статьи V. Chandra et al. [187].				

В 1994 году ВОЗ рекомендовала систему классификации на основе гистологических особенностях поражений при ГЭ. Система построена на железистой/стромальной архитектурной структуре эндометрия и наличии или отсутствии цитологической атипии и делится на 4 категории:

1. Гиперплазия эндометрия без атипии:

- простая гиперплазия эндометрия: изменение формы и величины эндометриальных желез, нарушение их распределения, в строме возможна

лимфоидно-лейкоцитарная инфильтрация и признаки расстройства кровообращения;

- комплексная или сложная гиперплазия эндометрия: усиление пролиферативных процессов в железистом компоненте эндометрия, характеризующихся в основном увеличением количества желез, изменением их формы и уменьшением стромального компонента.

2. Атипическая гиперплазия:

- простая атипическая гиперплазия: ветвление желез, формирование папиллоподобных выростов в направлении просвета желез эндометрия, покрытых многоядерным цилиндрическим железистым эпителием, уплотнение стромы, явления стаза и формирование фибриновых тромбов в кровеносных сосудах;
- комплексная или сложная гиперплазия (аденоматозная): дезорганизация и скученность маточных желез, цитотипические изменения тинкториальных свойств цитоплазмы клеток, тенденция к нарушению дифференцировки эпителиальных клеток, строма представлена узкими прослойками соединительной ткани [98].

Однако со временем появилось понимание, что данная классификация не совершенна и не решает клинические задачи по тактике ведения пациенток и снижения заболеваемости РЭ.

Для улучшения качества прогнозирования рисков малигнизации ГЭ в 2000 г. группа патологов International Endometrial Collaborative Group (ECG), основываясь на оценке не только морфологических, но и цитогенетических показателей, предложили термин «эндометриальная интраэпителиальная неоплазия» (EIN) [140].

ЭИН система это синтез новых данных, полученных с 1980 г. обобщенных в классификационную систему, которая соответствует новой концепции о патогенезе ГЭ.

Первоначально задачей системы ЭИН была объективизация постановки морфологического диагноза. Для этого Ваак et al. разработали

компьютеризированную морфометрическую оценочную шкалу D-score. Параметры для оценки складываются из процентного объема стромы, выраженности ядерного полиморфизма и состояния поверхностных желез. Изменения эндометрия классифицируются как доброкачественные при D значении меньше или равно 1, ЭИН устанавливается при D больше 1 [183]. Однако, из-за дороговизны этой методики, она не смогла войти в рутинную практику.

Существует ряд морфологических (цитологических и гистологических) критериев для постановки диагноза ЭИН: изменение соотношения железистая ткань/строма в сторону увеличения железистого компонента (строма меньше чем 55%), зона предраковых изменений не меньше 1 мм, цитологические различия между измененными железами и окружающими нормальными, которые включают увеличение и округление ядра; грубоячеистый неравномерно распределенный хроматин; незаметные ядрышки, видимые только при большом увеличении; потеря полярности [183].

С учетом новой концепции бинарной системы ЭИН в 2014 году ВОЗ обновила классификацию гиперплазии эндометрия, подтвердив ее пересмотром 2020 года [124, 196].

Она представлена двумя категориями:

1. Эндометриальная гиперплазия без атипии (синоним: доброкачественная эндометриальная гиперплазия).

Обязательными диагностическими критериями являются: увеличение эндометриального соотношения железы/строма, тубулярность, ветвление и/или кистознорасширенные железы, напоминающие пролиферативный эндометрий, равномерное распределение измененных ядер в исследуемой ткани.

2. Эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия (синоним: эндометриальная атипическая гиперплазия эндометрия).

Обязательными диагностическими критериями являются: морфологические изменения клеток эндометрия со скученностью

эндометриальных желез и поврежденной цитологической картиной эпителия, отличной от окружающих желез.

Термины простая и комплексная (сложная) гиперплазия упразднены, вместо эндометриальной интраэпителиальной неоплазии рекомендован термин эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия, чтобы показать связь диагноза с эндометриоидным, а не с серозным типом опухоли эндометрия [71].

Последняя классификация ВОЗ одобрена и рекомендована к применению ведущими экспертными организациями мира: Королевской коллегией акушеров и гинекологов (RCOG) в 2016 году и Международной ассоциацией акушеров и гинекологов FIGO в 2018 году [130, 186].

Сравнение классификационных систем гиперпластических процессов эндометрия

По данным литературы имеются сообщения о нескольких классификационных системах гиперпластических процессов эндометрия, которые используются в практике и в науке в настоящее время: это система ВОЗ 1994 г., которая делит ГПЭ на 4 категории, учитывая архитектонику желез; ее пересмотр 2014 года (и новая версия 2020 года), который включает две категории, учитывающие наличие или отсутствие клеточной атипии и бинарная ЭИН (эндометриальная интраэпителиальная неоплазия) система, которая может быть основана на объективных (компьютерная морфометрия и D оценочная шкала) и субъективных критериях.

Хотя пересмотр классификации ВОЗ 2014 года концептуально принял бинарную систему ГПЭ, она не содержит тех критериев предраковых изменений, которые первоначально приняты для понятия ЭИН [143].

По факту произошло объединение четырех категорий в две: простая и сложная ГЭ без атипии объединены в одну группу – АГ без атипии, а простая и сложная ГЭ с атипией объединены в группу ЭИН [196].

Ниже приведены данные метаанализов, призванные сравнить классификации по нескольким параметрам: их конгруэнтность, достоверность

для определения риска малигнизации. Однако существует вероятность предвзятости и необъективности выявленных суждений, так как в каждом исследовании использовались разные морфологические критерии оценки ГПЭ, носящие субъективный характер. Что еще раз подчеркивает проблему отсутствия единой классификации.

По результатам метаанализа 2019 г, включившего 8 исследований [11, 39, 49, 123, 154, 156, 166, 189] с 1352 образцами гиперпластически измененного эндометрия, были установлены следующие закономерности: в 1\4 случаев при анализе простой и сложной ГЭ без атипии обнаруживались признаки предраковых изменений характерных для ЭИН. В категории простая ГЭ без атипии только в 6% выявлялись признаки ЭИН, что говорит о высокой конгруэнтности этих понятий, однако, в случаях сложной ГЭ без атипии, в 50% случаев выявлялась атипия, то есть половина случаев является предраком. С другой стороны, почти пятая часть категории АГ 1994 года (простая и сложная) была доброкачественной по критериям ЭИН: сложная ГЭ с атипией соответствовала критериям ЭИН в 90% случаев, в то время как простая ГЭ с атипией – только в 15% случаев. Из этого следует, что классификация ВОЗ 1994 г. не может быть напрямую переведена в бинарную ЭИН систему из-за недостаточной конгруэнтности между категориями. Данное исследование выявляет более значимую роль сложности клеточной архитектоники, а не клеточной атипии для соответствия с критериями ЭИН [54].

Что касается прогностической ценности критериев малигнизации, то несколько исследований показали, что объективная система ЭИН с компьютеризированным расчетом морфометрических данных имеет более высокую прогностическую ценность по сравнению с системой ВОЗ [51, 160, 183].

Систематический обзор 2018 года выявил так же, что субъективные критерии ЭИН не превосходят по своей точности критерии классификации ВОЗ 1994 года [66].

18 исследований [39, 49, 50, 52, 53, 60, 68, 129, 154, 155, 157, 159, 163, 166, 184, 187, 192, 195], посвященные сравнению критерий классификаций ВОЗ 1994 года и ЭИН системы по наличию сосуществующей аденокарциномы эндометрия при ГЭ, были включены в метаанализ Travaglini et al. 2018 года. Относительный риск для сопутствующего рака эндометрия был схож при применении обеих классификаций (11,15 и 11,85; $p=0,90$), имелись различия в их чувствительности и специфичности, а значит, потенциально одна классификация может дополнять другую [67].

Исходя из вышеперечисленных данных, на сегодняшний день не существует высокоточных критериев ГПЭ, которые подошли бы к применению в клинической практике и надежно стратифицировали риски эндометриальной малигнизации. Следовательно, проблема до сих пор актуальна для дальнейшего изучения.

1.3 Взаимосвязь гиперплазии эндометрия и эндометриального рака.

Гипотезы эндометриальной малигнизации

В данном разделе освещаются вопросы взаимосвязи гиперплазии и рака эндометрия: общие факторы риска, патогенез, механизмы злокачественной трансформации.

Факторы риска гиперплазии эндометрия и РЭ в основном схожи и основываются на наличии гиперэстрогемии. Отличием в факторах риска развития этих патологий является возраст: выше 35 лет для ГЭ, и 50-55 для РЭ, что связана со средним возрастом развития заболевания [6, 142]. В литературе не обозначено, есть ли различия в факторах риска доброкачественных и предраковых изменений эндометрия.

Последние международные рекомендации приводят данные о том, что одним из пусковых механизмов развития как гиперплазии эндометрия, так

и эндометриоидной аденокарциномы, является избыточное действие эстрогена, который не встречая противодействия со стороны прогестерона, стимулирует рост эндометриальных клеток, связываясь с рецепторами эстрогенов в их ядрах [6, 21, 74, 124, 130, 142]. С учетом этого выделены основные факторы риска.

В репродуктивном периоде состояние гиперэстрогемии могут вызывать: синдром поликистозных яичников, когда увеличенная концентрация периферический андрогенов конвертируется в избыток эстрогенов; хроническая ановуляция или бесплодие, когда имеется относительный избыток эстрогенов без должного содержания прогестерона, что приводит к неконтролируемой клеточной пролиферации. В пери- и постменопаузальном возрасте имеет влияние экзогенный эстроген в составе гормональной менопаузальной гормонотерапии, или терапии тамоксифеном, который является антагонистом эстрогеновых рецепторов в молочной железе, но агонистом в эндометрии [170]. В любом возрасте повышенное содержание эстрогена может быть вызвано ожирением (адипоциты содержат фермент ароматазу, который переводит андрогены в эстрогены, повышая их уровень в крови) [147]. Интересен факт того, что уже избыточная масса тела (ИМТ больше $25 \text{ кг}\backslash\text{м}^2$), а не только ожирение (ИМТ больше $30 \text{ кг}\backslash\text{м}^2$) приводит к повышенному риску развития патологии эндометрия. Так, по результатам случай контроль исследования, опубликованным в Lancet, при избыточной массе тела риск развития РЭ увеличивается в 200-400 раз [37].

Ожирение часто сопровождается другими элементами метаболического синдрома (сахарный диабет 2 типа, гипертоническая болезнь), которые также являются факторами риска развития гиперпластических и неопластических заболеваний эндометрия [74].

Также встречается патология яичников, приводящая к гиперэстрогемии: стромальная гиперплазия и гипертекоз яичников и связанных с этими состояниями гиперандрогенизм, а также гормонопродуцирующие опухоли яичника [170].

Помимо, эстрогенной стимуляции такие факторы как иммуносупрессия и инфекции могут играть свою роль в развитии ГПЭ. Ретроспективный анализ 45 пациенток с пересаженной почкой с АМК показал двукратное увеличение частоты развития ГЭ по сравнению с пациентками без трансплантата (69% против 33%) [130].

В таблице 2 указаны количественные риски развития РЭ, учитывая различные факторы риска.

Таблица 2 – Относительные риски развития рака эндометрия (ESMO; ESGO; ESTRO, 2016)

Фактор риска	Относительный риск
Метаболический синдром	1,89
Ожирение	2,21
Гипертония	1,81
Триглицеридемия	1,17
Сахарный диабет 2 типа	2,1
Отсутствие родов в анамнезе и бесплодие, поликистозные яичники	2,8
Эстрогенная заместительная гормонотерапия более 5 лет	10-30
Эстрогенпродуцирующие опухоли яичников	У 20% болеющих РЭ
Раннее менархе и поздняя менопауза	2,0
Менархе меньше 12 лет	2,4
Менопауза старше 55	1,8
Прием тамоксифена:	
В перименопаузе	Нет повышенного риска
В постменопаузе	4,0

Хотя факторы риска развития неопластических процессов эндометрия изучены достаточно хорошо, остается много вопросов о целесообразности популяционного скрининга эндометриального рака. Согласно анализу современных исследований по эффективности скрининга РЭ, можно заключить,

что на сегодняшний день не существует методик для скрининга эндометриального рака в популяции [24]. Этот факт еще раз подчеркивает необходимость изучения возможных предикторов эндометриальной малигнизации.

Помимо вышеперечисленных факторов риска, имеется особая группа пациенток с генетическим риском развития РЭ на 40-60% выше по сравнению с популяцией – это пациенты с Синдром Линча (Неполипозный колоректальный рак). Для них разработан селективный скрининг – биопсия эндометрия, начиная с 35 лет, при этом эффективного скрининга для РЭ в популяции не существует [95].

Важно подчеркнуть, что ГЭ без атипии не отмечена в качестве фактора риска развития предрака и РЭ.

Несмотря на то, что общепринятым и доказанным фактом является роль воздействия эстрогенов в патогенезе развития гиперплазии эндометрия, появляются новые данные о патогенезе развития предрака и рака эндометрия, основанные на исследовании клеточного генома. Ключевым звеном в новой концепции является накопление мутационных повреждений [177]. Можно ли утверждать сегодня, что процесс злокачественной трансформации происходит последовательно от нарушенной пролиферации эндометрия до ГЭ-АГЭ и РЭ под действием гормональной стимуляции [188], или существует два независимых друг от друга пути эндометрия: «путь гиперплазии или путь неоплазии» [5], и последний путь, возможно, не связан с эстрогенным влиянием.

Сейчас меняются и уточняются представления о патогенезе гиперпластических процессов эндометрия. Если гиперплазия эндометрия без атипии связана с гормональным влиянием на эндометрий в частности с гиперэстрогенией [131], то развитие атипической гиперплазии эндометрия связано с накоплением геномных мутаций, а роль эстрогенного воздействия уточняется [21].

ГЭ без атипии не имеет сходных генетических мутаций с аденокарциномой эндометрия [31].

В то время как гены, которые повреждаются в ЭИН и при РЭ одинаковы и включают: инактивацию (мутацию или делецию) гена PTEN в 44-63% случаев [29, 136], инактивацию PAX2 гена в 71% [113], мутацию KRAS – 16% [115], и микросателлитную нестабильность в 20-25% [175]. Роль генетических маркеров описана в соответствующем разделе.

В литературе существует несколько исследований, которые пытаются доказать различия в патогенезе ГЭ без атипии и атипической ГЭ, указывая на то, что изначально ГЭ без атипии является диффузным процессом с выраженными признаками пролиферации в железах и строме, тогда как АГЭ возникает как микрофокусы. Результаты исследования Биштави с соавтр. показали, что АГЭ может возникать на фоне различных состояний эндометрия, отражающих как явные признаки эстрогенной стимуляции (ГЭ, пролиферативный эндометрий), так и явные признаки гипоэстрогении (атрофичный эндометрий, часто с признаками деструктивных изменений, полипоз, как правило, на фоне атрофичного эндометрия) [11]. Этот факт позволяет усомниться в исключительной роли эстрогенов в развитии предракового и онкологического процесса.

Большинство факторов риска развития рака эндометрия, как было указано выше, могут быть объяснены гипотезой избыточного воздействия эстрогенов на эндометрий. Согласно этой гипотезе, воздействие эндогенных или экзогенных эстрогенов в отсутствие прогестерона или синтетических прогестинов увеличивает пролиферацию клеток эндометрия. Однако только недавно начали говорить о вызываемых этим процессом ошибках репликации ДНК, что может привести к соматическим мутациям и злокачественным трансформациям [167].

Хотя существуют доказательства того, что гормональная секреция и метаболизм могут регулироваться влиянием окружающей среды, например, диетой и физической активностью, однако известно также, что контроль гормональных паттернов в значительной степени регулируется генетически. Таким образом, крайне важна роль генов, способствующих канцерогенезу в гормонально-чувствительной ткани, и следует выявить локусы-кандидаты в

генах, ответственных за межиндивидуальные различия в уровнях стероидных гормонов. Эти локусы, вероятно, участвуют в метаболизме и транспорте стероидных гормонов [94].

Исходя из возможности генетических влияний на развитие РЭ, проводятся исследования для подтверждения существования двух гистопатологических программ в процессе развития РЭ. И хотя, как уже было указано выше, признаки ГЭ на фоне гиперэстрогении типичны для пациенток с аденокарциномой эндометрия, ряд исследований описывают пациенток (от 17% до 77%), у которых микроскопически не выявляется сопутствующая ГЭ. Предполагается, что такие варианты аденокарциномы развиваются *de novo* на фоне нормального или атрофического эндометрия [47, 59, 62, 71, 173, 174].

По данным исследования Y. Sugiyama et al., которые проанализировали гормональное и генетическое влияние на развитие РЭ (в анализируемую группу включено 200 образцов эндометриоидной аденокарциномы на фоне ГЭ и без нее), установлено, что можно выделить две патогенетические группы канцерогенеза (рисунок 1).

Первая, при которой РЭ возникает на фоне ГЭ, связана с активацией эстрогенного сигнала в раковых клетках под воздействием внешних стимулов. По молекулярным подтипам эта группа принадлежит к подтипу низкого количества мутация. Вторая группа (без сопутствующей ГЭ) туморогенеза связана с наличием высокой мутационной нагрузки, вызванная дефицитом репарации ДНК (POLE мутации, дефицит MMR и дефицит гормональных рецепторов), и часто сопровождается геномным гиперметилированием ДНК. Основываясь на этих наблюдениях и принимая во внимание предыдущие исследования, можно предполагать, что опухолевые программы развития РЭ не едины, и их можно в широком смысле разделить на два молекулярных механизма: 1) спровоцированных избытком неконтролируемого эстрогена; 2) мутационной нагрузкой, включающей множественные формы дефицита репарации ДНК [190].

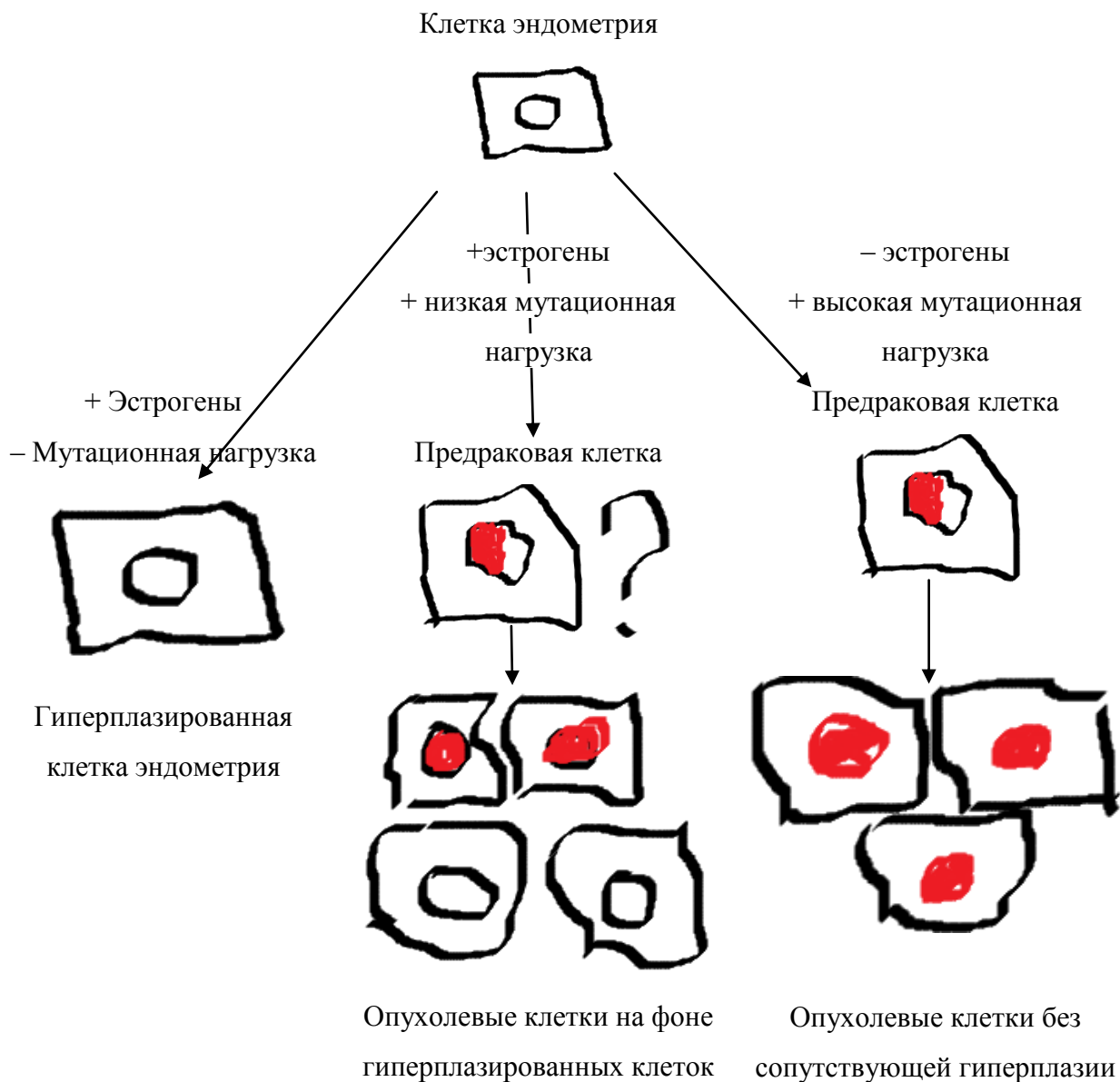


Рисунок 1 – Гистопатологические программы в развитии РЭ
(на основании исследования Sugiyama Y. et al.)

На данном этапе не проведено таких же исследований по изучению ЭИН, которые могли бы подтвердить место и роль предраковой клетки в развитии РЭ по мутационной и «эстрогеновой» программе канцерогенеза. Однако, тот факт, что выявлены одинаковые мутации как при РЭ, так и в ЭИН, позволяют предположить наличие предрака в мутационном пути канцерогенеза.

1.4 Эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия как морфологическая форма предрака

Появление понятия ЭИН, как морфологической формы предрака, закономерно. Оно произошло вследствие накопления знаний о механизмах канцерогенеза.

Патогенетически ЭИН представляет собой прогрессирующее моноклональное мутационное повреждение эпителиальных клеток эндометрия с разрастанием атипических желез с независимым от системного гормонального влияния локальным ростом. Однако гиперэстрогемия остается фактором риска развития ЭИН [124, 131].

ЭИН содержит в себе сходные с эндометриальным раком мутационные повреждения, такие как MSI, инактивация гена PAX2, PTEN, KRAS и CTNNB1 мутацию [124]. Другими словами ЭИН – это гистологическое проявление молекулярной прогрессии в эндометриальном канцерогенезе, она представляет собой поражение, которое может быть вовремя диагностировано с целью принятия обоснованной тактики лечения [148].

Риски трансформации от ЭИН к эндометриальному раку высоки, однако, проспективных работ по оценке рисков прогрессирования ЭИН с долгосрочным периодом наблюдения не опубликовано. Известно, что риски развития рака эндометрия у женщин с диагнозом ЭИН увеличиваются в 45 раз по сравнению с общей популяцией, тогда как в соответствии со старой классификационной системой этот показатель составил 7 [183].

В другом исследовании относительный риск развития РЭ при ЭИН в сравнении с доброкачественной эндометриальной гиперплазией составил 7,76, что соответствовало рискам при использовании старой классификации 1994 г. [166].

По другим источникам рак эндометрия развивается в 30-60% случаев у пациенток с данной патологией. Больше половины женщин с диагнозом АГЭ одновременно имеют признаки рака эндометрия [89, 90, 122, 124].

В то время как, риск злокачественной трансформации ГЭ без атипии не превышает по данным ряда авторов от 1 до 5% при долгосрочном наблюдении (от 1 до 26 лет) [31, 65, 120, 121].

Морфологические критерии ЭИН согласно ВОЗ 2020 года [124].

Рекомендуемые термины: эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия, атипическая эндометриальная гиперплазия.

Не рекомендуемые синонимы: сложная атипическая, простая атипическая эндометриальная гиперплазия, эндометриальная интраэпителиальная неоплазия

Гистологическая картина:

ЭИН представляет собой скопления скученных, трубчатых с клеточными изменениями или ветвящихся желез. В пределах поражения железы преобладают над стромой, что приводит к уменьшению объема стромы. Размеры поражения должны быть достаточными для того, чтобы была возможность исключить артефакты и мимикрии (картины схожие с ЭИН, но ей не являющиеся).

Различия между АГЭ и доброкачественной ГЭ основываются на ядерной атипии, а именно: увеличение, плеоморфизм, округление ядер, потеря полярности и практическое исчезновение ядрышек, которые становятся видимыми только при большом увеличении. Признаки ядерной атипии различны в каждом отдельном случае, однако они должны отличаться от нормальных окружающих желез. Цитоплазматические изменения (различные виды метаплазии) могут встречаться совместно с ядерной атипией в фокусах ЭИН. Следует дифференцировать с базальным эндометрием, эндометрием секреторной фазы, полипами. Комбинированная оценка архитектоники и цитологии может помочь отдифференцировать ЭИН от ГЭ без атипии: для ЭИН наиболее характерны локальные изменения архитектоники и цитологически

измененные фокусы, для неатипической ГЭ характерны изменения всего исследуемого поля.

Существуют попытки более подробно описать морфологические показатели, чтобы увеличить их точность. Например, международная группа патологов из PathologyOutlines.com в последнем пересмотре параграфа ГЭ\АГЭ предлагают следующие критерии для постановки диагноза эндометриальная гиперплазия без атипии.

Архитектоника должна быть следующей: группы желез близко расположены друг к другу, при этом соотношение желез и стромы больше чем 3 к 1. Строма присутствует между базальной мембраной желез, хоть и в малом количестве. Изменение размера железы с их кистозной дилатацией или непостоянными контурами (почкование, угловатость, инвагинация, выпячивание). Нарушение целостности стромы. Увеличенный объем ткани эндометрия при биопсии/выскабливании является типичным, но не обязательным для диагностики.

Цитологические признаки: ткань напоминает нормальный пролиферативный эндометрий с псевдостратифицированными, митотически активными, удлинненными столбчатыми клетками, может определяться небольшое клеточное увеличение, но клетки сохраняют ровные ядерные контуры без отчетливых ядрышек, характерны метапластические изменения клеток (эозинофилия, папиллярно-синцитиальные, плоскоклеточные морулярные, муцинозные, реснитчатые).

Предлагаются следующие признаки ЭИН: архитектоника похожа по своим характеристикам с ГЭ без атипии, описанным выше.

Цитологические признаки: увеличенные, округлые ядра с непостоянными ядерными контурами, увеличенные ядрышки с грубым и везикулярным хроматином, иногда цитоплазматическая эозинофилия, хорошо выявляемая при малом увеличении, клетки теряют полярность по отношению к базальной мембране, можно увидеть метапластические изменения.

Для дифференциальной диагностики доброкачественных и атипичных изменений следует исключить:

Артефакты сдавления – наложение желез друг на друга в процессе создания препарата, могут вызвать ложное впечатление тесно расположенных друг к другу групп желез.

Отсутствие периферической стромы, прилежащей к участку поражения, может составить представление о ложной плотности желез.

Кистозную атрофию – может иметь такой же внешний вид как гиперпластический эндометрий с плотно прилегающими и кистозно-расширенными железами, но они не будут иметь неправильных контуров гиперплазированных желез, клетки желез при кистозной атрофии имеют низкую кубовидную форму, уплощенную, без митотической активности в отличие от пролиферативного эндометрия, строма плотная и напоминает строму базального эндометрия.

Эндометриальный полип – измененные, дезорганизованные или неодинаковые железы, различной плотности фиброзная строма, тонкостенные сосуды, полип может содержать фокус ЭИН.

Нарушенную пролиферацию: нет определенных критериев, гистологически рассматривается, как степень ниже гиперплазии без атипии, но обычно морфологических различий не наблюдаются; плоскоклеточная метаплазия; эндометрий в фазе распада – эндометрий в фазе отторжения может иметь признаки клеточных изменений, таких как потеря полярности, вследствие скопления ядер и уплотнения хроматина, разрушение желез создает искусственную скученность без участков стромы, наличие железистой агрегации на фоне некротических изменений могут имитировать карциному.

Так же следует исключить злокачественные изменения: эндометриоидную аденокарциному – степень атипии между АГЭ и РЭ сходна, однако ЭИН не должна иметь крибриформные, сливающиеся железы, лабиринтные внутрипросветные соединения желез, стромальные изменения, предполагающие инвазию, десмоплазию (миофибробласты, отек, воспаление) или некроз

(промежуточная строматозная эндометриозная гиперплазия замещается пучками нейтрофильного детрита) [170].

Несмотря на существующие морфологические критерии ЭИН процент ошибок в постановке диагноза довольно существенный, и сходные результаты у разных патоморфологов выявляются менее чем в 50% случаев [119]. В исследовании, проведенном Gynecological Oncology Group, у 42,6% женщин с морфологически подтвержденным диагнозом ЭИН, при гистерэктомии и экспертном гистологическом анализе операционного материала была выявлена аденокарцинома эндометрия [165].

Именно поэтому ведутся поиски дополнительных диагностических критериев ЭИН и предикторов малигнизации ГЭ. Наиболее перспективными считается выявление генетических клеточных изменений, которые могут быть установлены ИГХ методом [16].

1.5 Иммуногистохимические характеристики гиперплазии и рака эндометрия. Молекулярные предикторы эндометриальной малигнизации

На сегодняшний день использование ИГХ маркеров для диагностики гиперпластических и неопластических заболеваний эндометрия регламентировано большинством международных рекомендаций. В основном рекомендации для использования ИГХ исследования носят рекомендательный характер. В РФ отсутствуют рекомендации по оценке ИГХ маркеров для диагностики ГПЭ.

Согласно консенсусу ESMO-ESGO-ESTRO 2016 г. и пересмотру ESGO от 2017 г. в случаях сомнительного диагноза ЭИН рекомендован пересмотр материала у онкоморфолога, специализирующимся на гинекологической патологии. Также рекомендуется использовать определенные ИГХ маркеры.

Потеря экспрессии PTEN и PAX-2 – это те ИГХ маркеры, которые уже достаточно изучены и рекомендуются для анализа гистологического материала с целью дифференциальной диагностики ЭИН от доброкачественных изменений эндометрия. Потеря PTEN происходит в 40-50% случаев ЭИН, тогда как потеря PAX-2 происходит в 70% случаев ЭИН, а совместная потеря PTEN и PAX-2 происходит в 30% случаев ЭИН. Другими маркерами, которые могут быть использованы в этом контексте, являются ИГХ определение MLH1 и ARID1a [74].

При необходимости дифференциальной диагностики эндометриоидной аденокарциномы эндометрия и ЭИН иммуногистохимическое исследование, к сожалению, не является эффективным, данное разделение должно проводиться на уровне гематоксилина и эозина [73].

Совместное руководство Королевского колледжа акушеров и гинекологов (RCOG) и Британского общества гинекологической эндоскопии (BSGE) также рассматривают возможность применения биомаркеров, связанных с малигнизацией ГЭ. Приводится в пример результаты метаанализа 123 исследований ИГХ маркеров, который выявил наиболее перспективные маркеры злокачественной трансформации ГЭ: tensin homolog (PTEN) возможно в комбинации с B-cell lymphoma 2 (BCL-2) и BCL-2-like protein 4 (BAX), но они также нуждаются в дальнейших исследованиях [130].

В 2013 году по результатам геномного анализа более чем 400 образцов эндометриального рака исследовательская группа сети Cancer Genome Atlas (TCGA), выявила четыре новых подтипа опухолей эндометрия, основанных на различиях качества и количества генных мутаций [180]. Проведя полный анализ полученных результатов, ученые из TCGA описали четыре геномных подтипа рака эндометрия, которые могут заложить основу для новых подходов к диагностике и лечению данного типа опухолей. Каждый из четырех геномных подтипов РЭ сгруппирован вместе и назван в честь одного из его значимых характеристик:

1. POLE-mutated

Ультрамутированные опухоли вследствие мутации POLE (polymerase epsilon gene – ген, кодирующий каталитическую субъединицу ДНК-полимеразы ε). Названы в честь необычно высокой частоты и вариабельности мутаций.

2. Microsatellite-Instable/Hypermuted (MSI)

Гипермутированные опухоли: опухоли с высоким уровнем микросателлитной нестабильности.

3. Copy-number-low/p53-wild-type (p53wt)

Подтип низкого количества копий (эндометриоидный тип): с высокой частотой мутации гена CTNNB1

4. Copy-number-high/p53-mutated (p53mt)

Подтип большого количества копий (серозоподобный тип). Этот подтип отображает изменения числа копий и картину мутаций, характерного для серозных опухолей.

С 2020 года ВОЗ, а также крупные онкологические сообщества (NCCN) включили в свои рекомендации проведение дополнительных ИГХ и генетических исследований для выявления молекулярного подтипа РЭ (Pole мутаций, MSI и aberrantной экспрессии p53) в дополнение к морфологической оценке гистологического типа опухоли для прогноза и выбора тактики лечения [124, 142].

Таким образом, оценка ИГХ показателей уже на стадии дифференцировки ГЭ от АГЭ может дать ценную информацию о дальнейшем пути развития процесса.

Существует ряд потенциальных ИГХ маркеров малигнизации ГЭ, одним из наиболее изученных среди них является PTEN (phosphatase/tensin homolog) ген супрессор опухолей, его мутация чаще всего выявляется в процессе канцерогенеза РЭ.

Механизм его действия связан с контролем клеточного роста через PI3K-сигнальный фосфоинозитол-киназный путь, который является одним из основных сигнальных каскадов, регулирующих клеточную пролиферацию,

метаболизм и выживание клетки [199]. Установлено, что нарушения в PI3K/AKT пути присутствуют более чем в 80% РЭ [96].

PTEN действует как липидная фосфатаза, дефосфорилирующая фосфоинозитол 3,4,5-фосфат по 3'-позиции (дефосфорилирует белок PIP3 до PIP2), что запускает PI3K-сигнальный фосфоинозитол-киназный путь. Потеря PTEN ведет к нерегулируемой активации PI3K пути, что вызывает неконтролируемый клеточный рост. Установлено, что потеря функции этого белка регистрируется в 55% случаев атипичной гиперплазии и 83% карциномы эндометрия [29]. Мутация PTEN определяется при 1 типе РЭ в 57-83% случаев, а при 2 типе – в 10% случаев [149].

Среди 4 молекулярных подтипов РЭ, идентифицированных Раковым геномным атласом в 2013 году (ультрамутированные опухоли, гипермутированные опухоли, подтип низкого количества копий, которая чаще включает эндометриоидный РЭ и подтип большого количества копий – чаще серозный рак), мутация гена PTEN встречается в 94%, 88%, 77% и 15%, соответственно [180].

Важно подчеркнуть высокую вероятность потери экспрессии PTEN уже на этапе предракового процесса в эндометрии, что является ранним событием в канцерогезе эндометриального рака [128].

Существует ряд исследований, которые выявили высокую прогностическую значимость данного маркера [84, 194].

Систематический обзор 2019 года не подтвердил эту значимость. В нем проанализированы результаты 9 исследований, изучающих участие мутации PTEN в процессе малигнизации ГЭ. Выявлено, что потеря экспрессии PTEN в случаях ГЭ явилась фактором риска развития РЭ (увеличение риска развития РЭ в 3,32 раза). Но при статистическом анализе прогностическая значимость оказалась невысока: средняя чувствительность и специфичность потери экспрессии PTEN при прогнозировании развития РЭ были 0,58 (95% CI 0,52-0,64) и 0,60 (95% CI 0,56-0,64), соответственно.

Интересной находкой стало, что в группе пациенток с АГЭ потеря PTEN ассоциируется с риском сосуществующего рака более чем в 50% случаев [161].

Но окончательное суждение о прогностической значимости PTEN вынести невозможно, так как нет четких и единых диагностических критериев для оценки этого показателя. Разные исследователи применяют различные критерии для PTEN: 1) полная потеря экспрессии PTEN во всем очаге поражения; 2) наличие PTEN-негативных, то есть неокрашенных желез; 3) процентное содержание PTEN-позитивных клеток ниже пороговых значений (которые также различны); 4) интенсивность окрашивания ниже нормы. Именно поэтому необходимы дальнейшее исследования для определения клинической значимости и единых стандартов оценки этого показателя [162].

PAX 2

Ген PAX2 (paired box gene) относится к семейству генов, участвующих в регуляции транскрипции в процессе эмбриогенеза и отвечающих за нормальное развитие центральной нервной системы и генитоуринарного тракта [151]. Согласно исследованиям G.-X. Tond et al., ядерная экспрессия PAX2 в норме обнаруживается в эпителиальных клетках эндометриальных желез [83]. Начало изучения этого гена как предиктора развития АГЭ, было связано с исследованиями D. Lang, которые показали, что ген PAX2 может действовать как протоонкоген через регуляцию механизмов клеточного роста и апоптоза [151].

Снижение экспрессии PAX2 коррелирует с малигнизацией гиперплазии эндометрия [82]. По результатам проведенных исследований PAX2 был назван диагностически надежным показателем, который разграничивает предраковые поражения эндометрия от его доброкачественных изменений. В исследовании К.Н. Allison et al. (2012), частота полной потери PAX2 напрямую зависела от степени поражения эндометрия, встречаясь в цепочке нормальный эндометрий – простая ГЭ – сложная ГЭ – атипичная ГЭ – РЭ с частотой 0% – 17,4% – 59% – 74,1% и 73,3% соответственно. Авторы приходят к выводу, что потеря PAX2 происходит на ранних стадиях канцерогенеза при ГЭ [153]. В более позднем

исследовании 2015 года A.K. Joiner et al. провели оценку экспрессии PAX2 в образцах с ЭИН в сравнении с доброкачественной гиперплазией. Снижение экспрессии PAX2 коррелировало с диагнозом ЭИН в 92% случаев, а с гиперплазией эндометрия без атипии – только в 15%, что подтверждает целесообразность оценки PAX2 для определения ранних предраковых изменений эндометрия [112].

Благодаря данным вышеперечисленных и нескольких других работ, определение белка PAX также рекомендовано консенсусом ESMO-ESGO-ESTRO для дифференциальной диагностики ГЭ от ЭИН [74].

После принятых рекомендаций группа авторов в 2019 год провела обзорное исследование с целью определения чувствительности и специфичности ИГХ определения PAX2 как диагностического маркера злокачественной трансформации ГЭ. В этот обзор вошли данные 6 работ, включивших 266 гистологических образцов неизмененного эндометрия, 586 ГЭ и 114 РЭ. Результаты были проанализированы с учетом классификации ВОЗ 2014 год. Как снижение, так и полная потеря экспрессии PAX2 были значительно более частым явлением в случаях РЭ и АГЭ, чем при доброкачественной ГЭ. При этом точность метода с использованием системой EIN показала лучшие результаты (чувствительность =0,72; специфичность =0,95), чем с использованием старой классификационной системы 1994 г.

Авторы делают вывод о том, что иммуногистохимическая оценка экспрессии PAX2 и использование ЭИН классификации служат надежными диагностическими критериями малигнизации ГЭ [152].

ARID1A

Белок ARID1A (The AT-rich interacting domain-containing protein 1A) входит в состав SWI/SNF хроматин ремоделирующего комплекса и считается перспективным маркером диагностики и прогнозирования малигнизации ГЭ [57].

Функция данного комплекса заключается во влияние на процессы: транскрипции, репликации, репарации, метилирования и рекомбинации ДНК.

Таким образом, изменяя структуру хроматина, он может включать и выключать различные гены [44].

Дисфункция в механизме вносит вклад в канцерогенез путем аберрации в ремоделировании хроматина и активацией PI3K/АКТ сигнального пути. Данное нарушение обнаруживается примерно в 10% всех случаев опухолей человека [40].

Мутация ARID1A наиболее распространена среди гинекологических опухолей и по некоторым данным встречается в 40% при эндометриоидной аденокарциноме эндометрия (в 25-29% случаев низкодифференцированной и 39% высокодифференцированной эндометриоидной аденокарциномы) [126, 137, 193].

Предполагается, что потеря экспрессии гена может происходить уже на предопухолевой стадии процесса, то есть его определение может служить прогностическим маркером малигнизации ГЭ [32, 125, 185].

Чтобы доказать это утверждение, Raffone et al. в 2019 году провел обзорный метаанализ существующих исследований по данной тематике и установил, что в качестве диагностического маркера опухолей эндометрия оценка экспрессии ARID1A имеет низкую чувствительность 12% и высокую специфичность 99%, а в качестве прогностического маркера малигнизации ARID1A имеет чувствительность 33% и специфичность 99%. Из чего следует вывод, что потеря ARID1A весьма специфична, но не достаточно точна в качестве диагностического маркера предраковой ГЭ. Напротив, потеря ARID1A при АГЭ является точным и почти идеально специфичным прогностическим маркером для определения сосуществующего РЭ [58].

Микросателлитная нестабильность (MSI)

Микросателлиты – это повторяющиеся последовательности ДНК, которые широко распространены в геноме и тесно связаны со многими важными генами. Считается, что микросателлиты играют важную роль в формировании и реорганизации структур хромосом, влияющих на репликацию и экспрессию генов. Для распознавания и восстановления несовпадающих

оснований во время репликации ДНК, особенно в повторяющихся последовательностях ДНК, таких как микросателлиты, существует система репарации ДНК (mismatch repair system MMR) [198].

Из-за мутаций или эпигенетических изменений любого из генов системы репарации ДНК (MSH2, MSH3, MSH6, MLH1, PMS2, EXO1) нормальная функция MMR нарушается, что приводит к накоплению множества мутаций и появлению микросателлитной нестабильности [46, 198].

Некоторые исследования доказали, что MSI играет важную роль в канцерогенезе, в том числе опухолей эндометрия, и тесно связана с их возникновением, прогрессированием и прогнозом [176, 198].

С целью обеспечения максимальной чувствительности и специфичности были разработаны различные методы для выявления MSI.

Панель Bethesda/NCI, основанная главным образом на полимеразной цепной реакции, более 20 лет является золотым стандартом для обнаружения MSI. Это модель из 5 маркеров: моонуклеотидные (BAT26, BAT25) и двунауклеотидные последовательности (D2S123, D5S346, D17S250). Согласно количеству мутаций MSI изначально классифицировалась как три различных подтипа, включая высокие уровни MSI (MSI-H), низкие уровни MSI (MSI-L) и микросателлитную стабильность (MSS). Однако в настоящее время признано, что MSI-low – это ошибочно выявленная категория, таким образом, опухоли подразделяются бинарно на MSS и MSI-high.

Вторым вариантом диагностики dMMR является иммуногистохимическое исследование (ИГХ), когда в опухоли изучается экспрессия белков MSH2, MLH1, PMS2, MSH6 путем определения реакции антиген-антитело. В случае отсутствия окрашивания хотя бы одного белка устанавливается дефицит MMR (dMMR) [22, 25].

Согласно рекомендациям ESMO 2019 года первым методом определения MSI является иммуногистохимическое исследование белков MSH2, MLH1, PMS2, MSH6 [75].

Недавно, с развитием секвенирования генов следующего поколения (NGS), появились новые вычислительные алгоритмы, которые позволяют обнаруживать MSI в тысячах микросателлитных маркеров без сравнения с нормальными тканями организма [35].

Эндометриоидная аденокарцинома эндометрия является одной из самых распространенных опухолей с MSI среди спорадических злокачественных новообразований и выявляется в 20-40% случаев [69, 180, 198]. Выявлено также, что MSI в целом, и аномальное метилирование MLH1 в частности, является ранним событием в канцерогенезе рака эндометрия и обнаруживается на стадии предраковых поражений [69].

Большой интерес в настоящее время уделяют возможности иммунотерапии опухолей с выявленной MSI, в том числе опухолям эндометрия. Так исследование Yamashita et al. 2017 года выявило, что в группе пациенток с РЭ и установленной MSI-H экспрессия CD8 и PD-1 на поверхности инфильтрирующих лимфоцитов и PD-L1 на поверхности опухолевых клеток была достоверно выше, чем в группе без MSI. Это указывает на то, что MSI может быть приемлемым биомаркером для прогнозирования ответа на анти-PD-1/PD-L1 иммунотерапию [133]. Благодаря накопившимся научным данным в 2017 FDA, а в 2019 года Минздрав РФ зарегистрировали dMMR/MSI-H в качестве показания для иммунотерапии при любой солидной опухоли.

PD-L1

PD-L1 (Programmed Cell Death 1 Ligand 1) является трансмембранным белком, лигандом к рецептору PD-1, который участвует в физиологическом механизме подавления аутоиммунных реакций. Связывание с рецептором PD-1 на CD8 лимфоцитах блокирует их цитотоксическую активность. В рамках канцерогенеза экспрессия PD-L1 опухолевыми клетками – главный механизм ускользания от иммунного контроля [20, 41, 169].

В настоящее время остается открытым вопрос о роли PD-L1 в качестве биомаркера малигнизации и прогностического маркера течения и прогрессирования опухолевого процесса [200]. Для некоторых локализаций

(таких как рак молочной железы, яичников, желудка, почки) такая закономерность выявлена [97, 100, 178, 191].

Однако нет работ, оценивающих экспрессию PDL1 опухолевыми клетками при раке и предраке эндометрия и определяющих ее диагностическую и прогностическую значимость.

Рецепторы к эстрогенам

Согласно проведенным исследованиям рецепторы к эстрогенам, которые бывают двух типов ($ER\alpha$ and $ER\beta$ – альфа и бета), в норме экспрессируются в неизмененном эндометрии [81, 102, 103]. В перименопаузальном и постменопаузальном эндометрии соотношение $ER\alpha$ к $ER\beta$ меняется в зависимости от стадии менструального цикла. В фазу пролиферации выражена экспрессия $ER\alpha$ в железе и строме, которая снижается в секреторной фазе после постовуляторного повышения уровня прогестерона [79]. Эти и другие исследования демонстрируют важность эстрогенов в регуляции пролиферации клеток эндометрия, процессах ангиогенеза и воспаления [143].

Как хорошо известно, одним из факторов риска ГЭ и РЭ является нарушение баланса гормонального воздействия на эндометрий: избыточное воздействием эстрогена без влияния прогестерона [142].

Многочисленные исследования изучали ER статус у пациенток с эндометриоидной аденокарциномой эндометрия для анализа возможной связи рецепторного статуса опухоли с гистологической картиной, прогнозом и выживаемостью [70, 80, 87, 104, 181]. По данным The Human Protein Atlas высокая экспрессия рецепторов к эстрогенам при РЭ имеет хорошую прогностическую значимость, уровень 5-летней выживаемости у таких пациенток достоверно выше [182]. Так же существуют исследования, направленные на сравнение степени экспрессии ER между нормальным эндометрием, ГЭ и РЭ. Однако, результаты данных научных работ противоречивы. Например, ряд авторов Uchikawa et al. and Bircan et al. описали повышенную экспрессию $ER\alpha$ в случаях ГЭ по сравнению с неизмененным секреторным эндометрием [86, 101]. Hu et al. провели ИГХ анализ 114 образцов

гистологического материала (15 неизмененного эндометрия, 37 РЭ, 30 простая ГЭ, 13 сложная ГЭ and 20 АГ), изучая экспрессию ER α и ER β . Авторами были опубликованы следующие результаты: от нормального эндометрия до простой и сложной гиперплазии экспрессия ER alpha была повышена ($p < 0,05$), в то время как экспрессия ER beta практически не изменялась ($p > 0,05$). При атипической гиперплазии и аденокарциноме как ER alpha, так и ER beta были достоверно снижены ($p < 0,05$). Таким образом, Hu et al. Заключают, что ER альфа и ER бета играют важную роль при ГЭ и карциномах эндометрия, их уровни могут быть использованы в качестве прогностических показателей [99].

Chakravarty et al., изучившие уровни экспрессии ERbeta в 22 образцах пролиферативного эндометрия, 15 секреторного эндометрия, 20 ГЭ, и 26 эндометриоидной аденокарциномы не выявили различий в уровнях экспрессии ER β в образцах нормального эндометрия и ГЭ, однако, одна из фракций ER β была снижена в образцах с эндометриоидной аденокарциномой [78]. Таким образом, несколько исследований определили сниженный уровень экспрессии ER α в случаях АГ и РЭ, подразумевая, что потеря экспрессии рецепторов может происходить по мере прогрессирования поражения [78, 99, 101]. В противоречии к вышеперечисленным данным X.-H. Zhou, et al. установили повышенный уровень рецепторов ER α в аденокарциноме эндометрия по сравнению с нормальным и гиперпластическим эндометрием, а экспрессия ER-b не имела достоверных различий между каждой группой [85]. Однако проведенные исследования выполнялись с использованием разных методик (ИГХ или генетический анализ), устанавливались различные критерии оценки, и выявлялась разная статистическая значимость результатов, именно поэтому роль и необходимость оценки экспрессии ER в развитии РЭ пока не достаточно ясна.

Рецепторы к прогестерону (Pr)

PR являются частью семейства лиганд, активирующих факторы транскрипции, то есть при связывании лиганда (прогестерона) с его рецептором, происходит активация транскрипции генов (к этому же семейству

относятся рецепторы к эстрогенам) [111]. Прогестерон относится к стероидным гормонам, который необходим для нормального функционирования репродуктивной системы. Его функцией в эндометрии является ингибирование эстроген-зависимой пролиферации клеток путем индукции секреторной трансформации желез эндометрия и тормозящей регуляции ER α [164]. Как было упомянуто выше ключевым компонентом в развитии РЭ является неуравновешенное прогестероном пролиферативное воздействие эстрогена на клетки эндометрия [61]. Роль PR широко исследована в развитии и прогрессировании РЭ, причем было показано, что потеря PR связана с плохой выживаемостью и метастатическим заболеванием [77, 114, 127], а высокая экспрессия наоборот связана с благоприятным прогнозом и высокой 5-летней выживаемостью [182]. Несколько проведенных исследований были посвящены вопросам экспрессии PR в эндометрии разной степени повреждения: от нормального до атипичного. В трех сообщениях доложено, что в случаях ГЭ была выявлена тенденция к снижению количества PR по сравнению с нормальным эндометрием [30, 86, 172]. Напротив Ghabreau et al. продемонстрировали нарастание экспрессии PR в цепочке ГЭ без атипии – АГЭ [55]. Orejuela et al. опубликовали сообщение о том, что нет существенных и статистически значимых различий в экспрессии PR между нормальным эндометрием, ГЭ и РЭ [76].

Интересные результаты получили Upson et al., которые выявили, что среди женщин с атипичной гиперплазией эндометрия, получающих препараты прогестерона, высокая экспрессия PR ассоциировалась с 90% снижением риска дальнейшей персистенции/прогрессирования ГЭ. Также высокая экспрессия рецепторов прогестерона A и B, по данным тех же авторов, свидетельствовали о снижении риска персистенции/прогрессирования заболевания. Эти результаты не наблюдались у женщин со сложной гиперплазией без атипии [38].

Таким образом, данные исследований противоречивы и как в случае с ER, значимость экспрессии PR в качестве маркера малигнизации ГЭ пока не ясна.

Бета-катенин (β-катенин)

Это белок клеточной адгезии, кодируемый геном CTNNB1, в норме экспрессируемый на клеточной мембране. Помимо его функции поддержания межклеточных контактов, он является участником Wnt пути [105]. Считается, что каноничный Wnt (β-катенин зависимый) сигнальный путь играет важную роль в клеточной регуляции, процессах пролиферации, дифференциации и канцерогенеза [33]. В нормальных клетках β-catenin быстро разрушается протеосомами, и если этот процесс нарушен, это приводит к накоплению цитоплазматического белка [144]. Это приводит к транслокации β-катенина в клеточное ядро, где он может образовывать комплексы с T-клеточным фактором/лимфоидными энхансер-факторами (Tcf/Lef), превращая их в факторы транскрипции [144]. Активированные TCF/LEF обладают способностью избирательно связываться с последовательностями ДНК и с белками-активаторами, которые запускают определенные гены [179].

Таким образом, логично заключить, что при выявлении экспрессии бета катенина не только в цитоплазме клетки, но в его ядре (цитоплазматически-ядерный переход), может быть прогностически неблагоприятным признаком в плане дальнейшего прогрессирования опухолевого процесса.

Активирующие мутации сигнального пути Wnt широко распространены в ряде опухолей, известно, что бета катенин зависимый путь участвует в канцерогенезе РЭ, особенно при эндометриоидной аденокарциноме и ее предраке [106, 197].

Согласно данным Ракового геномного атласа один из молекулярных подтипов эндометриоидного рака - подтип низкого количества копий (эндометриоидный тип) характеризуется высокой частотой мутации гена CTNNB1 [180], что говорит о его значимости в канцерогенезе РЭ.

Проведены многочисленные исследования с целью анализа различий в экспрессии бета-катенина в случаях доброкачественных, предраковых и злокачественных повреждений эндометрия.

Однако результаты были неоднозначны. Большинство авторов показало, что ядерная экспрессия бета-катенина увеличивается в цепочке от нормального эндометрия до РЭ [27, 28, 36, 105, 135, 138, 194].

Другие исследователи продемонстрировали, что активация бета-катенин зависимого Wnt пути может происходить и в нормальной эндометрии в результате физиологического влияния эстрогена [146, 197].

Для объективизации полученных результатов Raffone et al. выполнили метаанализ данных 12 исследований по данной тематике, включивших в себя 270 образцов неизменного эндометрия, 312 ГЭ без атипии, 303 АГЭ и 625 РЭ. Заключение, к которым пришли авторы, после статистической обработки результатов следующие: умеренная или сильная ядерная экспрессия β -катенина является малочувствительным, но совершенно специфичный маркер для диагностики предрака эндометрия. Если рассматривать и цитоплазматическую экспрессию можно улучшить чувствительность, хотя и с более низкой специфичностью и более низкой общей точностью. Кроме того, при использовании классификации ЭИН точность метода выше, чем классификация ВОЗ 1994 г. (авторы предполагают, что это связано с тем, что доброкачественная категория ВОЗ – сложная ГЭ без атипии по системе ЭИН относится к предраковой форме)

Несмотря на то, что в качестве автономного диагностического теста ИГХ определение β -катенина не может быть использовано, однако, может служить высоконадежным показателем для дальнейшего поиска предрака эндометрия [145].

Ki-67

Ki-67 – маркер пролиферации – ядерный белок, участвующий в поддержании митотического деления клеток. Он действует как своеобразный биологический сурфактант, предотвращая превращение хромосом в единую массу хроматина после разборки ядерной оболочки, что обеспечивает независимую подвижность хромосом и эффективное взаимодействие с митотическим веретеном [116]. Может играть определенную роль

в организации хроматина. Однако неясно, играет ли он прямую роль в организации хроматина или косвенно вследствие его функции участника митотического деления хромосом [118].

Таким образом, этот маркер отражает количество митотически активных клеток и его чаще всего используют для оценки пролиферативной активности эндометрия. Экспрессия данного белка в эндометрии зависит от фазы менструального цикла: увеличивается в стадию пролиферации, достигая максимума в конце фолликулярной фазы, и снижается в стадию секреции.

Достаточно хорошо Ki-67 изучен в качестве прогностического маркера течения РЭ. Ряд авторов в ходе своих исследований, подтверждают прогностическую ценность маркера Ki-67 для оценки продолжительности жизни [132, 158, 168], стадии заболевания и прогноза лечения [117] и рисков рецидивирования заболевания у пациенток с РЭ [107].

Данные исследований по оценке прогностической значимости Ki-67 в развитии атипичической гиперплазии эндометрия или перехода ее в злокачественную форму неоднозначны. В большинстве проведенных исследований установлено постепенное нарастание экспрессии Ki-67 в ряду ГЭ-АГЭ-РЭ [2, 8, 12, 91]. При этом статистическая достоверность этих результатов не во всех работах оказалась значимой. Так же есть данные работы Shevra et al., которые подтверждают увеличенную экспрессию Ki-67 у пациенток с опухолью эндометрия относительно пролиферативного эндометрия и ГЭ, однако не выявляют существенных различий в индексе в случаях РЭ и АГЭ [171].

Ряд исследователей приходят к выводу, что определение только одного показателя недостаточно для прогнозирования злокачественной трансформации ГЭ, так как не один из них не имеет достаточно высокую чувствительность и специфичность [109, 143].

Не только ИГХ анализ показывает необходимость в использовании линейки маркеров, но и новейший метод секвенирования NGS предполагает, что по изменению в одном гене нельзя судить о рисках малигнизации.

По данным Russo et al., проанализировавшего молекулярные события в случаях ГЭ, которая привела к развитию РЭ и которая регрессировала на фоне консервативной терапии, приходят к выводу, что в случаях прогрессирующих атипических изменений мутационных событий было гораздо больше. Только оценка изменений в нескольких генах с подсчетом мутационной нагрузки может быть клинически ценной [139].

Таким образом, существует необходимость в составлении диагностически значимой панели ИГХ маркеров, которая может стать объективным предиктором малигнизации ГЭ.

Глава 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика проведенного исследования

Работа состояла из двух частей: первая носила эпидемиологический характер, и целью ее было выявить частоту встречаемости ГПЭ (согласно критериям ВОЗ 2014).

Исследование проведено на базах ФГБУЗ Клинической больницы № 122 им. Л.Г. Соколова и Медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова на основании ретроспективного анализа журналов гистологических заключений патологоанатомических отделений. В выборку вошли пациентки, которым выполнялась гистероскопия с забором материала для морфологических исследований. Анализ гистологической оценки состояния эндометрия проведен у 818 женщин: 675 пациенток прошли инвазивное обследование эндометрия за 4 года с 2016-2019 гг. в Клинической больнице №122 и 143 пациентки за 3 года с 2017-2019 гг. - в Медицинском центре имени В.А. Алмазова, у них также были проанализированы клинические характеристики, опубликованные в отдельной статье [13].

Показаниями к оперативному лечению были АМК, бесплодие, подозрение на патологию эндометрия по данным ультразвукового исследования органов малого таза.

Структура и распространенность заболеваний эндометрия в исследованной группе выявлена по результатам гистологического исследования.

Вторым этапом осуществлялся набор пациенток, которые соответствовали критериям включения/исключения, и гистологический

материал которых был доступен для пересмотра и иммуногистохимического окрашивания.

Характеристика исследуемого материала

Материалом для анализа второго этапа исследования послужили клинико-anamnestические данные и гистологические препараты (стекла и парафиновые блоки) 152 пациенток с гиперпластическими заболеваниями эндометрия, проходившими лечения на базах: ЧУЗ «КБ «РЖД-Медицина» Санкт-Петербург, ФГБУЗ Клиническая больница № 122 им. Л.Г. Соколова ФМБА России, Санкт-Петербург, ООО «Ава Петер», Санкт-Петербург, ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России с 2016 по 2020 гг.

Диагнозами включения являлись (согласно морфологическим критериям классификации ВОЗ 2014 года):

1. Гиперплазия эндометрия без атипии (простая и сложная) или эндометриальная гиперплазия эндометрия без атипии.
2. Атипическая гиперплазия эндометрия (простая и сложная) или эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия.
3. Эндометриоидная аденокарцинома эндометрия.

Критерии исключения:

1. Неэндометриоидный тип рака эндометрия.
2. Наследственные формы эндометриоидного рака (синдром Линча).
3. Прием Тамоксифена.

Пересмотр морфологического материала проводился на основании классификации ВОЗ 2014 года в специализированной онкопатоморфологической лаборатории врачом экспертом.

В работе оценивались следующие клинико-anamnestические данные: жалобы, возраст на момент постановки диагноза, анамнез заболевания, стадия старения репродуктивной системы по шкале STRAW +10, период наступления менархе и менопаузы, количество беременностей и родов, бесплодие, индекс массы тела, семейный онкологический анамнез, соматические заболевания (наличие гипертонической болезни, сахарного диабета 2 типа, заболеваний

щитовидной железы), лекарственная терапия (прием тамоксифена и монотерапия эстрогенами)

Анализ был проведен на основании данных медицинской документации и телефонного опроса. Мониторинг состояния пациенток выполнялся через 3-5 лет от момента постановки диагноза путем телефонного опроса и отслеживания медицинской документации. Для дальнейшей обработки весь материал был внесен в компьютерную базу данных Excel.

2.2 Метод морфологического исследования

Весь собранный гистологический материал был пересмотрен на базе ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург с использованием морфологических критериев классификации ВОЗ 2014 года.

Из 152 образцов 10 случаев были исключены из исследования: 2 случая представляли собой серозный рак эндометрия, который не является объектом изучения данной работы, 4 случая были представлены атипичной муцинозной пролиферацией, 2 – сочетания серозного рака с атипичской гиперплазией эндометрия, 2 случая - сочетание светлоклеточного рака и эндометриоидного рака эндометрия, 3 случая – полипа эндометрия без гиперплазии эндометрия, 2 случая – эндометрием пролиферативного типа. У 35 пациенток не было возможности адекватной оценки гистологического материала в связи с его качеством или количеством.

Оставшиеся 107 случаев после пересмотра согласно морфологическим критериям 2014 года были распределены в три группы: 35 пациенток – с диагнозом доброкачественная гиперплазия эндометрия, 36 – эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия, 36 – эндометриоидная аденокарцинома эндометрия.

При этом в 23 случаях (22%) было расхождение в морфологическом диагнозе: 18 случаев после пересмотра разными патоморфологами, в 5 случаях после анализа биопсийного и операционного материала.

Морфологические критерии ВОЗ 2014 года:

1. Гиперплазия эндометрия без атипии – увеличенная пролиферация желез с изменением их формы и размеров, сопровождающаяся увеличением соотношения железа/стромы по сравнению с пролиферативным эндометрием, но без значительных признаков клеточной атипии.

Синонимы: доброкачественная ГЭ, простая неатипическая ГЭ, сложная неатипическая ГЭ, простая ГЭ без атипии, сложная ГЭ без атипии.

Гистологическая картина: спектр изменений типичен. Железы различны по размеру и форме и могут быть отделены друг от друга различным количеством стромы, включая островки желез («спина к спине») практически без промежуточной стромы. Железы расположены неравномерно, создавая различную плотность желез и стромы. В то время как одни железы могут сохранять нормальную трубчатую или спиральную форму, другие становятся ветвистыми или кистозно расширенными. Эпителий остается стратифицированным и однорядным, с частыми митотическими фигурами. Характерны локальные кровоизлияния и повреждения стромального компонента.

2. Атипическая гиперплазия эндометрия/эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия (ЭИН).

Характеризуется признаками клеточной атипии совместно с признаками ГЭ. Синонимы (с 2020 года нерекомендуемые): сложная атипическая ГЭ, простая атипическая ГЭ, эндометриальная интраэпителиальная неоплазия.

Гистологическая картина:

ЭИН представляет собой скопления скученных трубчатых с клеточными изменениями или ветвящихся желез. В пределах поражения железы преобладают над стромой, что выглядит как островки скученных желез с небольшим количеством промежуточной стромы.

Различия между АГЭ и доброкачественной ГЭ основываются на ядерной атипии, а именно: увеличение, плеоморфизм, округление ядер, потеря полярности и исчезновение ядрышек, которые становятся видимыми только при большом увеличении. Ядерная атипия различна и по количеству и по качеству изменений. Так как эти изменения носят субъективный характер и зависят от восприятия исследователя, достоверное определение вышеперечисленных характеристик остается проблемой. Диагноз атипии может быть установлен в ходе сравнения прилежащих участков нормального неизмененного эндометрия и участков гиперплазированного эндометрия, но без признаков атипии.

3. Эндометриодная аденокарцинома эндометрия – обычно представляет собой железистую опухоль с ацинарными, папиллярными или частично солидной структурой, но не имеющей ядерных признаков серозной карциномы.

Гистологическая картина представлена железистыми или вилогландулярными структурами, покрытыми цилиндрическим эпителием со сложной скученной ветвящейся архитектурой. Клетки, выстилающие просвет желез, обычно имеют столбчатую форму и общую апикальную границу с соседними клетками, что приводит к гладкому просвету.

Цитоплазма неопластических клеток эозинофильная или гранулярная. Ядерная атипия обычно от слабой до умеренной с незаметными ядрышками, за исключением низкодифференцированной аденокарциномы. Митотический индекс крайне переменный. В отличие от ЭИН присутствует стромальная инвазия, отсутствует промежуточная строма (сливающиеся или крибриформные железы), есть поврежденная эндометриальная строма (десмопластические реакции) или папиллярные структуры.

2.3 Метод иммуногистохимического исследования

Иммуногистохимическое исследование проведено по стандартному протоколу (таблица 4) с определением рецепторного статуса опухоли (рецепторов эстрогена и прогестерона), экспрессии BAF250a (ARID1A), PTEN, CTNNB1(β -катенина), MSH6, MSH2, PMS2, MLH1, PAX2, PD-L1, индекса пролиферации (Ki-67) (таблица 3).

Таблица 3 – Спецификация антител, использованных для дифференциальной диагностики гиперплазии эндометрия без атипии, с атипией и аденокарциномы эндометрия

№	Антитело	Клон	Характер антител	Разведение	Фирма-Производитель
1.	Эстрогеновые рецепторы (ER)	6F11	Мышинные, Моноклональные	1:100	LabVision
2.	Прогестероновые рецепторы, (PR)	PGR-312	Мышинные, Моноклональные	1:50	LabVision
3.	BAF250a (ARID1A)	EPR13501-73	Кроличьи Моноклональные	1:1000	Abcam
4.	PTEN	6H2.1	Мышинные, Моноклональные	1:25	DAKO
5.	β -катенин	14/ β -Катенин	Мышинные, Моноклональные	1:50	Cell Marque
6.	Ki-67	MIB-1	Мышинные, Моноклональные	1:50	LabVision
7.	MSH6	EP49	Мышинные, Моноклональные	1:100	DAKO
8.	PMS2	EP51	Кроличьи, моноклональные	1:25	DAKO
9.	MSH2	FE11	Мышинные, моноклональные	1:100	DAKO

Продолжение таблицы 3

№	Антитело	Клон	Характер антител	Разведение	Фирма- Производитель
10.	MLH1	ES05	Мышиные, моноклональные	—	Leica
11.	PAX 2	—	Кроличьи, поликлональные	1:20	Cell Marque
12.	PDL-1	Sp263	Кроличьи, моноклональные	—	Вентана

С помощью микротомы HM355S с системой переноса срезов STS (Thermo) с каждого парафинового тканевого мультиблока (рисунок 2), произведенного по технологии Tissue Microarray, были получены срезы толщиной 2,5 микрона.

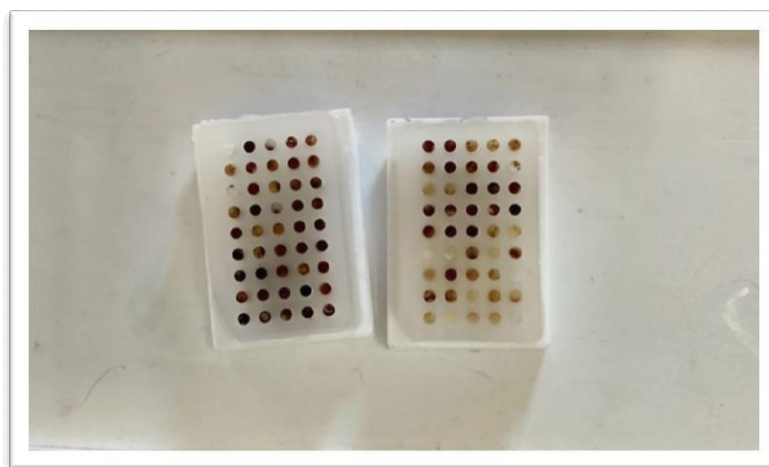


Рисунок 2 – Тканевой мультиблок (матрица)

Далее выполнялось нанесение срезов на стекла с поли-L-лизиновым покрытием фирмы Menzel и их высушивание при температуре 35-37 °С в течение 60 минут. После этого проводилось депарафинирование материала в двух о-ксилолах, по две минуты в каждом, отмывание и обезвоживание в двух 96% спиртах по пять минут в каждом и 70% спирте в течение десяти минут.

Следующим этапом стекла промывались в дистиллированной воде и подвергались демаскировке антигенов в цитратном буфере фирмы ДАКО (Target Retrieval Solution pH 6.0, код S169984-2) в водяной бане при температуре 95 °С продолжительностью 40 минут. После этого они охлаждались до комнатной температуры вместе с буфером, в котором проводилась демаскировка, и в течение 10 минут промывались в Трис-буфере. Затем срезы обводились парафиновым карандашом (DakoCytomation Pen, код S200230-2) и повторно опускались в Трис-буфер (TBS pH 7,4) на 10 минут. После чего проходила обработку 3% перекисью водорода в течение 5 минут для подавления эндогенной пероксидазы.

Для разведения первых антител использовались буфера (Antibody Diluent with Background Reducing Components фирмы DakoCytomation, code S3022) для разведения антител с компонентом, препятствующим их неспецифическому связыванию. Первые антитела выдерживались 30 минут при постоянной температуре 30 °С, которая поддерживалась при помощи нагревательной платы (Гистоплата) LEICA HI1220. Потом стекла в течение 10 минут промывались в Трис-буфере.

Для определения связывания первых антител с клетками опухоли использовалась полимерная система визуализации ДАКО EnVision Flex с диаминобензидином в качестве хромогена. Далее срезы промывались в дистиллированной воде и дополнительно окрашивались при помощи гематоксилина Майера в течение 1-2 минут. Потом отмывались в воде в течение 15 минут, дегидрировались в 96% спиртах в течение 10 минут и осветлялись карболксиллом или ксиллом в течение 5 минут.

Срезы были заключены в специальные среды Ultramount, Faramount, Aqueous Mounting Medium, Ready-to-Use фирмы ДАКО код S302580-2.

Оценка и интерпретация результатов выполнена при помощи световой микроскопии (Olympus CX41, камера DP72) при увеличении $\times 200$ и $\times 400$.

Таблица 4 – Протокол иммуногистохимического окрашивания (рецепторы эстрогена и прогестерона, экспрессии BAF250a (ARID1A), PTEN, CTNNB1(β-катенина), MSH6, MSH2, PMS2, MLH1, PAX2, индекса пролиферации Ki-67

№	Этап	Используемые вещества	Экспозиция
1	Депарафинизирование	Ксилол	5 мин
		Ксилол	5 мин
		96% этиловый спирт	5 мин
		96% этиловый спирт	5 мин
		70% этиловый спирт	10 мин
		Дистиллированная вода	Ополаскивание
2	Демаскировка	Цитратный буфер	Водяная баня, температура 95 °С, 30 мин в предварительно подогретом буфере
		Трис-буфер	10 мин: два стаканчика по 5 мин с передвижкой (первый выливается, второй становится первым)
3	Ингибирование эндогенной Пероксидазы	3% перекись водорода	20 мин
		Трис-буфер	Ополаскивание
5	Инкубация первых антител	Первые антитела, заранее разведенные дилуентом в соответствии с таблицей разведения, на термостолке при температуре 25 °С с влажной фильтровальной бумагой (эффект водяной бани)	30 мин
		Трис-буфер	10 мин
6	Система визуализации	EnVision Flex или на термостолке при температуре 30 °С с влажной фильтровальной бумагой (эффект водяной бани)	30 мин
		Трис-буфер	10 мин

Продолжение таблицы 4

№	Этап	Используемые вещества	Экспозиция
7	Окрашивание	Диаминобензидин (из расчета 1 капля концентрата на 1 мл растворителя ДАБ)	1 мин
		Дистиллированная вода	Ополаскивание
8	Контр-окрашивание	Гематоксилин Майера	1 мин
		Проточная вода	3 стаканчика, Ополаскивание
9	Заключение	Изопропиловый спирт	5 мин
		Изопропиловый спирт	5 мин
		Ксилол	2 мин
		Ксилол	2 мин
		Заключающая среда и покрывное стекло	—

Окраска на PD-L1 проводилась на автостейнере закрытого типа Ventana BenchMark Ultra с применением готовых к использованию антител PD-L1 клон SP 263 и системы двухступенчатой визуализации OptiView DAB Detection Kit по стандартному протоколу: первичное антитело связывается с искомым антигеном, далее вторичное антитело с многочисленными HQ-гаптенами связывается с первичным антителом, затем третичное антитело к HQ-гаптенам, содержащее пероксидазу связывается со вторичным антителом, и в результате реакции DAB-хромогена и гидропероксида с пероксидазой происходит коричневое окрашивание и визуализация.

Оценка иммуногистохимического окрашивания осуществлялась для каждого показателя в соответствии со стандартными и общепринятыми методиками определения. Часть показателей имеют качественную реакцию и определялись по наличию или отсутствию окрашивания клеточной цитоплазмы и ядер. Другая часть оценивалась количественно. Методика оценки каждого показателя представлена ниже.

Качественные показатели:

1. PAX2 – отсутствие окрашивания ядер оценивалось как отсутствие экспрессии данного гена. Наличие окрашенных и неокрашенных ядер в препарате оценивалась, как частичная потеря экспрессии данного гена.

2. PTEN – отсутствие цитоплазматического и ядерного окрашивания оценивалось как полная потеря экспрессии PTEN. Наличие окрашенных и неокрашенных клеток в препарате оценивалась, как частичная потеря экспрессии данного гена. Ограничение метода: нет стандартизированных методик по оценки окрашивания (субъективная оценка окрашивания).

3. MSI: MLH1 PMS2 MSH6 MSH2 – отсутствие окрашивания ядер оценивалось как отсутствие экспрессии данного гена. При выпадении одного из генов системы репарации ДНК образец считался с дефицитом микросателлитной стабильности (dMMR). Все случаи MSI подтверждены методом секвенирования нового поколения (NGS, next generation sequencing) в молекулярно-генетической лаборатории г. Новосибирска.

4. ARID 1a – отсутствие окрашивания ядер оценивалось как отсутствие экспрессии данного гена. Наличие окрашенных и неокрашенных ядер в препарате оценивалась, как частичная потеря экспрессии данного гена.

Количественные показатели:

1. Рецепторы к эстрогенам, прогестеронам. Экспрессия эстрогеновых и прогестероновых рецепторов оценивалась полуколичественно при помощи подсчета процента позитивных раковых клеток эндометриальных желез.

2. Ki-67 – проводили подсчет соотношения окрашенных ядер на 300 клеток при увеличении на 400.

3. β -катенин: качественно оценивалось окрашивание мембраны, цитоплазмы и ядер, фиксировалось наличие цитоплазматическо ядерного перехода. Количественно оценивалось наличие окрашенных ядер раковых клеток (проводили подсчет соотношения окрашенных ядер на 300 клеток при увеличении на 400).

4. PDL с подсчетом CPS (combined positive score): оценивалось как отношение количества клеток с экспрессией PD-L1 в опухоли, лимфоцитах, макрофагах к общему количеству опухолевых клеток, умноженное на 100.

2.4 Статистические методы исследования

Анализ собственных данных производился при помощи статистической программы IBM SPSS Statistic 27.

Описательная статистика количественных показателей, таких как возраст, индекс массы тела, количество беременностей, родов, аборт, индекс пролиферативной активности Ki-67, β -catenin и PDL1 рассчитывался с использованием стандартных понятий: средние значения, отклонения, процентный состав, медианы и квартили.

Анализ линейных переменных проводился при помощи дисперсионного метода ANOVA. Так как все линейные переменные имели ненормальное распределение, их анализ проводился с использованием Univariate General Linear Model (UnANOVA) после ранжирования переменных (на рангах). Для сравнения линейных переменных между гистологическими группами был использован непараметрический тест Kruskal-Wallis (KW) и Pairwise. Анализ номинальных переменных при сравнении их частотного распределения по гистологическим заключениям представлен согласно результатам тестов Pearson chi-square/ χ^2 или Fisher's Exact test.

Критерием статистической достоверности получаемых выводов считалась общепринятая в медицине величина $p < 0,05$. В тех случаях, когда тест (ChiSq или Fisher) показывал значимые различия ($p < 0,05$) между группами для ИГХ показателей добавлены расчеты отношения шансов, относительного риска, чувствительности и специфичности (Odd ration – OR, Relative Risk – RR, Sensitivity, Specificity). Биноминальные логистические регрессии были построены методом Forward Stepwise (Conditional).

Глава 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Структура заболеваний эндометрия в исследуемой группе 818 женщин

В ходе анализа гистологических заключений 818 пациенток были получены следующие результаты: патология эндометрия выявлена у 84% женщин, из них у 246 женщин (30%) выявлена гиперплазия эндометрия без атипии, у 34 пациенток (4%) диагностирована атипичная гиперплазия эндометрия, у 78 (10%) – аденокарцинома эндометрия, у большинства пациенток – 328 (40%) установлен диагноз полип эндометрия (рисунок 3).



Рисунок 3 – Структура заболеваний эндометрия
в исследуемой группе 818 пациенток

Средний возраст пациенток с ГЭ без атипии составил 46 ± 7 лет, с АГЭ – 52 ± 10 лет, с РЭ – 60 ± 12 лет (рисунок 4).

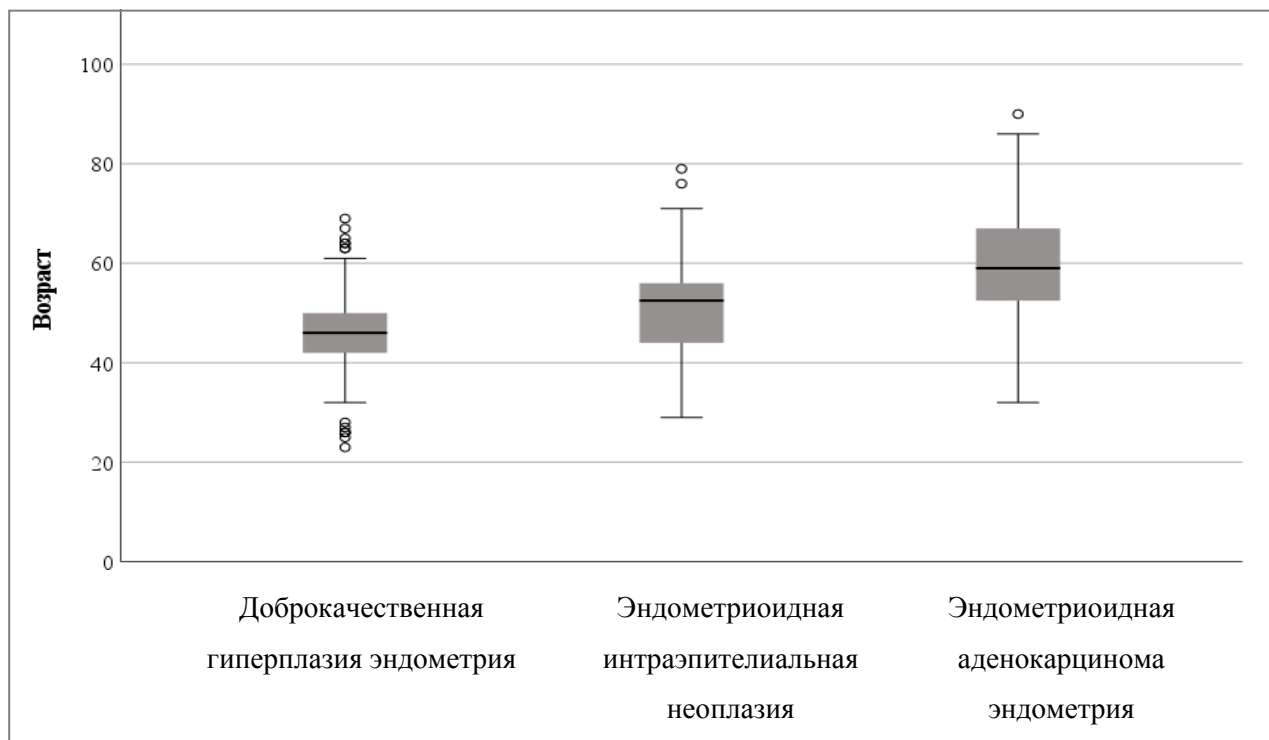


Рисунок 4 – Возрастное распределение пациенток с гиперпластическими процессами и аденокарциномой эндометрия

Возраст пациенток с доброкачественной ГЭ меньше по сравнению с больными АГЭ ($p < 0,001$) и РЭ ($p < 0,001$), при этом возраст пациенток группы АГЭ меньше группы РЭ ($p = 0,002$).

Частота возникновения различной патологии эндометрия различалась между периодами старения женской репродуктивной системы ($p < 0,001$): ГЭ чаще встречалась у женщин в репродуктивном периоде по сравнению с АГЭ и РЭ, которые были более характерны для женщин в постменопаузе. АГЭ чаще встречалась в репродуктивном и переходном периодах по сравнению с РЭ, более частого в постменопаузе (рисунок 5).



Рисунок 5 – Частота встречаемости эндометриальной гиперплазии и аденокарциномы в зависимости от этапа старения женской репродуктивной системы

3.2 Клинико-морфологические особенности доброкачественной эндометриальной гиперплазии, эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии и эндометриоидного рака эндометрия

После морфологического пересмотра материала и подготовки мультиблоков для проведения ИГХ исследования в окончательную выборку вошло 107 женщин: 35 с диагнозом гиперплазия эндометрия без

атипии, 36 – с ЭИН и 36 – с диагнозом эндометриоидная аденокарцинома эндометрия. 291 пациентка не вошла в исследование по ряду причин: недоступность гистологического материала, недостаточность или неадекватность материала после изготовления мультиблоков, другие гистологические типы рака эндометрия (серозная аденокарцинома, светлоклеточная аденокарцинома) и другие изменения эндометрия (нарушенная пролиферация эндометрий, секреторный эндометрий, муцинозная пролиферации), которые не были целью изучения данной работы.

Клинико-anamнестические характеристики групп.

1 группа: пациентки с диагнозом эндометриальная гиперплазия без атипии (ГЭ без атипии)

Группа пациенток с гиперплазией эндометрия без атипии составила 35 женщин. Средний возраст данной группы составил 46 ± 6 лет. Из них 11 (31%) женщин были репродуктивного возраста, 22 женщины (63%) в переходном периоде и 2 (6%) в постменопаузе. Большинство из них имели жалобы на АМК – 83% (из них 39% были с лабораторно подтвержденной анемией (гемоглобин ниже 120 г\л)), остальные не предъявляли жалоб (таблица 5). Показанием к морфологическому исследованию в этом случае являлись данные ультразвукографии: несоответствие толщины и структуры эндометрия фазе цикла.

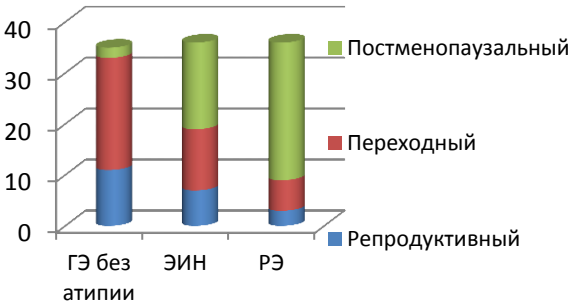
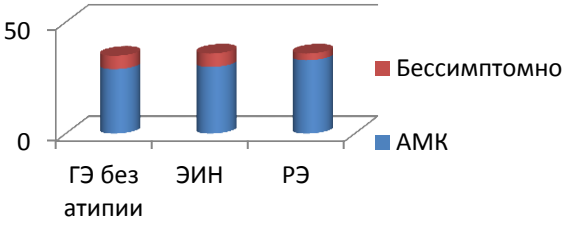
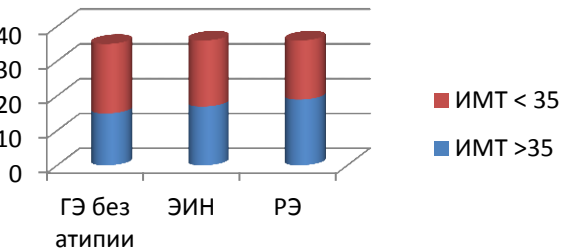
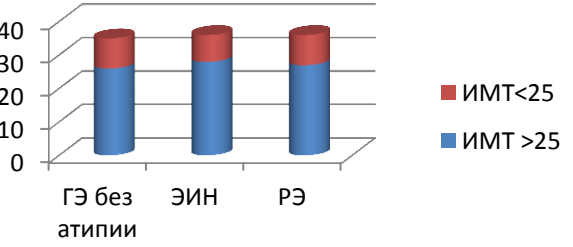
Среди факторов риска развития гиперплазии и неоплазии эндометрия в данной группе наиболее часто встречались ожирение в 60% случаев и избыточная масса тела в 26% случаев, а оба фактора соответственно присутствовали практически у всех женщин 86% случаев. Средний ИМТ составил $29 \pm 7 \text{ кг\м}^2$. Среднее количество беременностей 3 ± 2 , из них в среднем 1 ± 1 роды и 2 ± 2 аборта. Никто из исследуемых женщин не страдал сахарным диабетом. Гипертоническая болезнь встречалась у 31% женщин, АИТ – у 11% (таблица 5).

Среди репродуктивных факторов риска в 11% случаев (у 4 пациенток) отмечено раннее начало менструации (раньше 11 лет), в 14% (у 5 пациенток) наблюдалось бесплодие (таблица 5).

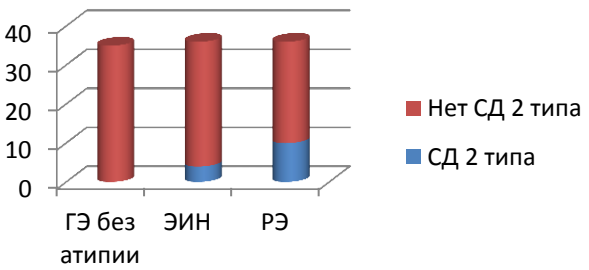
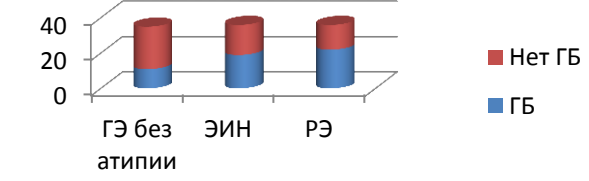
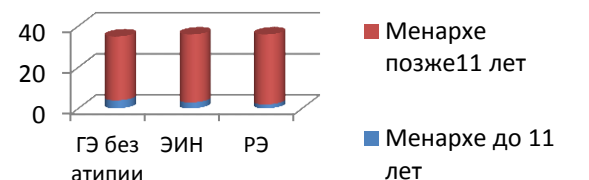
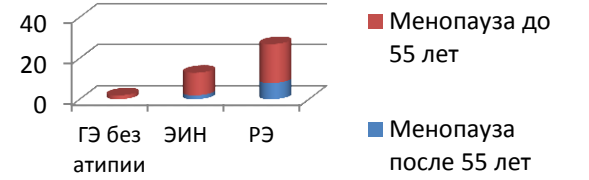
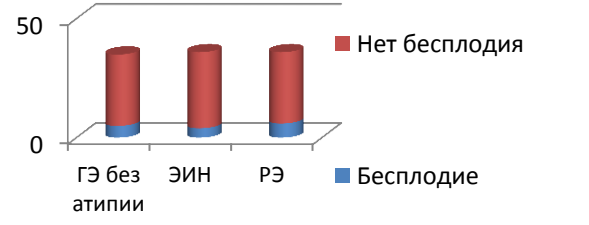
Таблица 5 – Клинические показатели у пациенток с гиперплазией эндометрия без атипии, эндометриоидной интраэпителиальной неоплазией и эндометриоидной аденокарциномой эндометрия

Параметр	Показатели	ГЭ без атипии	ЭИН	РЭ
Возраст	Среднее значение	46	53	61
	Стандартное отклонение	6	10	13
	Квартиль 25	44	47	53
	Квартиль 75	50	60	68
ИМТ	Среднее значения	29	30	31
	Стандартное отклонение	7	7	8
	Квартиль 25	25	25	25
	Квартиль 75	32	35	35
Беременности	Среднее значение	3	3	2
	Стандартное отклонение	2	2	2
	Квартиль 25	1	2	1
	Квартиль 75	4	3	4
Роды	Среднее значение	1	1	1
	Стандартное отклонение	1	1	1
	Квартиль 25	1	1	1
	Квартиль 75	1	1	2
Аборты	Среднее значение	2	1	1
	Стандартное отклонение	2	2	1
	Квартиль 25	0	0	0
	Квартиль 75	2	2	2

Продолжение таблицы 5

Параметр	Показатели	ГЭ без атипии	ЭИН	РЭ
Период репродуктивного старения 	Репродуктивный	11 (31%)	7 (20%)	3 (8%)
	Переходный	22 (63%)	12 (33%)	6 (17%)
	Постменопаузальный	2 (6%)	17 (47%)	27 (75%)
Жалобы 	Аномальные маточные кровотечения	29 (83%)	30 (83%)	33 (92%)
	Отсутствие жалоб	6 (17%)	6 (17%)	3 (8%)
Ожирение 	Есть	15 (43%)	17 (47%)	19 (53%)
	Нет	20 (57%)	19 (53%)	17 (47%)
Избыточная масса тела 	Есть	26 (74%)	28 (78%)	27 (75%)
	Нет	9 (26%)	8 (22%)	9 (25%)

Продолжение таблицы 5

Параметр	Показатели	ГЭ без атипии	ЭИН	РЭ
Сахарный диабет 2 типа 	Есть	0	4 (11%)	10 (28%)
	Нет	35 (100%)	32 (89%)	26 (72%)
Гипертоническая болезнь 	Есть	11 (54%)	19 (53%)	22 (61%)
	Нет	24 (46%)	17 (47%)	14 (39%)
Раннее менархе (до 11 лет) 	Есть	4 (11%)	3 (8%)	2 (6%)
	Нет	31 (89%)	33 (92%)	34 (94%)
Поздняя менопауза (55 лет и позднее) 	Есть	0	2	8
	Нет	2	11	19
Бесплодие 	Есть	5 (14%)	4 (11%)	6 (17%)
	Нет	30 (86%)	32 (89%)	30 (83%)

Данные о приеме КОК у данной выборки ограничены, достоверно известно, что только 2 женщины получали КОК более 3 лет. Про остальных женщин информация о приеме и продолжительности приема отсутствует.

Хочется подчеркнуть, что у 10 женщин (29%) гиперплазия эндометрия носит рецидивирующий характер, и в анамнезе уже были зафиксированы случаи гистологически подтвержденной ГЭ без атипии 3-7 лет назад.

При морфологическом анализе материала выявлены расхождения в диагнозе согласно заключениям разных патоморфологов у 3 женщин (9% случаев). У одной из пациенток первоначально по данным гистологического заключения не была выявлена ГЭ, а лишь эндометрий пролиферативного типа. У двух других наблюдалась гипердиагностика: поставлен диагноз АГЭ, однако при пересмотре подтвердилась ГЭ без атипии (рисунок 6).

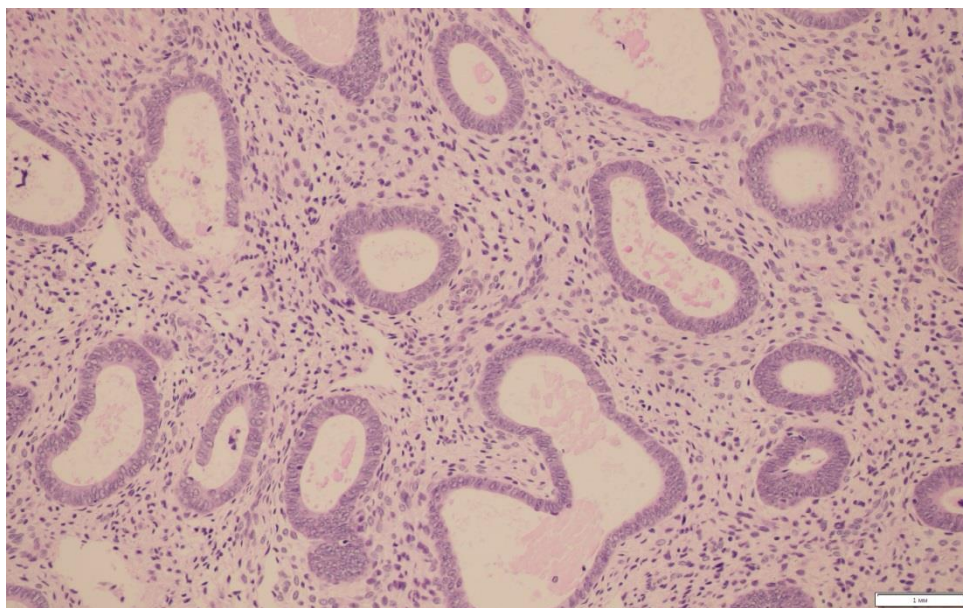


Рисунок 6 – Препарат эндометриальная гиперплазия без атипии, окраска гематоксилин эозин, $\times 200$

У одной из пациенток с первоначальным диагнозом АГЭ наблюдается рецидивирующая гиперплазия эндометрия. С 2016 года у пациентки было проведено 5 гистероскопий с отдельным диагностическим выскабливанием полости матки и цервикального канала. По данным гистологического

заклучения подтверждалась ГЭ без атипии, 2 раза в сочетании с полипом эндометрия. Пациентка находится под динамическим наблюдением. На момент осмотра в 2021 году жалоб на АМК у пациентки нет, по данным ультразвукового исследования эндометрий соответствует постменопаузе, толщина его не превышает 4 мм. Вторая пациентка с 2016 года отмечает отсутствие менструации, жалоб не предъявляет, по данным ультразвукового исследования малого таза патологии эндометрия не выявлено.

Наблюдение за данной группой пациенток проводилось посредством телефонного опроса (31 пациентка опрошены через 5 лет от момента первичной оценки эндометрия, 1 пациентка через 3 года, с 2 пациентками связаться не удалось, 1 пациентка включена в исследование в 2021 году). В 6 случаях выполнялось повторная морфологическая оценка эндометрия в интервале от 2-5 лет. Ни у одной из пациенток не была выявлена малигнизация ГЭ.

2 группа: пациентки с диагнозом эндометриодная интраэпителиальная неоплазия/атипическая эндометриальная гиперплазия (ЭИН/АГЭ)

Во вторую группу включено 36 пациенток с морфологически подтвержденным диагнозом – эндометриодная интраэпителиальная неоплазия\ атипическая эндометриальная гиперплазия (рисунок 7).

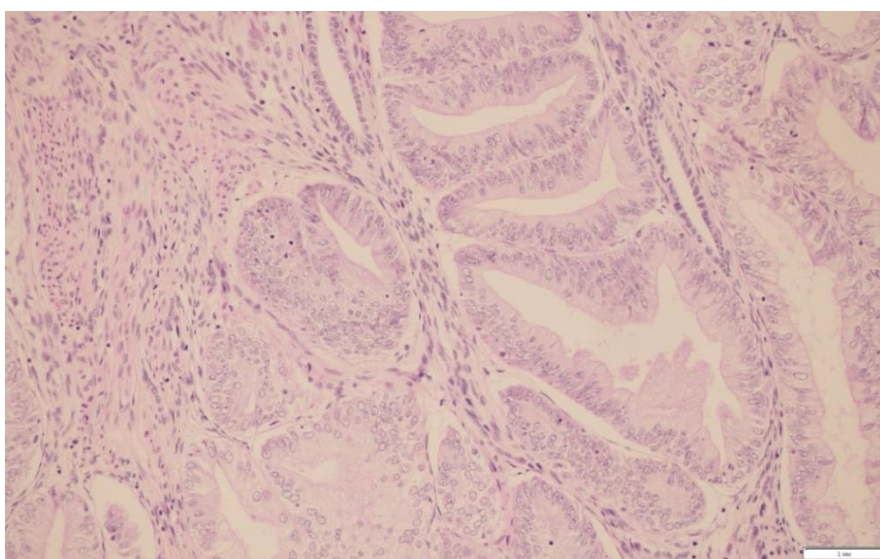


Рисунок 7 – Препарат эндометриодная интраэпителиальная неоплазия, окраска гематоксилин эозин, ×200

Эту группу составили женщины со средним возрастом 53 ± 10 лет. 7 женщин (19%) находились в репродуктивном периоде, 12 (33%) – в переходном периоде, 17 (48%) – в постменопаузе. В 83% женщины предъявляли жалобы на АМК (у 30% из них были признаки анемии гемоглобин ниже 120 г\l). Наиболее часто из всех факторов риска развития рака эндометрия у данной группы встречались ожирение и избыточная масса тела. Они выявлялись у 75% исследуемых женщин, средний показатель ИМТ составил $30 \pm 7 \text{ кг\m}^2$ (таблица 5).

Остальные соматические факторы риска встречались реже: ГБ у 53% (у 19 женщин), СД у 11% (4 пациентки), АИТ у 31% (11 женщин).

Репродуктивные факторы риска: раннее менархе наблюдалось у 3 женщин (8%), бесплодие у 4 пациенток (11%).

Среднее количество беременностей у пациенток данной группы составило 3 ± 2 , количество родов 1 ± 1 , количество абортв 1 ± 2 (таблица 5).

Данных о приеме КОК не было ни у кого из пациенток.

В 3 случаях (8%) наблюдался рецидив гиперплазии эндометрия. Ранее полученные гистологические препараты выявляли ГЭ без атипии (гистологические результаты от 2006 г., от 2015 г., от 2018 г.). В 92% предраковое заболевание эндометрия диагностировано впервые без предшествующих эпизодов ГЭ без атипии.

Следует подчеркнуть, что при морфологическом пересмотре расхождение в диагнозах было выявлено в 42% случаев (у 15 женщин). У 7 женщин первоначально по данным гистологических результатов был поставлен диагноз ГЭ без атипии (то есть в 20% наблюдалась недооценка тяжести диагноза), а у 8 пациенток были зафиксированы случаи гипердиагностики состояния и поставлен диагноз РЭ вместо ЭИН (22%). В 11 (5 гипердиагностика и 6 гиподиагностика) из 15 случаев расхождения диагнозов было выявлено у двух или более патоморфологов, то есть в 31% всех исследуемых случаев. У 4 пациенток (11% от всех женщин с ЭИН) заключение, полученное после анализа биопсийного материала, отличалось от такового, полученного после операции (1 случай гиподиагностики и 3 -гипердиагностики).

У большинства пациенток с диагнозом ЭИН была выполнена гистерэктомия (33 женщины). 2 пациенткам установлена внутриматочная левоноргестерел продуцирующая система, на фоне которой у больных в течение 3 лет наблюдения зафиксирован регресс заболевания. У одной из пациенток было зафиксировано прогрессирование заболевания до эндометриоидной аденокарциномы: в 2016 году ошибочно поставлен диагноз ГЭ без атипии вместо ЭИН (один из случаев гиподиагностики ЭИН), в 2020 году в связи с жалобами на АМК проведена гистероскопия с морфологическим исследованием материала – установлен диагноз высокодифференцированная аденокарцинома эндометрия с инвазией в миометрий менее 1/2, выполнена гистерэктомия – диагноз подтвержден.

3 группа: пациентки с диагнозом эндометриоидная аденокарцинома эндометрия

Группа пациенток с морфологически подтвержденным диагнозом аденокарциномой эндометрия (рисунок 8) составила 36 женщин.

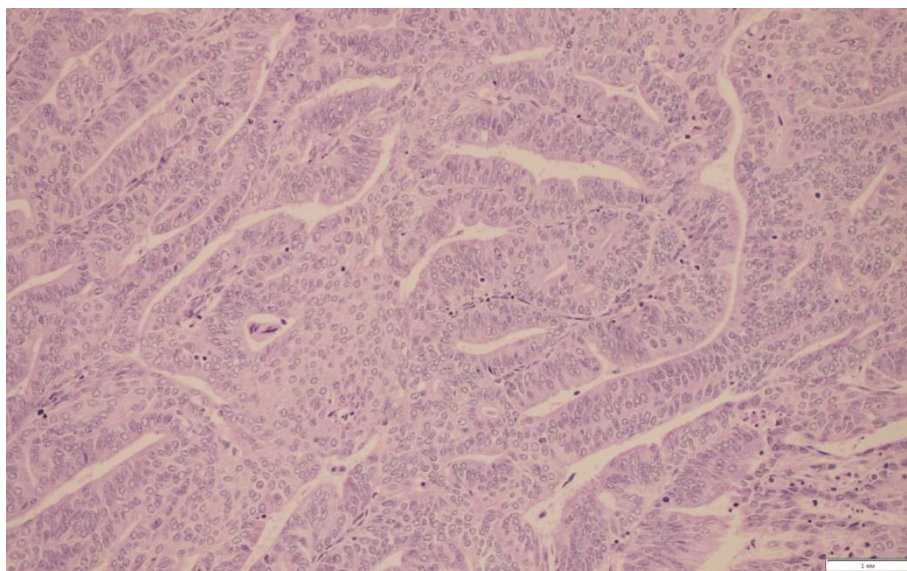


Рисунок 8 – Препарат эндометриоидная аденокарцинома эндометрия, окраска гематоксилин эозин, ×200

У 31 пациентки (86%) была установлена 1 стадия заболевания, из них в 81% случаев наблюдалась умеренная степени дифференцировки опухоли,

в 16% – высокодифференцированная опухоль и в 3% – низкодифференцированный рак. У 3 пациенток (8%) была выявлена умереннодифференцированная аденокарцинома эндометрия 2 стадии заболевания. У 2 больных (6%) – 3 стадия заболевания (умеренно и низкодифференцированные опухоли).

Средний возраст данной группы составил 61 ± 13 лет. 75% женщин (27) находились в периоде постменопаузы, 8% (3 женщины) были репродуктивного возраста и 17% (6 женщин) в переходном периоде. 92% предъявляли жалобы на АМК (из них у 30% была выявлена анемия) (таблица 5).

Средний ИМТ группы был 31 ± 8 кг/м². 75% (27) женщин имели избыточную массу тела, 53% (19) имели ожирение. Только 25% имели нормальный вес (таблица 5).

ГБ встречалась у 19 женщин 53% случаев, СД – у 4 женщин 11%, АИТ страдали 11 женщин (31%) (таблица 5).

Репродуктивные факторы риска: раннее менархе у 2 женщин (6%), бесплодием страдали 6 женщин (17%), у 9 из 28 была поздняя менопауза (32%). Среднее количество беременностей у женщин этой группы составило 2 ± 2 , родов 1 ± 1 , абортов 1 ± 1 (таблица 5).

У 3 женщин (8%) до установления диагноза рак эндометрия в анамнезе была ГЭ без атипии.

3 летняя выживаемость пациенток с РЭ составила 94%. 2 случая гибели больных были связаны со стадией заболевания (1 пациентка с 3 стадией), у второй пациентки был выявлен ПМР: рак молочный железы в сочетании с эндометриальным раком.

В 5 случаях (14%) при пересмотре морфологического материала было выявлено расхождение диагноза. Во всех случаях была гиподиагностика заболевания эндометрия. У 4 женщин разные патоморфологи дали разные заключения, в одном случае диагноз расходился в случае биопсийного и операционного материала.

Сравнительная характеристика групп по клиническим параметрам

После проведенного статистического анализа всех клинических показателей были выявлены следующие статистически значимые различия ($p < 0,05$).

Возраст значительно отличался во всех трех группах. У женщин с диагнозом ГЭ без атипии средний возраст составил 46 ± 6 лет, в группе пациенток с ЭИН средний возраст составил 53 ± 10 лет, в группе больных РЭ средний возраст был 61 ± 13 лет (рисунок 9).

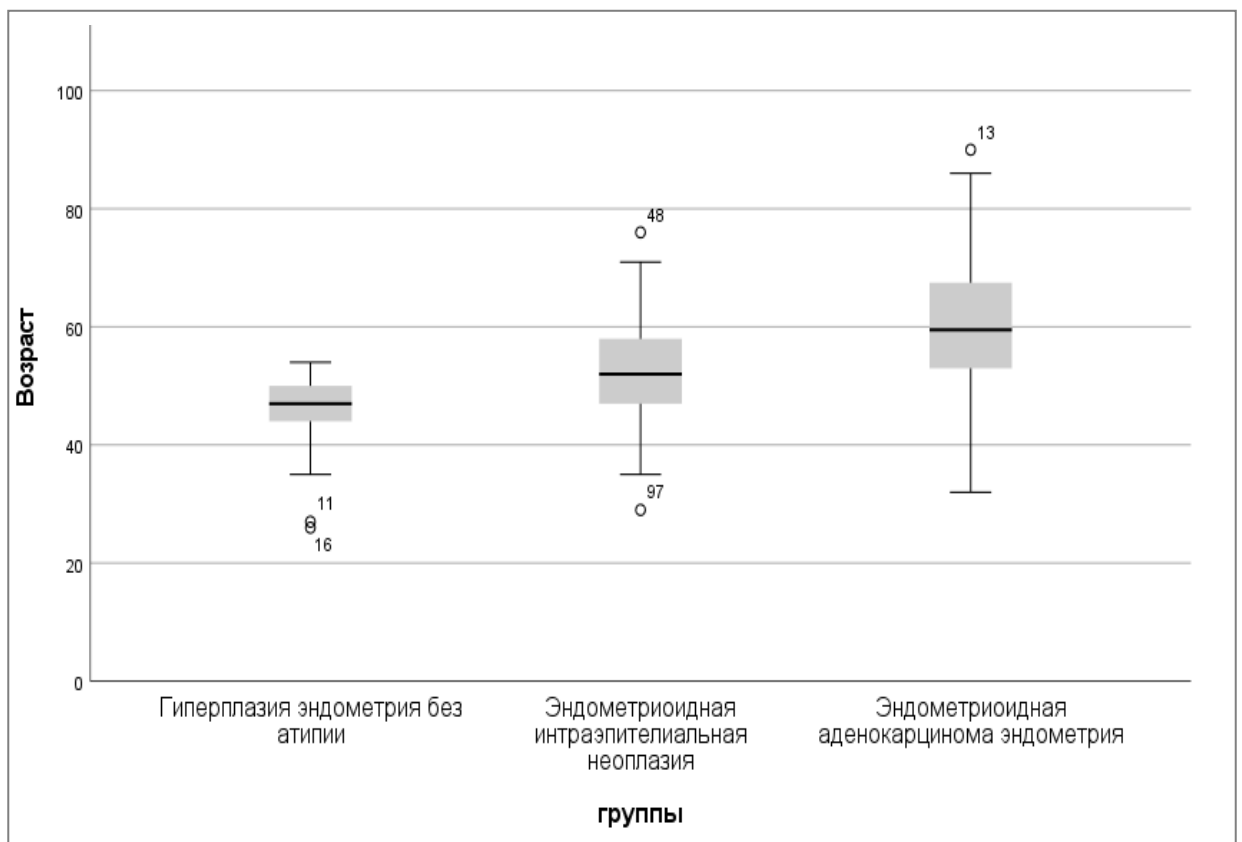


Рисунок 9 – Возрастное распределение пациенток с различной патологией эндометрия

Частота возникновения рака эндометрия у женщин после 55 выше по сравнению с развитием ГЭ ($p < 0,001$) и ЭИН ($p = 0,018$) у женщин той же возрастной группы. В группе старше 55 лет чаще диагностировалась ЭИН, чем ГЭ ($p < 0,001$).

При анализе стадий репродуктивного старения женщин получились следующие результаты: ЭИН чаще встречалась у женщин в постменопаузе ($p=0,003$) и переходном периоде ($p=0,008$), чем доброкачественная ГЭ. В репродуктивном периоде наиболее часто встречалась эндометриальная гиперплазия без атипии, нежели ЭИН ($p<0,001$). РЭ по сравнению с ГЭ возникал чаще в переходном периоде ($p<0,001$) и постменопаузе ($p<0,001$) и реже в репродуктивном периоде ($p=0,014$). Рак эндометрия по сравнению с ЭИН возникал чаще в постменопаузе ($p=0,001$) и реже – в репродуктивном периоде ($p=0,007$), тогда как в переходном этапе эти состояния возникали с одинаковой частотой.

Также были выявлены соматические заболевания со значимыми различиями по частоте встречаемости при разных патологиях эндометрия.

Рак эндометрия возникал чаще ($p=0,001$), чем ГЭ без атипии у пациенток с сахарным диабетом второго типа, и реже – при отсутствии диабета ($p<0,001$).

У пациенток с гипертонической болезнью чаще развивался рак эндометрия, нежели ГЭ без атипии и реже – при ее отсутствии ($p=0,017$).

Остальные учтенные клинические показатели не оказывали значимого влияния на частоту возникновения РЭ, предрака или ГЭ (таблица 5).

Не было выявлено достоверных различий в ИМТ, количестве беременностей, аборт и родов в трех исследуемых группах (рисунок 10).

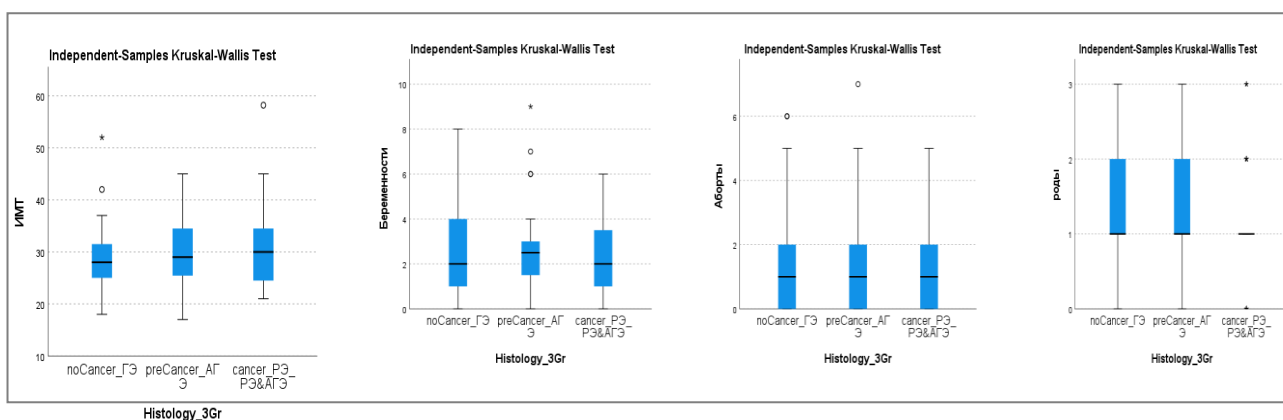


Рисунок 10 – ИМТ, количество беременностей, аборт и родов у пациенток с ГЭ без атипии, ЭИН и РЭ

**Расхождение диагнозов гиперплазия эндометрия без атипии,
атипическая гиперплазия эндометрия и аденокарцинома эндометрия
при морфологической оценке**

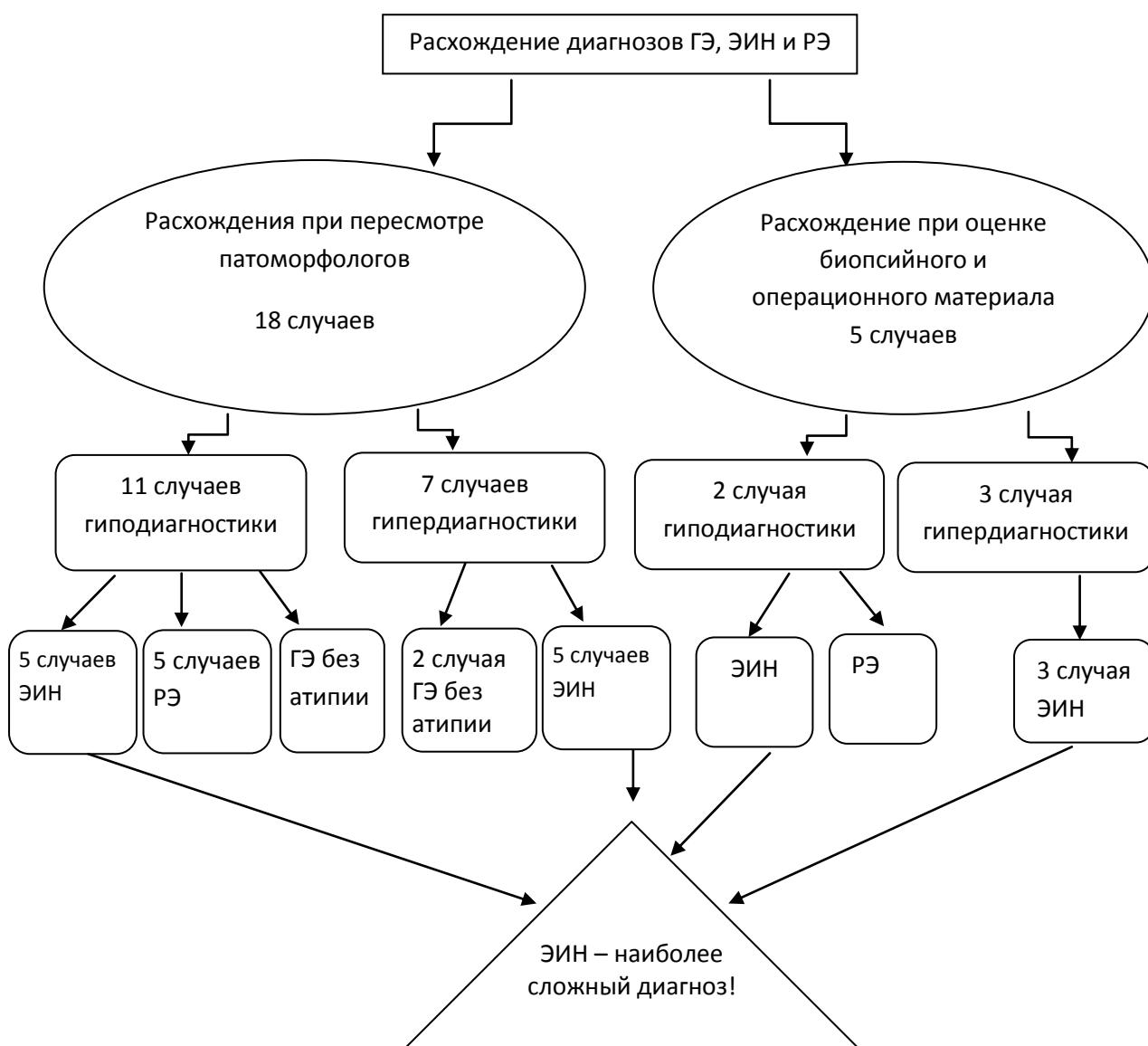
Всего в окончательную работу вошло 107 гистологических образцов, которые были подвержены пересмотру в специализированном онкологическом учреждении специалистом онкопатологом с учетом морфологических критериев ВОЗ 2014 года. Из них в 23 случаях (21%) было установлено расхождение в патологоанатомическом диагнозе. Все эти случаи проанализированы с учетом полученных ИГХ данных и оценки состояния пациенток через 5 лет от момента установления первоначального диагноза. В 57% (13 случаев) была допущена гипердиагностика заболевания эндометрия, в 43% – гиподиагностика (рисунок 11).

Далее были проанализированы условия, при которых имелись диагностические расхождения: в одних случаях разные диагнозы устанавливались при пересмотре одного и того же материала разными патоморфологами от двух до четырех (18 случаев), в других – при гистологическом анализе биопсийного и операционного материала (5 случаев) (блок схема 1). В 3 случаях из 5 была выявлена переоценка степени эндометриальной атипии: в биопсийном материале выставлен диагноз РЭ, а в операционном материале – ЭИН. В одном случае после оценки биопсийного материала поставлен диагноз ГЭ без атипии, после операции – ЭИН, в одном случае степень атипии была недооценена: при исследовании биопсийного материала эндометрия установлен диагноз ЭИН, в послеоперационном материале выявлен РЭ. Из 18 случаев у 11 пациенток были расхождения диагнозов в сторону гиподиагностики: в 5 случаях не был установлен диагноз ЭИН, ответом гистологического заключения была ГЭ без атипии; в 5 случаях была поставлена ЭИН вместо РЭ; в 1 случае была упущена ГЭ без атипии, эндометрий описан без патологических изменений. В 7 случаях была допущена гипердиагностика: в 5 случаях были расхождения в диагнозах ЭИН и РЭ, в 2 случаях ЭИН и ГЭ без атипии.



Рисунок 11 – Случаи расхождения диагнозов ГЭ, ЭИН и РЭ при морфологическом пересмотре

Блок схема 1 – Структура расхождения диагнозов ГЭ, ЭИН и РЭ



При статистическом сравнении всех гистологических групп по частоте расхождения диагнозов наиболее часто встречаются ошибки в группе ЭИН. В нашем исследовании у 15 из 36 женщин с диагнозом ЭИН (42%), первоначально имелись сложности в постановке диагноза. При применении ИГХ маркеров диагностических ошибок удалось бы избежать в 87% случаев. Вышепредставленные данные и отдельные клинические случаи подтверждают целесообразность применения ИГХ маркеров для диагностики атипичической формы эндометриальной гиперплазии, которая является наиболее сложной для диагностики [1].

Группа репродуктивного возраста

Отдельного внимания заслуживают женщины репродуктивного возраста. Из всех исследуемых пациенток женщины репродуктивного возраста составили 18% (19 человек). Их количество в зависимости от патологии эндометрия представлено на графике (рисунок 12).



Рисунок 12 – Доля женщин репродуктивного возраста в группах пациенток с разной патологией эндометрия

Среди пациенток с диагнозами предрак и начальный рак матки 14% случаев (10 больных) были репродуктивного возраста. Их средний возраст составил 39 ± 5 лет (с минимальным значением 29 лет и максимальным 44 года). У 4 из них установлен диагноз бесплодие (40%).

В 3 случаях у пациенток репродуктивного возраста наблюдалось расхождение в диагнозе. Одна из данных пациенток заслуживает отдельного описания в качестве клинического случая применения ИГХ маркеров для улучшения диагностического поиска при подозрении на гиперплазию и рак эндометрия.

Пациентка 44 года с диагнозом вторичное бесплодие была направлена для проведения диагностической гистероскопии с гистологическим исследованием соскоба полости матки в связи с подозрением на гиперплазию эндометрия по данным ультразвукового исследования органов малого таза. После проведенного морфологического исследования пациентке был поставлен диагноз атипичная гиперплазия эндометрия (ЭИН). Материал был пересмотрен в двух профильных учреждениях г. Москвы, где гистологическое заключение было подтверждено. Несмотря на репродуктивные планы женщины, ей было предложено оперативное лечение. Однако с учетом настойчивого желания пациентки реализовать репродуктивную функцию, от оперативного лечения она отказалась. Консервативная терапия также не проводилась. Через 6 месяцев от поставленного диагноза ей была выполнена повторная гистероскопия в связи с признаками полипа эндометрия и жалоб на АМК. Было проведено исследование нового материала и пересмотр первичных препаратов с ИГХ оценкой (РАХ2 и РТЕН). В пересмотренных препаратах обнаружены фокусы с участками «плоскоклеточной метаплазии», напоминающей участки атипичной гиперплазии, с позитивной реакцией на РАХ2 и РТЕН. Заключение: железистая гиперплазия эндометрия. Заключение после оценки нового гистологического материала: железистый полип эндометрия, эндометрий в фазе секреции. Таким образом, диагноз у данной пациентки после проведенных дополнительных исследований: Эндометриальная гиперплазия без атипии. Полип эндометрия без атипии.

Пациентке показано консервативное лечение с дальнейшей консультацией репродуктолога и реализацией репродуктивной функции. В течение 1 года после постановки диагноза пациентка находится под наблюдением, получает терапию препаратами прогестеронового ряда, патологии эндометрия на данный момент не выявлено, продолжается планирование беременности.

В данном клиническом примере ИГХ исследование стало ценным дополнительным фактором для более точной постановки диагноза гиперплазии эндометрия, что дало возможность избежать неоправданного радикального лечения.

3.3 Иммуногистохимические особенности доброкачественной эндометриальной гиперплазии, эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии и эндометриоидного рака эндометрия

1. ИГХ профиль доброкачественной эндометриальной гиперплазии:

При проведении ИГХ исследования выявлены следующие показатели: среднее значение показателя Ki-67 составило $13 \pm 9\%$ (минимальное значение 5%, максимальное 35%), рецепторы к эстрогену имели средние значения $95 \pm 5\%$ (минимальное значение 55%, а максимальное – 100%), рецепторы к прогестерону – $89 \pm 24\%$ (минимальное значение 2%, а максимальные – 100%), β -катенин - среднее значение составило $2 \pm 9\%$ (минимум 0, максимум 35%) (таблица 6).

ARID1a – у всех женщин в 100% случаях наблюдалась нормальная экспрессия этого гена.

Частичная потеря экспрессии PTEN наблюдалась у одной женщины (3%). У остальных (97%) экспрессия этого гена сохранена. Наблюдение за пациенткой в течение 3 лет не выявило прогрессирования заболевания на фоне действия Левоногестрел содержащей ВМС.

Выпадение генов MMR (MLH1, MSH6, PMS2, MSH2) не было выявлено ни в одном из случаев гиперплазии эндометрия без атипии.

Потеря экспрессии PAX 2 наблюдалась у 2 женщин (6%). Наблюдение за ними в течение 5 лет не выявило злокачественной трансформации ГЭ (таблица 6) [9].

2. ИГХ профиль эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии:

При проведении ИГХ исследования выявлены следующие показатели: среднее значение показателя Ki-67 составило $18 \pm 13\%$ (минимальное значением 0, а максимальное 55%). Рецепторы к эстрогену имели среднее значение $93 \pm 7\%$ (минимальное значение 60%, а максимальное – 100%). Рецепторы к прогестерону – $73 \pm 25\%$ (с минимальным значением 7, а максимальным – 100%). Среднее значение бета-катенина составило $10 \pm 22\%$, с минимальным нулевым показателем, а максимальным значением 95% (таблица 6).

ARID1a – у всех женщин в 100% случаев наблюдалась нормальная экспрессия этого гена. Потеря экспрессии гена PTEN наблюдалась у 24 пациенток (67% случаев). Микросателлитная нестабильность выявлена в 1 случае за счет выпадения генов PMS2 и MLH1 (таблица 6). Эти данные подтверждены методом секвенирования нового поколения NGS.

Выпадение PAX 2 было зафиксировано у 89% пациенток с диагнозом ЭИН (32 женщины) (таблица 6) [9].

3. ИГХ профиль эндометриоидной аденокарциномы эндометрия:

При проведении ИГХ выявлены следующие показатели: среднее значение Ki-67 составило $39 \pm 23\%$ (с минимальным значением 2%, максимальным 90%). Рецепторы к эстрогену имели среднее значение $75 \pm 30\%$ (с минимальным значением 0, а максимальным – 100%). Рецепторы к прогестерону – $54 \pm 31\%$ (с минимальным значением 0, а максимальным – 100%). Среднее значение β – катенина было $13 \pm 25\%$ (минимум 0, максимум 90%) (таблица 6).

Выпадение ARID1a наблюдалось у 33% женщин (12 случаев). Потеря экспрессии гена PTEN наблюдалась у 24 пациенток (67% случаев). Микросателлитная нестабильность выявлена в 13 случаях (33%), в 92% за счет выпадения генов PMS2 и MLH1 и в 8% (1 случай) за счет выпадения генов MSH6 и MSH2. Эти данные подтверждены, в том числе методом секвенирования нового поколения NGS (next generation sequencing).

Выпадение PAX 2 было зафиксировано у 86% пациенток с диагнозом ЭИН (31 женщины) (таблица 6) [9].

Таблица 6 – Сравнительная характеристика экспрессии основных маркеров при гиперпластических процессах эндометрия и эндометриоидной аденокарциноме [9]

ИГХ показатель	Признак	Группа 1 (доброкачественная ГЭ) 35	Группа 2 (ЭИН)36	Группа 3 (РЭ)36
Ki-67, %	среднее значение	13	18	39
	стандартное отклонение	9	13	23
	квартиль 25	5	10	19
	квартиль 75	20	25	53
Рецепторы к эстрогенам, %	среднее значение	95	93	75
	стандартное отклонение	9	7	30
	квартиль 25	95	90	65
	квартиль 75	100	98	97
Прогестероновые рецепторы, %	среднее значение	89	73	54
	стандартное отклонение	24	25	31
	квартиль 25	95	60	30
	квартиль 75	98	94	73
Ядерная экспрессия β - катенина, %	среднее значение	2	10	13
	стандартное отклонение	7	22	25
	квартиль 25	0	0	0
	квартиль 75	0	8	13
ARID1a	Наличие	35	36	24 (67%)
	Выпадение	0	0	12 (33%)
PTEN	Наличие	34 (97%)	12 (33%)	12 (33%)
	Выпадение	1 (3%)	24(67%)	24 (67%)
MSH6	Наличие	35	36	35 (97%)
	Выпадение	0	0	1 (3%)

Продолжение таблицы 6

ИГХ показатель	Признак	Группа 1 (доброкачественная ГЭ) 35	Группа 2 (ЭИН)36	Группа 3 (РЭ)36
MSH2	Наличие	35	36	35 (97%)
	Выпадение	0	0	1 (3%)
PMS2	Наличие	35	35 (97%)	24 (67%)
	Выпадение	0	1 (3%)	12 (33%)
MLH1	Наличие	35	35 (97%)	24 (67%)
	Выпадение	0	1 (3%)	12 (33%)
MSI	Наличие	35	35 (97%)	23 (64%)
	Выпадение	0	1 (3%)	13 (36%)
PAX2	Наличие	33 (94%)	4 (11%)	5 (14%)
	Выпадение	2 (6%)	32 (89%)	31 (86%)

Сравнительная характеристика групп по ИГХ параметрам

Проведено сравнение исследованных групп по экспрессии ИГХ маркеров. Результаты представлены в таблице 6.

При наличии значимых различий между группами ($p < 0,05$) по результатам теста (ChiSq или Fisher), произведены расчеты отношения шансов (OR), относительного риска (RR) чувствительности и специфичности (таблица 7).

Таблица 7 – Диагностическая точность ИГХ маркеров для дифференциации доброкачественных, предраковых и онкологических заболеваний эндометрия [9]

ИГХ маркер	Характеристика	ЭИН и РЭ	ГЭ и РЭ	ГЭ и ЭИН
ARID1a	OR	2,308	2,269	–
	Чувствительность	33%	33%	–
	Специфичность	97%	100%	–

Продолжение таблицы 7

ИГХ маркер	Характеристика	ЭИН и РЭ	ГЭ и РЭ	ГЭ и ЭИН
PTEN	ОР	Нет различий	3,7	3,7
	Чувствительность		67%	67%
	Специфичность		97%	97%
MSH6	Нет различий			
MSH2				
MLH1	ОР	2,269	2,269	Нет различий
	Чувствительность	33%	33%	
	Специфичность	97%	100%	
PMS2	ОР	2,269	2,269	Нет различий
	Чувствительность	33%	33%	
	Специфичность	97%	100%	
MSI	ОР	2,342	2,342	Нет различий
	Чувствительность	36%	36%	
	Специфичность	97%	100%	
PAX2	ОР	Нет различий	7,139	8,706
	Чувствительность		86%	89%
	Специфичность		94%	94%
Примечание – ОР – относительный риск; ГЭ – гиперплазия эндометрия без атипии; ЭИН – эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия; РЭ – эндометриоидная аденокарцинома эндометрия.				

Экспрессия гена ARID1a

Не было выявлено достоверных различий между группами ГЭ без атипии и ЭИН. Выпадение экспрессии гена ARID1a не наблюдалось ни в случаях ГЭ без атипии (рисунок 13), ни в случаях ЭИН (рисунок 14).

Выявлены достоверные различия между группами ЭИН и РЭ, ГЭ без атипии и РЭ по признаку потеря экспрессии ARID1a (оценивалось как отсутствие окрашивания при ИГХ анализе).

Потеря экспрессии ARID1a наиболее характерна для РЭ, встретилась в 67% всех исследуемых случаев РЭ (рисунок 15).

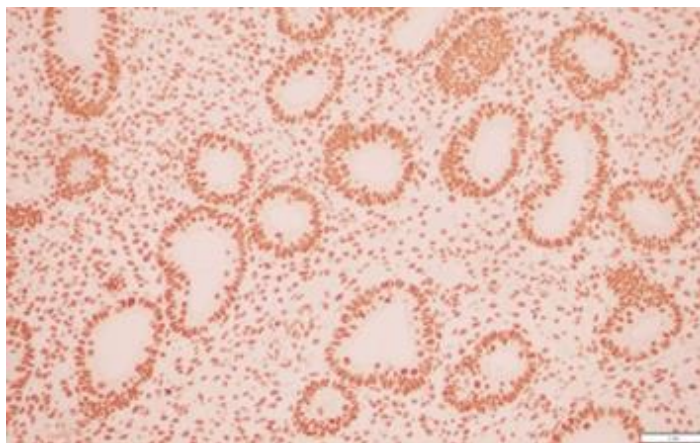
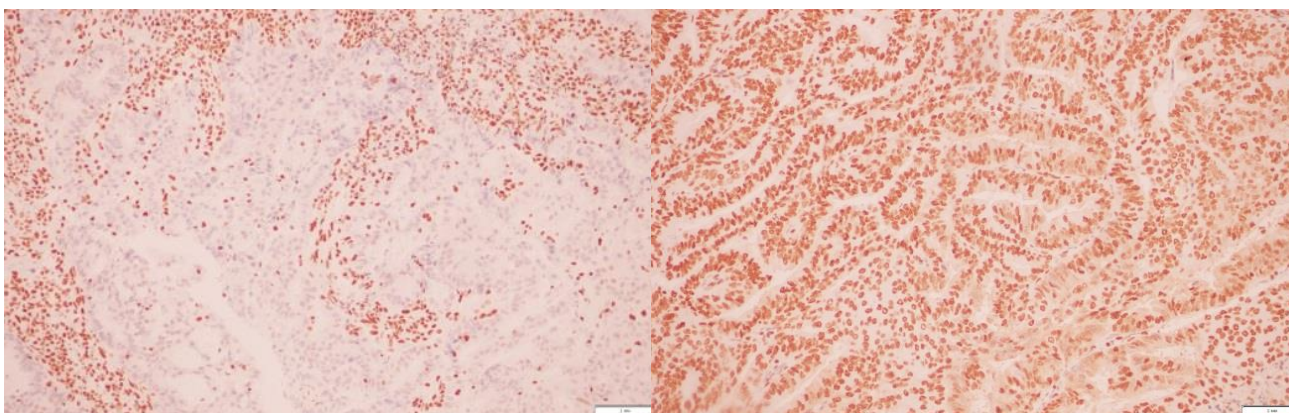


Рисунок 13 – ARID1a позитивное окрашивание в препарате эндометриальной гиперплазии без атипии, $\times 200$



Рисунок 14 – ARID1a позитивное окрашивание в препарате эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии, $\times 200$



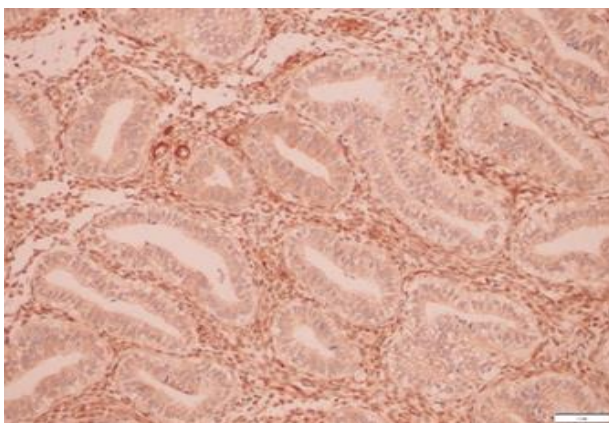
1 – негативное окрашивание (67% случаев); 2 – позитивное окрашивание (33% случаев).

Рисунок 15 – ARID1a окрашивание в опухолевых клетках в препарате эндометриодная аденокарцинома эндометрия, $\times 200$

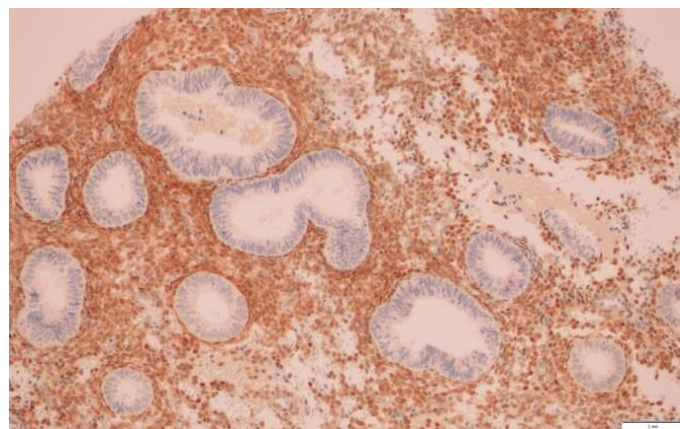
По полученным данным при выпадении ARID1a РЭ диагностируется в 2,3 раза чаще, чем ЭИН и ГЭ. При дифференциальной диагностике РЭ от ЭИН и РЭ от ГЭ данный маркер будет иметь одинаковую чувствительность – 33%, а специфичность – 97% и 100% соответственно (таблица 7).

Экспрессия гена PTEN

Потеря экспрессии PTEN зарегистрирована только в одном случае эндометриальной гиперплазии без атипии, все остальные образцы были с сохраненной экспрессией (рисунок 16).



PTEN позитивное окрашивание, ×200;



PTEN негативное окрашивание, ×200

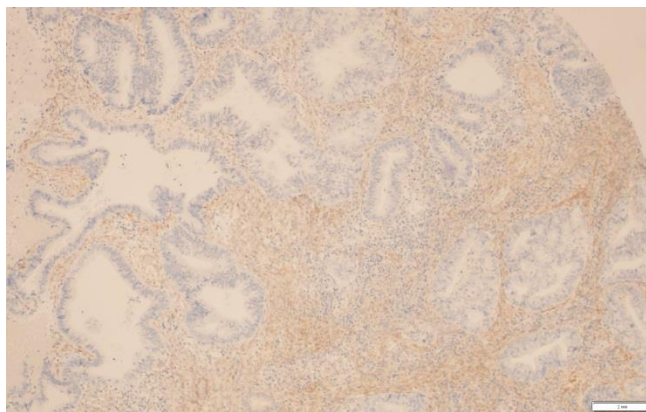
(1 случай – 3%).

Рисунок 16 – Экспрессия гена PTEN
в препарате эндометриальной гиперплазии без атипии

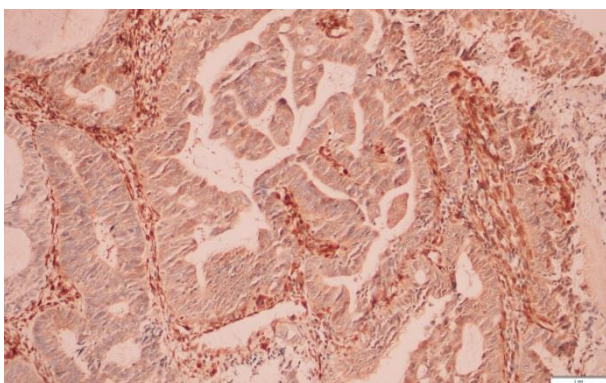
Не было выявлено достоверных различий выпадения PTEN в группах ЭИН и РЭ. Выявлены различия в группах: ГЭ и ЭИН, ГЭ и РЭ.

Потеря PTEN одинаково часто встречается в группах ЭИН и РЭ, в 67% случаев (рисунок 17).

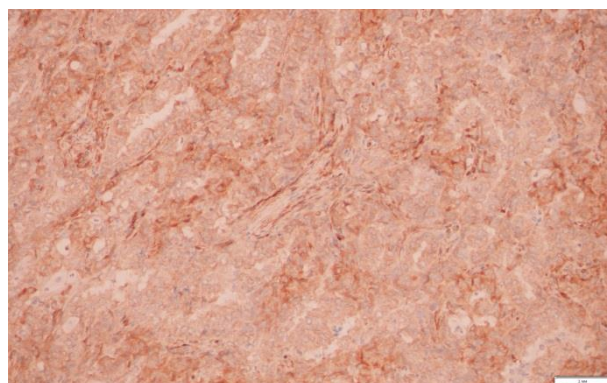
При выпадении PTEN предрак и рак эндометрия наблюдаются в 3,7 раз чаще, чем ГЭ.



PTEN негативное окрашивание в препарате аденокарцинома эндометрия с фокусами ЭИН,
×200;



PTEN позитивное окрашивание в препарате
ЭИН, ×200;



PTEN позитивное окрашивание в препарате
аденокарцинома эндометрия, ×200.

Рисунок 17 – Экспрессия гена PTEN в препаратах эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии и эндометриоидного рака эндометрия

При дифференциальной диагностике ЭИН и РЭ от ГЭ, чувствительность данного маркера составляет 67%, а специфичность 97% (таблица 7) [19].

Оценка статуса микросателлитной нестабильности

(экспрессия 4 генов: MSH6 и MSH2, PMS2 и MLH1)

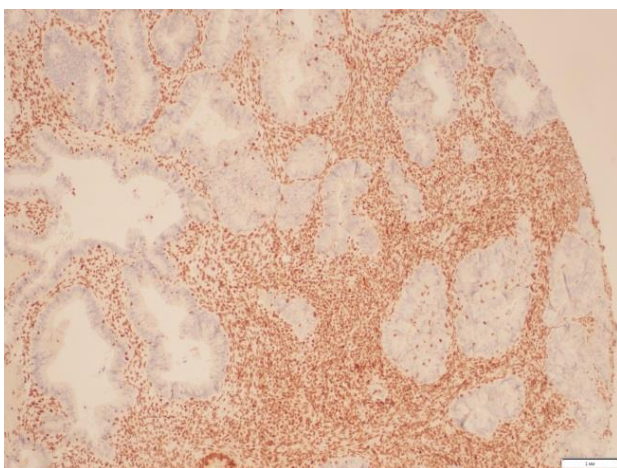
По парным генам MSH6 и MSH2 не было выявлено достоверных отличий в группах. Отсутствие окрашивания наблюдалось только в одном случае РЭ.

По генам PMS2 и MLH1 достоверные различия выявлены в группах ЭИН и РЭ, ГЭ и РЭ. В группах ГЭ и ЭИН различий не наблюдалось.

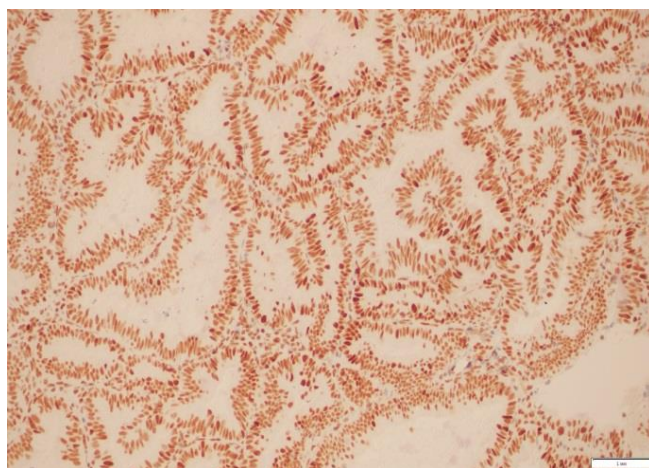
Относительный риск выявления РЭ при наличии потери PMS2 и MLH1 в 2,3 раза выше, чем выявление ГЭ и АГЭ.

При дифференциальной диагностике РЭ и ЭИН, РЭ и ГЭ чувствительность данных маркеров составляет 33%, а специфичность 97% и 100% соответственно (таблица 7).

MSI чаще встречается при РЭ (36% случаев) (рисунок 18), практически не встречается при ЭИН (1 случай) (рисунок 19), не встречается при ГЭ (рисунок 20). При выявлении MSI относительный риск выявления РЭ будет в 2,3 раза выше, чем выявления ЭИН и ГЭ.

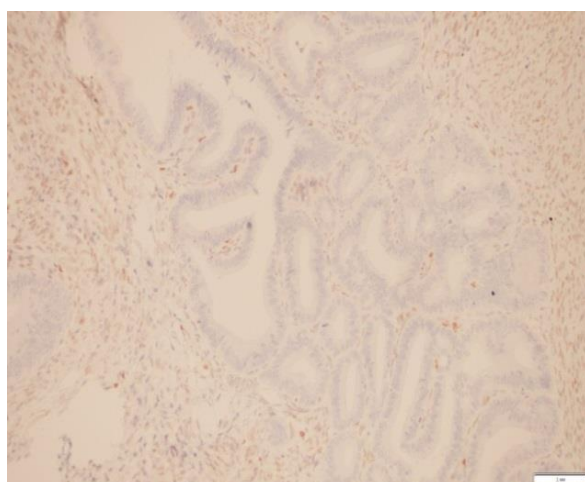


MLH1 негативное окрашивание, $\times 200$
(MSI – 36% случаев);

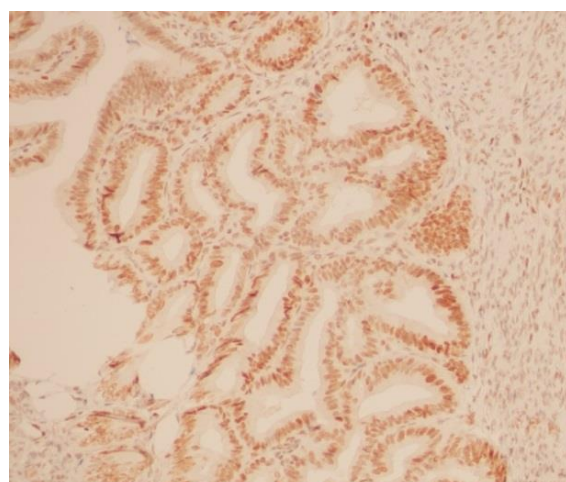


MSH6 позитивное окрашивание, $\times 200$
(без dMMR – 64% случаев).

Рисунок 18 – Микросателлитный статус в препаратах аденокарциномы эндометрия



MLH1 негативное окрашивание, $\times 200$
(MSI – 3% случаев);



MSH6 позитивное окрашивание, $\times 200$
(без dMMR – 97% случаев).

Рисунок 19 – Статус микросателлитной нестабильности в препаратах эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии

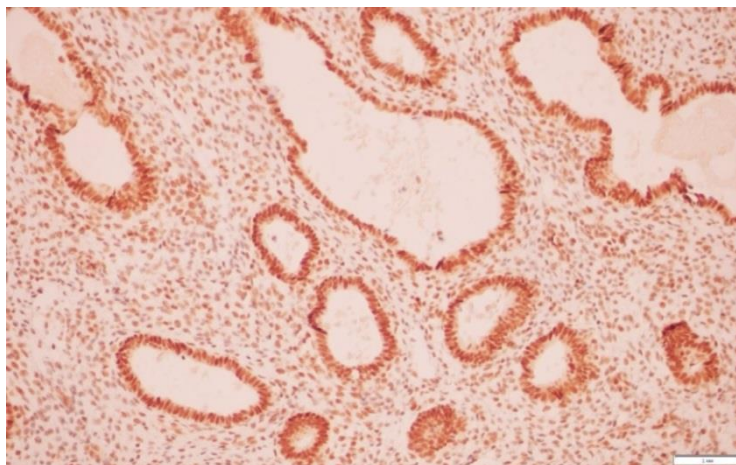
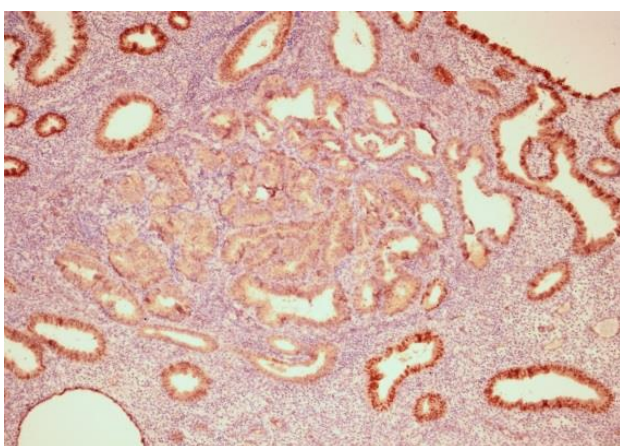


Рисунок 20 – MLH 1 позитивное окрашивание в препарате доброкачественной эндометриальной гиперплазии (без dMMR), ×200

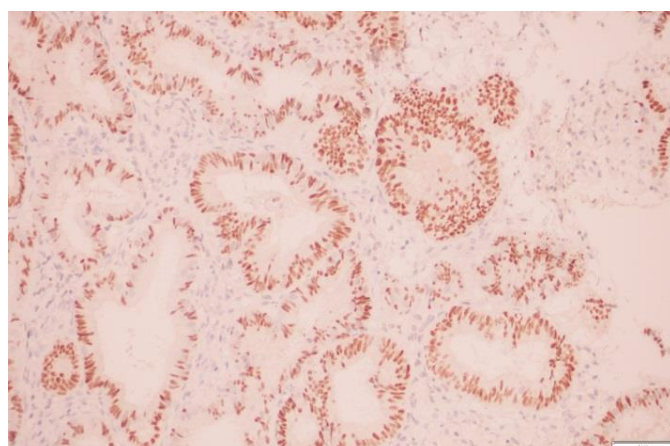
Чувствительность метода определения MSI в дифференциальной диагностике РЭ от ГЭ и ЭИН составила 36%, а специфичность 100% и 97% соответственно (таблица 7).

Экспрессия гена PAX2

Чаще всего выпадение экспрессии PAX2 (отсутствие окрашивания при ИГХ реакции) наблюдается в группах ЭИН (в 89% случаев) (рисунок 21) и РЭ (в 86% случаев) (рисунок 22), практически не встречается в группе ГЭ (выявлено только у 2 пациенток – 6%) (рисунок 23).

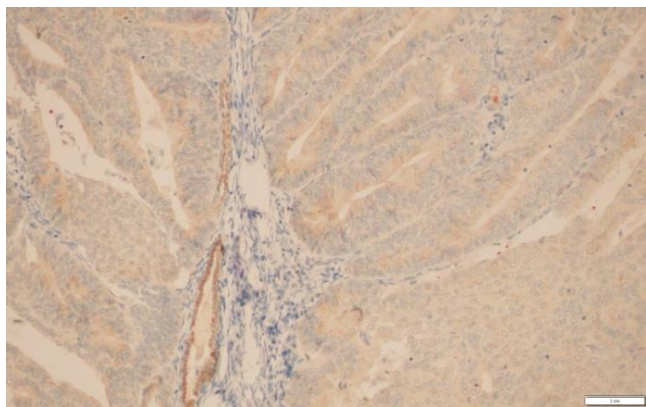


PAX 2 негативное окрашивание в фокусе ЭИН в полипе эндометрия, ×200;

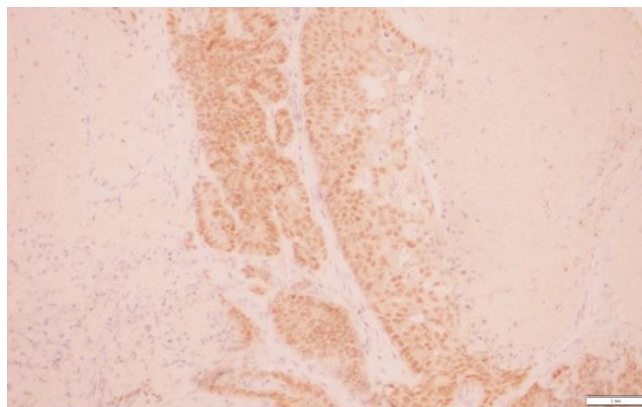


PAX 2 позитивное окрашивание, ×200.

Рисунок 21 – Иммуногистохимическое исследование PAX2 в препаратах эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии

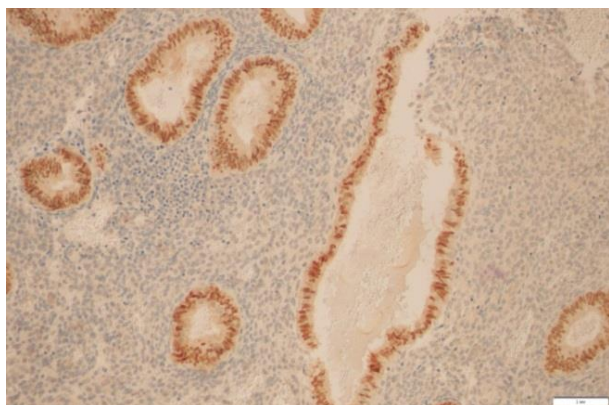


РАХ 2 негативное окрашивание, $\times 200$;

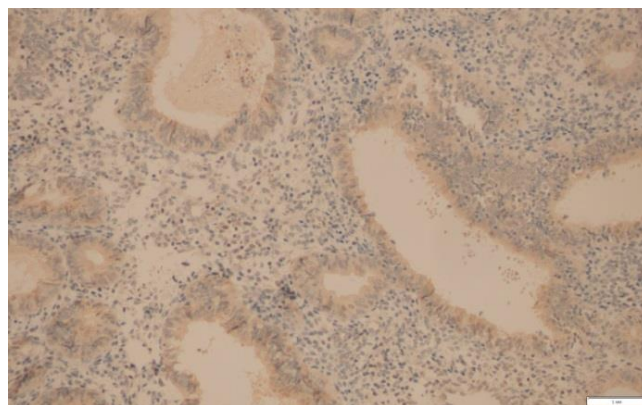


РАХ 2 позитивное окрашивание, $\times 200$.

Рисунок 22 – Иммуногистохимическое исследование Рах2
в препаратах эндометриоидной аденокарциномы эндометрия



РАХ 2 позитивное окрашивание,
 $\times 200$ (94% случаев);



РАХ 2 негативное окрашивание,
 $\times 200$ (6% случаев).

Рисунок 23 – Иммуногистохимическое исследование Рах2
в препаратах доброкачественной эндометриальной гиперплазии

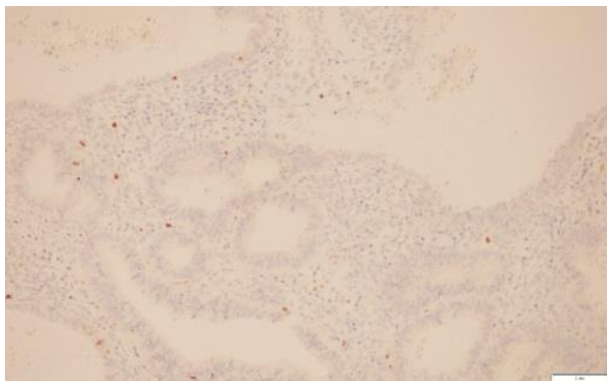
Относительный риск выявления ЭИН при выпадении РАХ2 составляет 8,7, а РЭ – 7,1 по сравнению с ГЭ.

Чувствительность данного маркера при дифференциальной диагностике ЭИН от ГЭ составила 89%, а специфичность 94%. При дифференциальной диагностике РЭ от ГЭ выявлена чувствительность 86%, а специфичность 94% (таблица 7) [19].

Экспрессия Ki-67

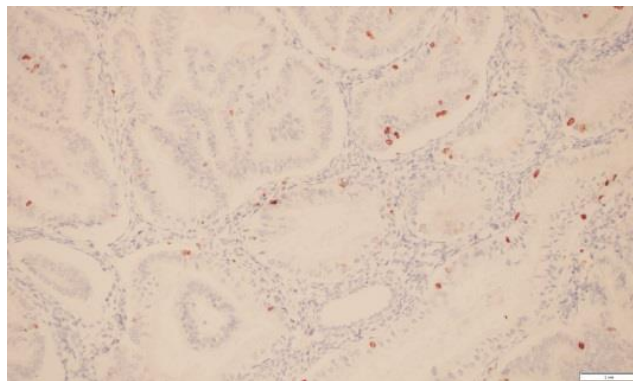
Показатель индекса пролиферации Ki-67 достоверно различался в трех исследуемых группах, с самым низким значением в группе ГЭ, с самым высоким в группе РЭ ($p=0,004$) (таблица 7, рисунок 24).

Доброкачественная
гиперплазия эндометрия



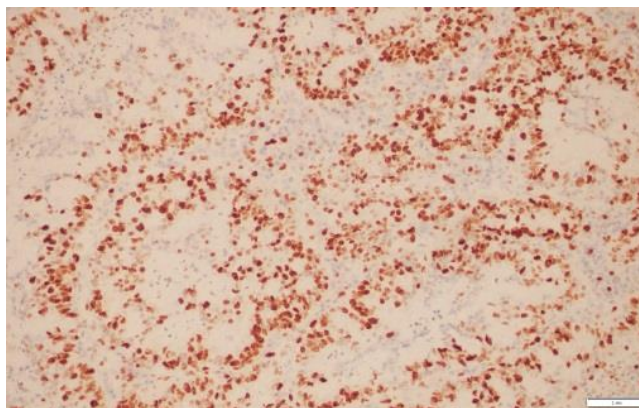
Ki-67 – 5% (мало окрашенных ядер), $\times 200$;

Эндометриоидная интраэпителиальная
неоплазия



Ki-67 – 20%, $\times 200$;

Эндометриоидная
аденокарцинома эндометрия



Ki-67 – 65% (много окрашенных ядер), $\times 200$.

Рисунок 24 – Примеры ИГХ окрашивания Ki-67

Попарное сравнение данных выявило различия показателя Ki-67 в группах ГЭ без атипии и РЭ и группах ЭИН и РЭ, с более высоким значением индекса пролиферации в группе РЭ, чем в группе ГЭ без атипии и ЭИН.

Выявлена тенденция увеличения индекса Ki-67 с нарастанием степени клеточной атипии: самые низкие значения были у женщин с ГЭ и составили

13±9%, у группы ЭИН среднее значения индекса пролиферации составило 18±13%, у группы РЭ – 39±23% (рисунок 24).

Вычислить диагностическое пороговое значение Ki-67 не удалось, имеется только тенденция. При этом разброс данных был довольно высок и значения Ki-67 в частных случаях могли не соответствовать выявленной тенденции (рисунки 25, 26).

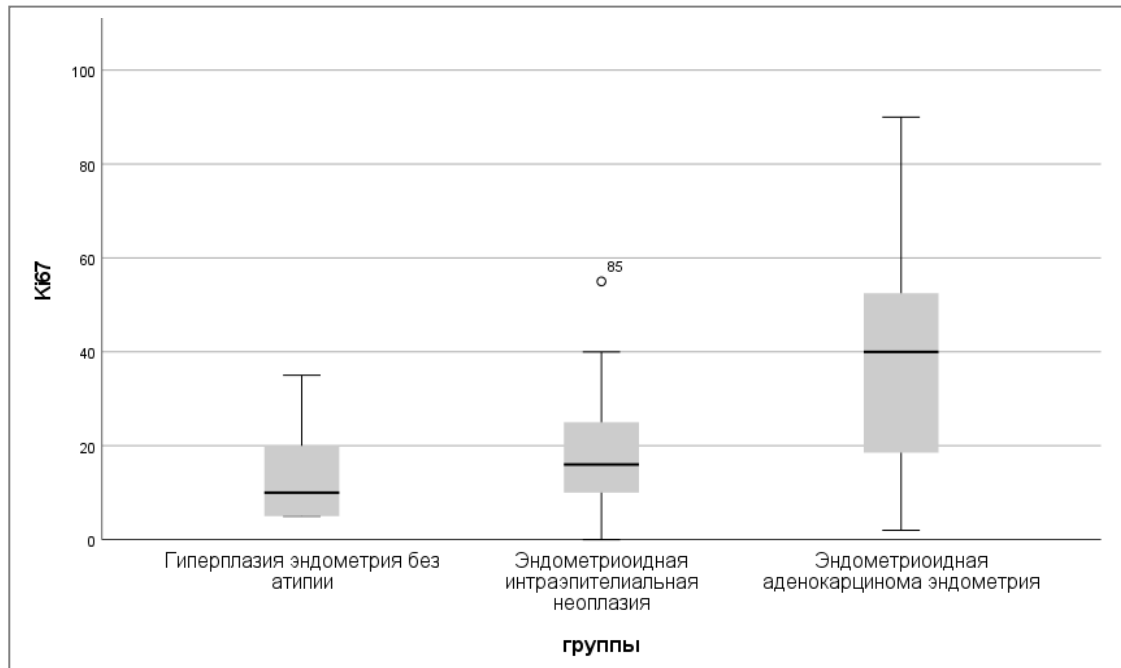


Рисунок 25 – Значение индекса пролиферации Ki-67 в эндометрии при различных заболеваниях эндометрия

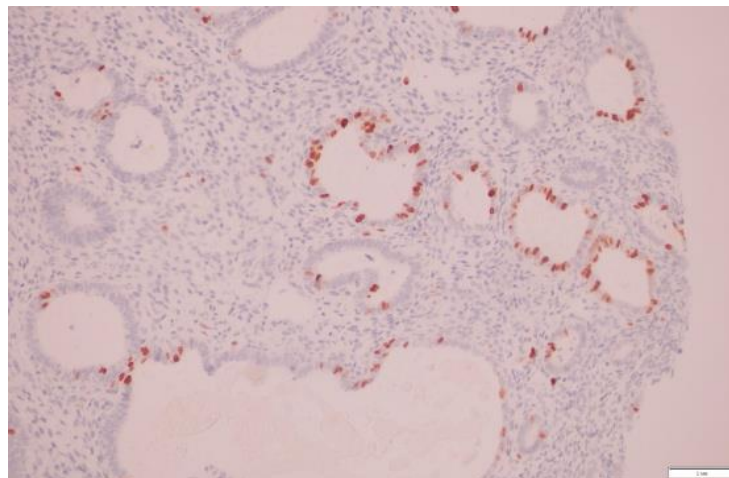


Рисунок 26 – Пример высокого индекса Ki-67 в препарате доброкачественной эндометриальной гиперплазии (Ki-67 – 25%), ×200

Экспрессия рецепторов к эстрогенам в группах ГЭ, ЭИН и РЭ

(рисунок 27)

Были выявлены достоверные различия в группах по количеству эстрогеновых рецепторов. В группе ГЭ значение Er составило $95\pm 9\%$, в группе ЭИН – $93\pm 7\%$, в группе РЭ – $75\pm 30\%$. Самые высокие показатели были в группе ГЭ, самые низкие в РЭ (рисунок 28).

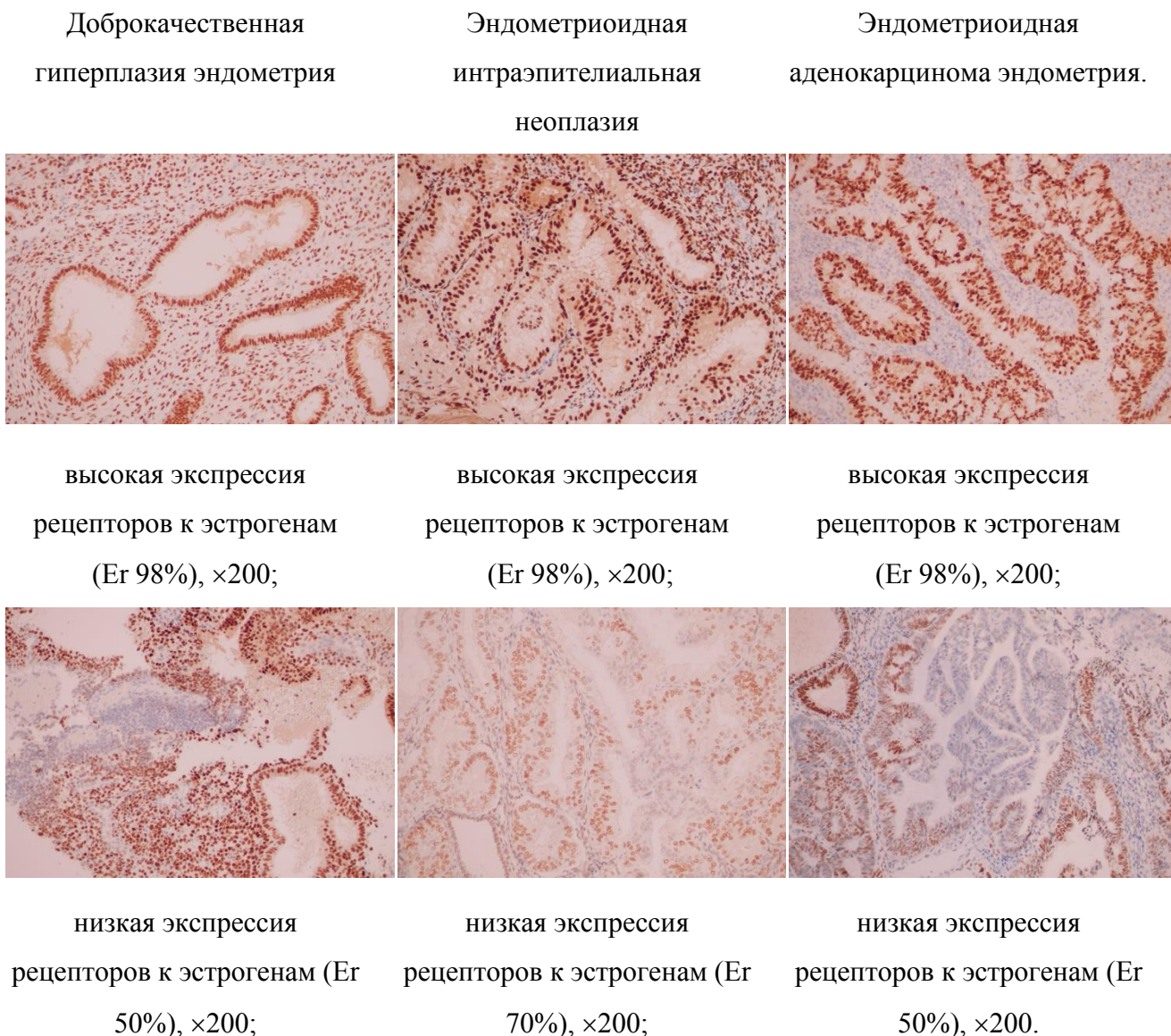


Рисунок 27 – Примеры ИГХ окрашивания эстрогеновых рецепторов

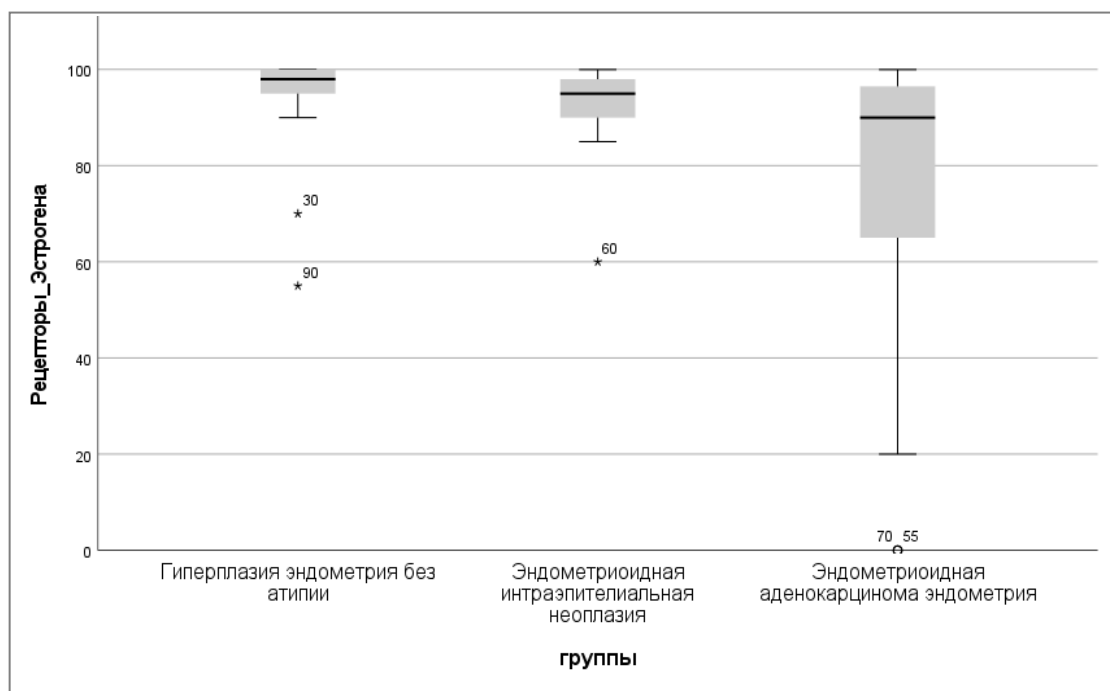


Рисунок 28 – Экспрессия рецепторов к эстрогенам в эндометрии при различной степени клеточной атипии

Попарное сравнение групп выявило различия в группах РЭ и ГЭ без атипии: меньшее количество рецепторов имеет группа РЭ по сравнению с группой ГЭ без атипии.

Вычислить диагностическое пороговое значение рецепторов к эстрогенам не удалось, имеется только тенденция к снижению количества эстрогеновых рецепторов в цепочке ГЭ-ЭИН-РЭ, что усложняет использование этого показателя в диагностических целях.

Экспрессия рецепторов к прогестерону в группах ГЭ, ЭИН и РЭ (рисунок 29)

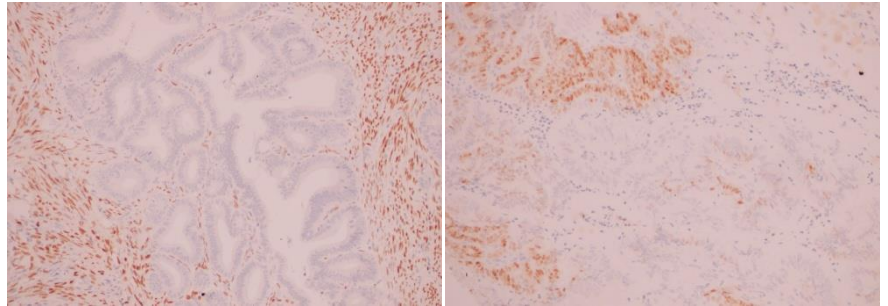
Количество рецепторов к прогестерону достоверно различалось в группах, снижаясь в цепочке ГЭ-ЭИН-РЭ.

В группе ГЭ среднее значение Pr составило $89 \pm 24\%$, в случаях ЭИН среднее количество Pr было $73 \pm 25\%$, в группе РЭ данный показатель был ниже всего – $54 \pm 31\%$ (рисунок 30).

Доброкачественная
эндометриальная
гиперплазия

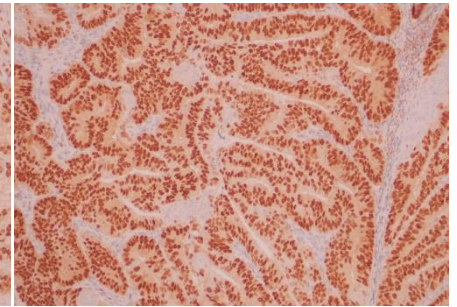
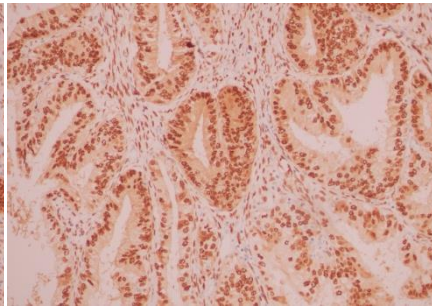
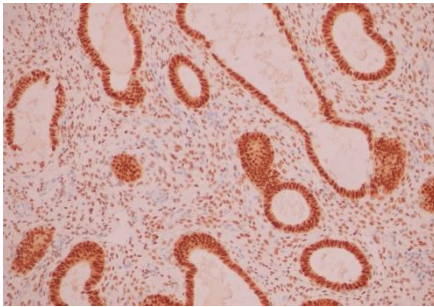
Эндометриоидная
интраэпителиальная
неоплазия

Эндометриоидная
аденокарцинома эндометрия



отсутствие экспрессии
рецепторов к прогестерону,
×200;

низкая экспрессия
рецепторов к прогестерону
(Pr 30%), ×200;



высокая экспрессия
рецепторов к прогестерону
(Pr 98%), ×200;

высокая экспрессия
рецепторов
к прогестерону (Pr 95%),
×200;

высокая экспрессия
рецепторов
к прогестерону (Pr 98%),
×200.

Рисунок 29 – Примеры ИГХ окрашивания прогестероновых рецепторов

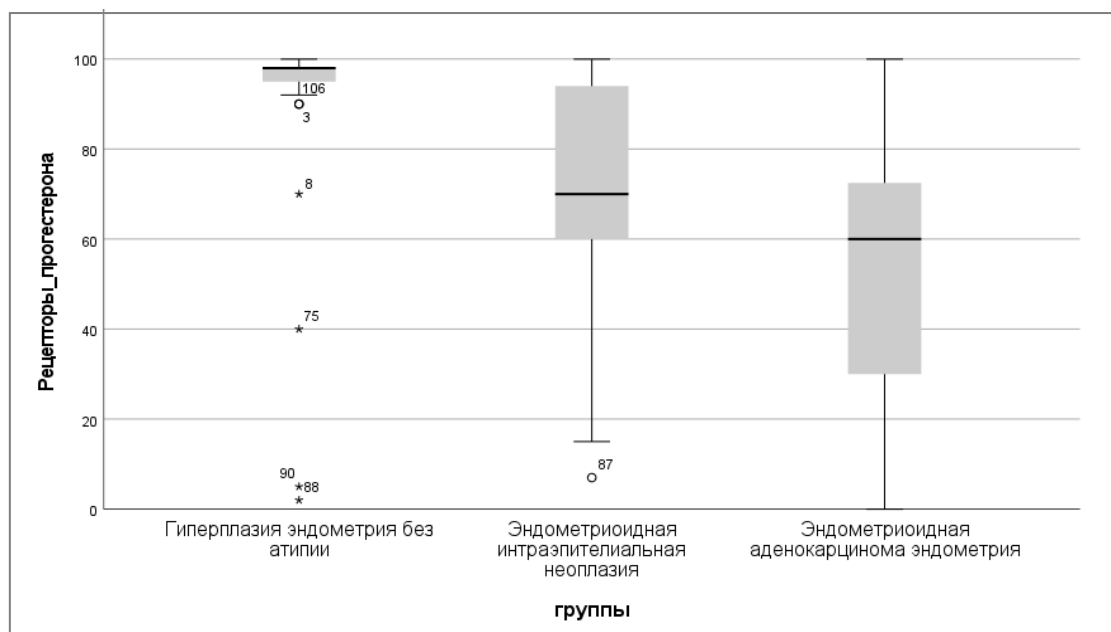


Рисунок 30 – Экспрессия рецепторов к прогестерону в эндометрии

Попарное сравнение выявило различия в группах: РЭ и ГЭ, ЭИН и ГЭ – количество рецепторов было больше в случаях ГЭ, чем при РЭ и в случаях ГЭ, чем при ЭИН.

При этом диагностического порогового значения P_r выявить не удалось. Также существует большой разброс данных от среднего показателя, что говорит о недостаточной информативности этого показателя в диагностике заболеваний эндометрия.

Экспрессия β -катенина в группах ГЭ, ЭИН и РЭ

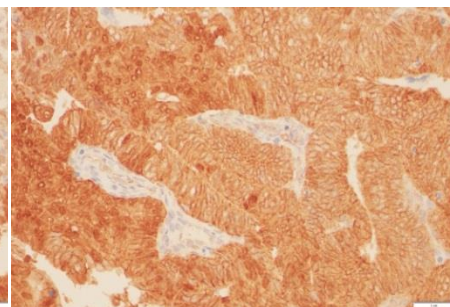
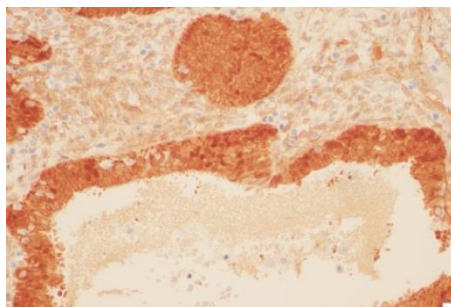
(рисунок 31)

Были выявлены значимые различия между группами по экспрессии бета-катенина согласно KW тесту ($p=0,014$), ядерная реакция на β -катенин была выше в группе РЭ. Попарное сравнение показало отличия значений бета-катенина в группах РЭ и ГЭ, с более высоким показателем в группе РЭ.

Доброкачественная
гиперплазия эндометрия

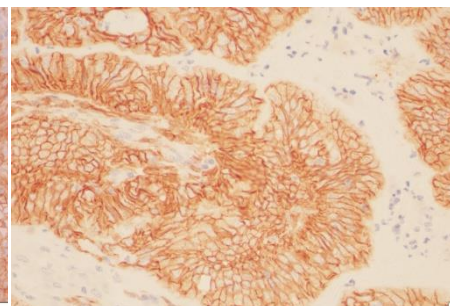
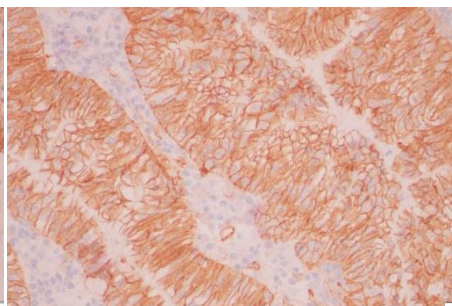
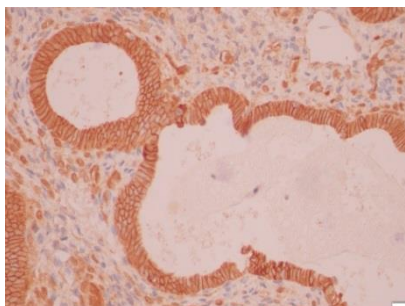
Эндометриоидная
интраэпителиальная
неоплазия

Эндометриоидная
аденокарцинома эндометрия



положительная реакция
на β -катенин (15%
окрашенных ядер), $\times 400$;

положительная реакция
на β -катенин (30%
окрашенных ядер), $\times 400$;



негативная реакция
на β -катенин (нет
окрашенных ядер), $\times 400$;

негативная реакция на β -
катенин (нет окрашенных
ядер), $\times 400$;

негативная реакция на β -
катенин (нет окрашенных
ядер), $\times 400$.

Рисунок 31 – Экспрессия бета-катенина в клетках эндометрия

Среднее значение бета-катенина в группе ГЭ составило $2\pm 7\%$, ядерная экспрессия бета катенина в образцах ЭИН была $10\pm 22\%$, при РЭ этот показатель был выше $13\pm 25\%$.

Однако разброс данных оказался велик, выявились существенные отклонения от среднего значения, что не позволило вычислить пороговое значение бета-катенина (рисунок 32). В этом случае можно говорить о тенденции увеличения ядерной экспрессии бета-катенина от гиперплазированной до атипической эндометриальной клетки.

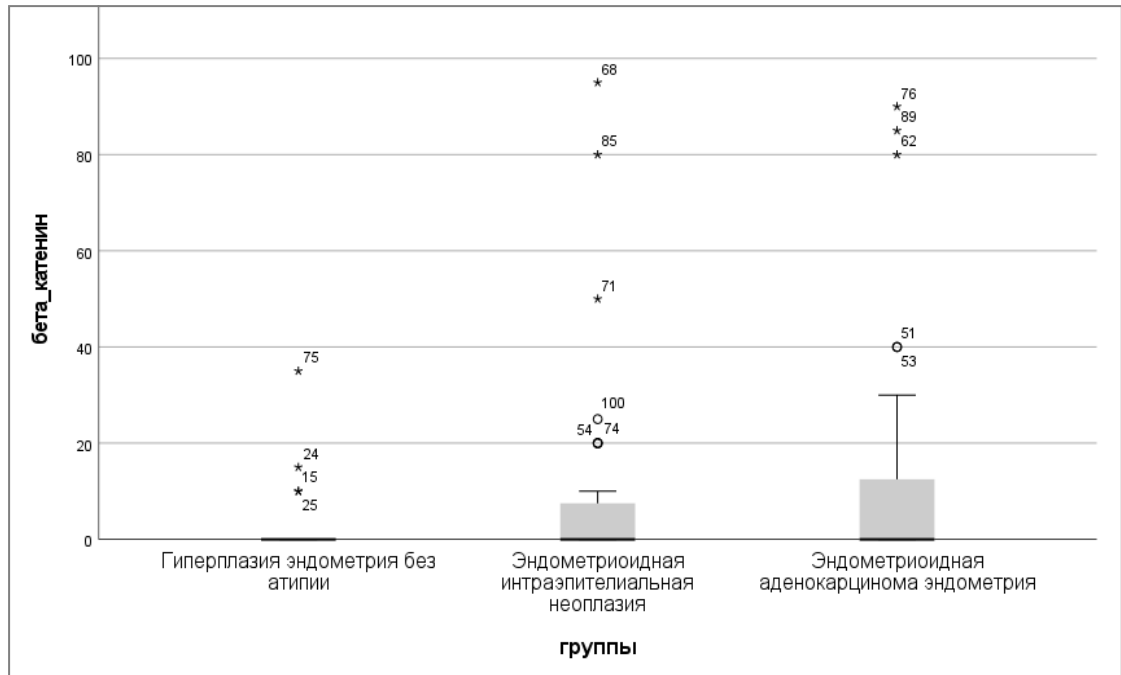


Рисунок 32 – Экспрессия бета-катенина в группах ГЭ, ЭИН и РЭ

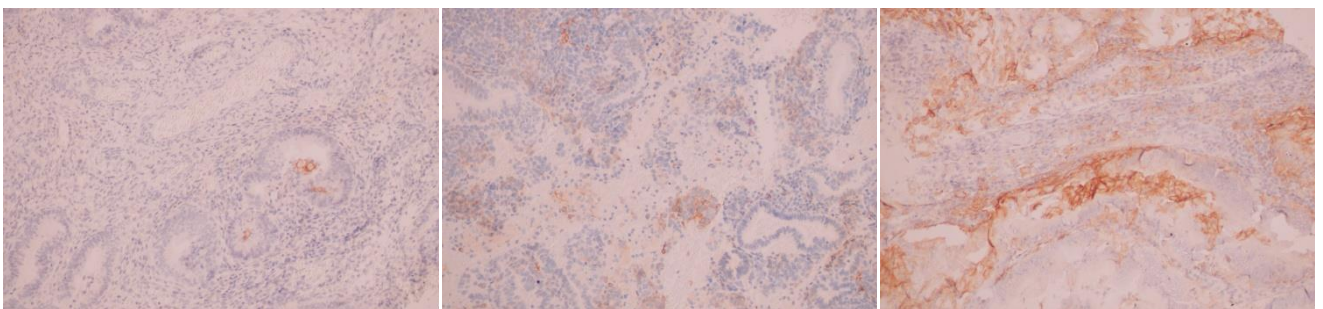
Оценка экспрессии PDL 1

(рисунок 33)

Доброкачественная
гиперплазия эндометрия

Эндометриоидная
интраэпителиальная
неоплазия

Эндометриоидная
аденокарцинома эндометрия



CPS = 1, ×200;

CPS = 10, ×200;

CPS = 42, ×200.

Рисунок 33 – Характерные примеры ИГХ окрашивания PDL 1

Оценить экспрессию PDL 1 удалось у 86 пациенток (таблица 8).

Таблица 8 – Сравнительная оценка экспрессии PDL 1

ИГХ маркер	Показатели	Доброкачественная гиперплазия эндометрия (34 случая)	Эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия (21 случай)	Эндометриоидная аденокарцинома эндометрия (31 случай)
PDL 1 в клетках эндометрия	среднее значение	0	0	4
	стандартное отклонение	1	0	7
	квартиль 25	0	0	0
	квартиль 75	0	0	6
PDL 1 в иммунных клетках	среднее значение	0	2	9
	стандартное отклонение	1	4	8
	квартиль 25	0	0	4
	квартиль 75	0	1	15
CPS (Combined positive score)	среднее значение	1	2	14
	стандартное отклонение	0	4	11
	квартиль 25	0	0	5
	квартиль 75	1	1	18

Оценка экспрессии PDL проводилась в 34 из 35 случаев доброкачественной ГЭ: среднее значение PDL в клетках эндометриальных желез составило $0 \pm 1\%$, иммунных клетках - $0 \pm 1\%$, значение CPS составило 0 ± 1 .

Всего было оценен 21 случай из 36 в препаратах атипичской эндометриальной гиперплазии: среднее значение PDL в атипичных клетках составило 0, в иммунных клетках – $2 \pm 4\%$, значение CPS составило 2 ± 4 .

Оценка экспрессии PDL проводилась в 31 из 35 случаев эндометриоидной аденокарциномы эндометрия: среднее значение PDL в опухолевых клетках составило $4 \pm 7\%$, в иммунных клетках – $9 \pm 8\%$, значение CPS составило 14 ± 11 .

Сравнительная оценка экспрессии PDL в трех исследуемых группах

Не было выявлено различий в экспрессии PDL 1 в группах пациенток с ГЭ без атипии и ЭИН. Достоверно отличались значения PDL 1 в опухолевых клетках, иммунных клетках и CPS в группах ЭИН и РЭ, и группах ГЭ без атипии и РЭ. Наибольшие значения PDL были выявлены в группе РЭ (рисунок 34).

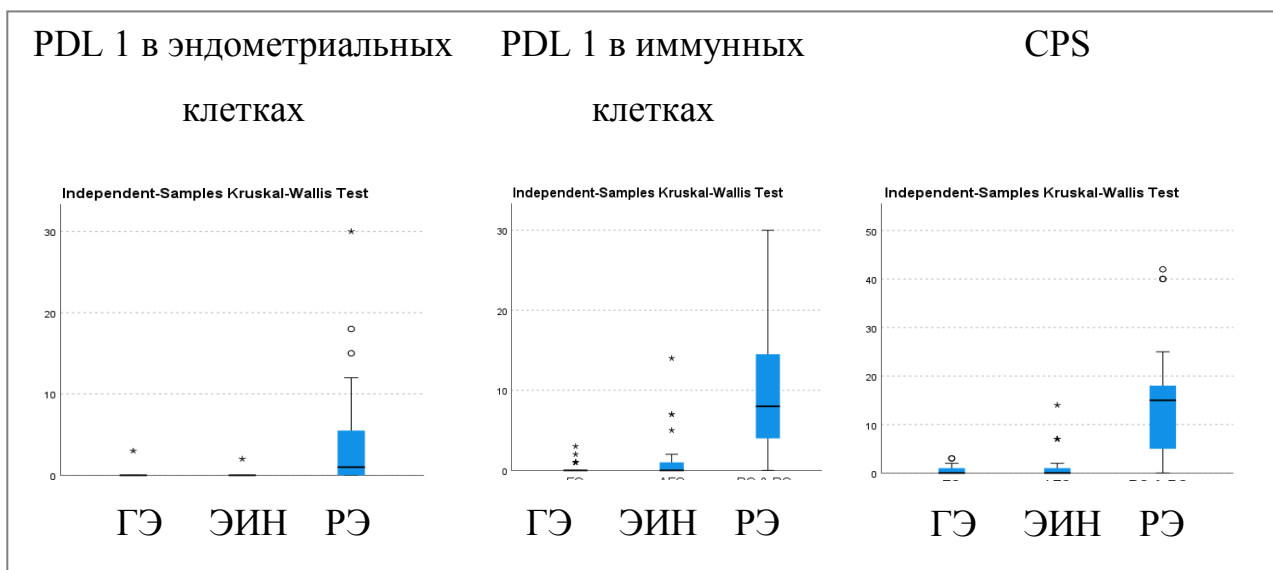


Рисунок 34 – Экспрессия PDL 1 с оценкой CPS в клетках эндометрия при ГПЭ и РЭ

По полученным данным построены ROC кривые, которые выявили пороговые значения CPS для прогнозирования диагноза:

При значении CPS равным или больше 2,5 с чувствительностью 84% и специфичностью 6% можно утверждать о диагнозе аденокарцинома эндометрия при дифференциальной диагностике с доброкачественной ГЭ.

При значении CPS равным или больше 3,5 с чувствительностью 84% и специфичностью 19% диагноз будет соответствовать аденокарциноме эндометрия, а не ЭИН.

Построение классификационных регрессий

По тем параметрам, которые значимо различались в исследуемых группах, были построены биномиальные логистические регрессии с целью

выведения диагностической панели для определения характера патологии эндометрия у каждой конкретной пациентки.

Биномиальные логистические регрессии были построены методом Forward Stepwise (Conditional), чтобы оценить влияние Ki-67, бета-катенин, Arid1a, PTEN, Pax2, PMS, MLH1 на окончательный диагноз (таблица 9).

Гены MSH6 и MSH2 были исключены из построения всех логистических моделей из-за малого количества потери их экспрессии. Стероидные рецепторы также были исключены из анализа в связи с тем, что их изменения скорее имеют корреляцию с возрастом, а не с гистологическим заключением.

Таблица 9 – Факторы прогноза диагнозов ГЭ, ЭИН и РЭ (логистические модели) [9].

Исход	Значимость логистической модели (по табл. Omnibus Tests of Model Coefficients)	Процент объясняемых моделью случаев (по табл. Model Summary/Nagelkerke R Square)	Классификационная сила регрессии	Чувствительность модели	Специфичность модели	Процент положительного прогностического значения	Процент отрицательного прогностического значения	Основа классификационной модели
ГЭ – ЭИН	$p < 0,001$	82	92,9%	94%	92%	91	94	PTEN(1), Exp(B)=39,40, $p=0,006$; Pax2(1), Exp(B)=89,79, $p < 0,001$;
ГЭ – РЭ	$p < 0,001$	75	88,3%	86%	94%	94	86	Ki-67, Exp(B)=1,105, $p=0,001$; PTEN(1), Exp(B)=81,46, $p < 0,001$;
ЭИН – РЭ	$p < 0,001$	32	70,4%	68%	74%	77	64	Ki-67, Exp(B)=1,062, $p < 0,001$;

Для PDL 1 построены отдельные классификационные модели для 86 случаев (таблица 10).

Таблица 10 – Факторы прогноза диагнозов ГЭ, ЭИН и РЭ (логистические модели).

Исход	Значимость логистической модели (по табл. Omnibus Tests of Model Coefficients)	Процент объясняемых моделью случаев (по табл. Model Summary/Nagelkerke R Square)	Классификационная сила регрессии	Чувствительность модели	Специфичность модели	Процент положительного прогностического значения	Процент отрицательного прогностического значения	Основа классификационной модели
ГЭ – ЭИН	Ни одна из включенных в уравнение переменных не была значимой для предположения исхода							
ЭИН – РЭ	2(71,1) =25,157, p<0,001	52	82,7%	77%	87%	81	84	CPS Exp(B)=1,290, p=0,001
ГЭ – РЭ	2(65,1) =53,669, p<0,001	75	89,2%	86%	93%	94	84	CPS Exp(B)=2,026, p=0,001

Глава 4

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Представленное исследование посвящено актуальному вопросу малигнизации гиперпластических процессов эндометрия. Изменился подход к пониманию эндометриального канцерогенеза и разделению гиперпластических изменений эндометрия на доброкачественные и предраковые состояния. В связи с появлением новых данных о генетических изменениях при эндометриальном раке, выделено 4 молекулярных подтипа РЭ. Эти изменения требуют осмысления, анализа и выхода в клиническом применении. В данной работе предпринята попытка перевести научные данные в практические рекомендации.

Первая часть исследования, включившая 818 женщин, показала, что у пациенток с подозрением на патологию эндометрия доброкачественная ГЭ встречается в 30% случаев, ЭИН обнаруживается нечасто - в 4% случаев. Более крупных современных исследований по оценке распространенности ГПЭ согласно бинарной классификации в российской литературе не представлены. Считаем полученные данные вкладом в оценку распространенности ГПЭ в РФ.

Целью второй части работы было выделить клиничко-морфологические и ИГХ особенности малигнизации ГПЭ. Были проанализированы равные группы пациенток с разными заболеваниями эндометрия: эндометриальная гиперплазия без атипии, ЭИН и РЭ – которые представляют собой доброкачественные, предраковые и злокачественные заболевания эндометрия.

В ходе нашего исследования были выявлены статистически значимые клинические факторы, ассоциированные с рисками развития эндометриального рака. Прежде всего, это возраст: чем старше пациентка, тем вероятнее у нее будет диагностирована аденокарцинома эндометрия, нежели доброкачественные его изменения. Предраковое заболевание эндометрия также развивается в старшем возрасте, чем ГЭ. Полученные данные подтвердили, что

пороговый возраст, при котором чаще выявляется РЭ составляет 55 лет. Так же установлено, что у женщин в постменопаузальном периоде чаще, чем в других периодах репродуктивного старения наблюдается ЭИН и РЭ, а не доброкачественная эндометриальная гиперплазия. Таким образом, следует обращать внимание на женщин в возрасте старше 55 лет и/или в постменопаузальном периоде, у которых есть подозрение на патологию эндометрия, в связи с более высокими рисками выявления у них признаков атипии.

Сравнительный анализ пациенток показал, что клинические проявления заболеваний эндометрия – аномальные маточные кровотечения – характерны как для пациенток с доброкачественной ГЭ, так и предраковой формой ГЭ и РЭ. АМК встречаются у большинства пациенток с этими заболеваниями, существенно не отличаясь по группам. И хотя патогномичным признаком РЭ в постменопаузе являются вагинальные кровянистые выделения, данный факт не исключает наличие у пациентки любого типа ГЭ, а не РЭ. Исходя из вышеуказанных данных можно сказать, что наличие или отсутствие жалоб на АМК не может быть критерием для дифференциальной диагностики гиперпластических от неопластических заболеваний эндометрия.

Анализ данных выявил, что у соматически отягощенных пациенток, которые страдают ГБ и/или СД 2 типа чаще развивается РЭ нежели ГЭ. При этом не было выявлено различий при сравнении с группой ЭИН.

Остальные факторы риска (ожирение и/или избыточная масса тела, бесплодие, отсутствие беременностей и родов, раннее менархе, поздняя менопауза) существенно не различались в исследуемых группах. Значит, не могут быть использованы как клинические маркеры риска малигнизации у пациенток с подозрением на патологию эндометрия.

Таким образом, исходя из анализа клинических данных, пациентки старше 55 лет и/или находящиеся в постменопаузальном периоде с подозрением на заболевание эндометрия, должны быть обследованы более тщательно из-за высоких рисков наличия у них ЭИН или РЭ. Пациенткам

с подозрением на гиперплазию эндометрия с наличием СД и/или ГБ требуется исключение развития у них ракового процесса.

В следующей части работы проведен пересмотр гистологических препаратов с их морфологической оценкой согласно критериям ВОЗ 2014 года. При этом в 18 случаях (17%) при пересмотре было выявлено расхождение в диагнозах. Наиболее сложный для постановки оказался диагноз ЭИН: практически у трети пациенток с АГЭ были расхождения в диагнозе. Это еще раз подчеркивает субъективность и сложность морфологических критериев, особенно для постановки диагноза ЭИН. Именно поэтому возможно использование дополнительных ИГХ маркеров для улучшения диагностики.

На сегодняшний день нет четких критериев для применения ИГХ исследования при подозрении на ГПЭ (таблица 11).

Таблица 11 – Показания для ИГХ исследования при эндометриальной гиперплазии и аденокарциноме эндометрия согласно современным российским и международным рекомендациям

Рекомендации и гайдлайны	Эндометриальная гиперплазия без атипии	Эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия	Эндометриальный рак
ВОЗ 2020 г.	Нет рекомендаций по использованию ИГХ исследований	Как желательные диагностические критерии: PTEN, PAX2, MSI	Рекомендованы для определения молекулярных подтипов
ESMO-ESTRO-ESGO consensus 2016 г. (обновления 2017 г.)	В сложных случаях дифференциальной диагностики доброкачественных изменений от ЭИН рекомендовано ИГХ определение PTEN, PAX2, MLH1, ARID1a		—

Продолжение таблицы 11

Рекомендации и гайдлайны	Эндометриальная гиперплазия без атипии	Эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия	Эндометриальный рак
ESGO/ESTRO/ESP guidelines 2020 г.	—	—	Для выявления пациенток с синдромом Линча показано ИГХ оценка MSI во всех случаях эндометриальной карциномы. Использование ИГХ оценки (p53, MSH6 и PMS2) поощряется для установления молекулярного подтипа опухоли эндометрия.
МЗ РФ Клинические рекомендации: Гиперплазия эндометрия 2021 г.	Нет рекомендаций по ИГХ исследованию эндометрия		
МЗ РФ Клинические рекомендации: Рак тела матки 2021 г.	—	—	При необходимости морфологической верификации диагноза может применяться ИГХ исследование (без указания конкретных маркеров)
Практические рекомендации Русско 2021 г.	—	—	ИГХ оценка MSI целесообразна при прогрессировании РЭ для оценки эффективности иммунотерапии. Также приведена морфологическая классификация воз 2020 года с указанием молекулярных подтипов, но нет рекомендаций по ИГХ исследованию

Результаты нашего исследования доказывают диагностическую значимость ИГХ маркеров и определяют конкретные показания для их использования. Также оценена прогностическая значимость данных маркеров.

Гены, потеря экспрессии которых значимо связана с гистологическими показателями, можно разделить на те, что позволяют дифференцировать ЭИН и ГЭ (Pax2, PTEN), и те, которые более точны в дифференциальной диагностике ЭИН и РЭ (Arid1a). MSI-H показало большую эффективность в дифференциальном поиске между ЭИН и РЭ.

Чувствительность и специфичность определения потери PAX2 для дифференциальной диагностики ЭИН от ГЭ выше остальных показателей, в том числе выше PTEN, и составляет 89% и 94% соответственно, в случаях ЭИН и РЭ не имеет диагностического значения. ИГХ определение PTEN имеет чувствительность 67%, а специфичность 97% в отношении дифференциальной диагностики ЭИН от ГЭ без атипии, в отношении ЭИН и РЭ у данного маркера нет значимой диагностической ценности. Сложно говорить о прогностической роли этого маркера, так как два выявленных случая потери экспрессии PAX 2 у пациенток с ГЭ без атипии и 5 летнее наблюдение за ними не выявило развития у них ЭИН или РЭ. Но, возможно, требуется большее количество времени для развития атипических изменений и большее количество наблюдений. Также не удалось выявить прогностическую значимость потери экспрессии PAX2 у пациенток с ЭИН, так как у 94% была выполнена гистерэктомия. У двух PAX2 негативных пациенток установлена Левоноргестрел продуцирующая ВМС в 2019 году, к настоящему моменту прогрессирования заболевания у них не выявлено.

При построении логистических регрессий выяснилось, что совместное определение PAX и PTEN имеет высокую значимость с силой регрессии 93%, с высокой чувствительностью 94% и высокой специфичностью 92% в отношении дифференциальной диагностики предракового состояния от доброкачественной ГЭ. С практической точки зрения ввиду удобства ИГХ оценки PAX2 и его высокой точности, можно рассматривать его применение как предиктора

предраковых изменений эндометрия. Оценка прогностической значимости PTEN в злокачественной трансформации доброкачественной ГЭ затруднительна. Только одна пациентка с ГЭ была PTEN негативна, однако, в течение 5-летнего наблюдения не было выявлено развитие у нее предраковой и злокачественной патологии эндометрия. Всем пациенткам с ЭИН с отрицательной реакцией на PTEN по данным ИГХ выполнено оперативное лечение. Прогностическую значимость установить не удалось.

Что касается ARID1a, то его выпадение больше характерно для РЭ. Потеря экспрессии этого гена не встретилась ни в одном из случаев ГЭ и ЭИН, поэтому с нашей точки зрения не может дифференцировать эти состояния. При этом потеря экспрессии ARID1a выявилась в 33% случаев эндометриального рака. Таким образом, при обнаружении потери экспрессии ARID1a с большой долей вероятности мы можем исключить ГЭ без атипии и ЭИН, и следует искать фокусы аденокарциномы, однако, не обнаружив этого факта, не сможем достоверно сделать какое либо заключение.

Микросателлитная нестабильность частое явление, встречающееся при эндометриальном раке. Выпадение экспрессии генов системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК в нашей работе встретилось у 36% всех исследуемых случаев эндометриального рака и в большинстве своем за счет выпадения MLH1 и PMS2, что не противоречит литературным данным. Только в одном наблюдении отсутствовала экспрессия MSH2 и MSH6. Интересно было выявить встречается ли явление микросателлитной нестабильности при ЭИН, так как в литературе нет таких исследований. При атипической форме ГЭ выпадение генов MLH1 и PMS2 выявилось в одном случае, что составило 3% от всех наблюдений. При эндометриальной гиперплазии без атипии случаев MSI выявлено не было. Таким образом, явление MSI и потеря экспрессии MLH1 в частности не может быть предиктором предракового заболевания эндометрия. При выявлении MSI в препарате гиперплазия эндометрия имеет большую вероятность наличия сосуществующего эндометриального рака. При этом нет

необходимости определять все гены этой группы, достаточно определения одного из попарно выпадающего гена MLH1 или PMS2.

Одним из перспективных прогностических маркеров эндометриальной малигнизации считается бета-катенин, а точнее наличие его ядерной экспрессии. В нашем исследовании его прогностическую ценность подтвердить не удалось. Так как у пациенток с доброкачественной ГЭ и даже высокой ядерной экспрессией бета-катенина (5-35%) не было выявлено злокачественной трансформации через 5 лет от момента установления диагноза. Наши данные выявили тенденцию увеличения ядерной экспрессии бета-катенина с увеличением степени клеточной атипии. Однако существенные различия выявлены только в группах ГЭ и РЭ. Более высокая экспрессия этого маркера характерна для РЭ, а не для доброкачественной ГЭ.

Экспрессия рецепторов к стероидным гормонам была различна во всех исследуемых группах, уменьшаясь в цепочке ГЭ-ЭИН-РЭ. Подвергнув анализу эти результаты, пришли к выводу, что данная тенденция связана с увеличением возраста пациенток и закономерным уменьшением количеством рецепторов к половым гормонам в связи с физиологическим угасанием репродуктивной функции. Остается под вопросом целесообразность определение стероидного статуса в качестве диагностического или прогностического маркера эндометриальной малигнизации.

Полученные нами данные подтверждают наличие тенденции увеличения индекса Ki-67 от доброкачественной ГЭ до ЭИН и эндометриального рака. Ki-67 достоверно выше в группе эндометриальной аденокарциномы, по сравнению с группами ЭИН и эндометриальной гиперплазии без атипии. Однако встречались случаи, которые противоречили данной тенденции: в случаях доброкачественной ГЭ выявлен высокий индекс Ki-67 (максимальный 35%), а в случаях аденокарциномы - низкий Ki-67 (минимальный 2%). Диагностического порогового значения Ki-67 выявить не удалось. Прогностическое значение для ГЭ и ЭИН осталось не подтвержденным, так как не было выявлено

малигнизации эндометриальной гиперплазии даже у пациенток с высоким индексом Ki-67.

Таким образом, можно выделить молекулярные события наиболее характерные для каждой из исследуемых групп (таблица 12).

Таблица 12 – Молекулярные события характерные для ГЭ, ЭИН, и РЭ

Показатель	Доброкачественная эндометриальная гиперплазия	Эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия	Эндометриоидная эндометриальная аденокарцинома
Ki-67	Самый низкий	Более высокий	Наиболее высокий
Ядерная экспрессия бета – катенина	Редко встречается	Выражена менее интенсивно	Выражена наиболее интенсивно
Eg	Самый высокий показатель	Ниже	Самый низкий
Pr	Самый высокий показатель	Ниже	Самый низкий
Потеря экспрессии PAX2	Встречается крайне редко	Встречается с одинаковой частотой	
Потеря экспрессии PTEN	Практически не встречается	Встречается с одинаковой частотой	
Потеря экспрессии ARID1a	Не встречается	Не встречается	Встречается примерно в трети случаев
Явление MSI	Не встречается	Встречается крайне редко	Встречается примерно в трети случаев

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное диссертационное исследование имеет как теоретическую, так и практическую значимость.

Благодаря полученным данным впервые удалось выделить наиболее значимые клинические и молекулярные различия между доброкачественной, предраковой и злокачественной патологиями эндометрия.

Полученные результаты позволили уточнить последовательность молекулярных изменений эндометриального канцерогенеза и выявить, что наиболее ранним событием злокачественной трансформации является потеря экспрессии PAX2 и PTEN. Все остальные генетические изменения, наиболее вероятно, происходят на более поздних стадиях развития заболевания.

Удалось доказать, что эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия имеет сходный молекулярный профиль с эндометриоидным раком эндометрия и характеризуется потерей экспрессии PAX2 и PTEN. Доброкачественная гиперплазия эндометрия отличается крайне низкой частотой молекулярных изменений.

Данная научная работа определила диагностическую роль и показания для применения иммуногистохимического исследования в диагностике доброкачественных, предраковых и злокачественных заболеваний эндометрия. Прогностическая роль изученных маркеров в эндометриальной малигнизации осталась не установленной.

Для продолжения изучения механизмов малигнизации и поиска ее предикторов необходимы большая выборка пациенток, более длительный период наблюдения и более широкая панель молекулярных маркеров.

ВЫВОДЫ

1. Впервые выявлено, что в группе 818 женщин с клиническими и ультразвуковыми признаками гиперпластических процессов эндометрия доброкачественная эндометриальная гиперплазия обнаруживается в 30% случаев, эндометриальная атипическая гиперплазия – в 4% случаев, а рак эндометрия – в 10% случаев.
2. Установлено, что наиболее значимыми клиническими факторами риска развития атипической эндометриальной гиперплазии и эндометриального рака являются возраст и период старения женской репродуктивной системы. У пациенток старше 55 летнего возраста и/или в постменопаузальном периоде чаще выявляются предрак и рак эндометрия ($p < 0,001$).
3. Доказан наибольший риск развития эндометриального рака у женщин, страдающих сахарным диабетом 2 типа ($p = 0,001$) и/или гипертонической болезнью ($p = 0,017$).
4. Впервые определены молекулярные особенности гиперпластических процессов и рака эндометрия. Доброкачественная эндометриальная гиперплазия имеет сохранную систему репарации неспаренных нуклеотидов ДНК, характеризуется высокой экспрессией рецепторов стероидных гормонов, низким значением индекса пролиферации Ki-67 и минимальной ядерной экспрессии бета-катенина. Эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия и эндометриоидная аденокарцинома эндометрия имеют сходный молекулярный профиль и характеризуются потерей экспрессии PAX2 и PTEN. Выпадение ARID1a и MSI встречается чаще при аденокарциноме эндометрия и не характерно для предракового процесса.
5. Доказано, что иммуногистохимическая оценка экспрессии PAX2 является надежным диагностическим критерием для дифференциальной диагностики эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии и доброкачественной

эндометриальной гиперплазии (чувствительность 89%, специфичность 94%), а его потеря может рассматриваться как начальный признак злокачественной трансформации гиперплазии эндометрия.

6. Комплексная оценка клинико-морфологических данных и экспрессии панели маркеров PAX2, PTEN, BAF250a (ARID1A), β -катенина, индекса Ki-67, PMS2 и MLH1 повышает достоверность исследования при подозрении на малигнизацию гиперплазии эндометрия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Анализируя все полученные клинические, морфологические и иммуногистохимические данные, стало возможным выделить показания для проведения дополнительного иммуногистохимического исследования у пациенток с подозрением на гиперпластические процессы и рак эндометрия.

1. В случаях необходимости дополнительной дифференциальной диагностики доброкачественной эндометриальной гиперплазии и эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии рекомендовано иммуногистохимическое определение PAX2 и PTEN.
2. У пациенток старше 55 лет и/или в периоде постменопаузы при морфологически подтвержденном диагнозе эндометриальная гиперплазия ввиду высокой вероятности у них наличия эндометриоидной интраэпителиальной неоплазии следует определять PAX2 и PTEN.
3. У пациенток со значимыми факторами риска развития эндометриального рака (возраст старше 55 лет, период постменопаузы, наличие гипертонической болезни, наличие сахарного диабета 2 типа) с морфологически верифицированным диагнозом эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия определение MMR/MSI, ARID1a позволит исключить или выявить сосуществующий рак эндометрия.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГЭ	– атипическая гиперплазия эндометрия
АМК	– аномальные маточные кровотечения
ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
ГПЭ	– гиперпластические процессы эндометрия
ГЭ	– гиперплазия эндометрия
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИГХ	– иммуногистохимическое исследование
ЭИН	– эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия
β -катенин	– белок, продукт гена CTNNB1
ARID1A	– ген-супрессор опухолевого роста, участвующий в ремоделировании хроматина
BAF250a	– белок, продукт гена ARID1A
BRAF	– белок, регулирующий пролиферацию клеток
CTNNB	– ген-регулятор Wnt/ β -катенинового внутриклеточного сигнального пути
ER	– эстрогеновый рецептор
FIGO	– Международная федерация гинекологии и акушерства
HR	– отношение рисков
Ki-67	– антиген, маркер клеточной пролиферации
KRAS	– белок, регулирующий пролиферацию клеток и устойчивость к апоптозу
MMR	– репарация неспаренных нуклеотидов ДНК
MSH6	– белок гена репарации неспаренных нуклеотидов ДНК
MSI	– микросателлитная нестабильность
OR	– отношение шансов
p53	– транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл
PAX2	– белок транскрипционного фактора с парным доменом

- PIK3CA – фосфоинозитид-3-киназа
- PMS2 – эндонуклеаза репарации неспаренных нуклеотидов ДНК
- PR – прогестероновые рецепторы
- PTEN – фосфатаза с двойной субстратной специфичностью

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атипическая гиперплазия эндометрия - диагностические трудности. Есть ли они? (Клинический случай) / М.С. Собивчак, А.Э. Протасова, Г.А. Раскин [и др.] // Медицинский алфавит. – 2020. – № 26. – С. 46-52. – doi: 10.33667/2078-5631-2020-26-46-52.
2. Бантыш, Б.Б. Иммуноморфологические особенности эпителиально-стромальных взаимоотношений при железистой гиперплазии эндометрия : дис. ... канд. мед. наук: 14.03.02 / Бантыш Б.Б. – Москва, 2011. – 95 с.
3. Бохман, Я.В. Руководство по онкогинекологии / Я.В. Бохман. – Санкт-Петербург: Фолиант, 2002. – 542 с.
4. Бреусенко, В.Г. Лечение гиперпластических процессов эндометрия в пери- и постменопаузе / В.Г. Бреусенко, Г.М. Савельева, Ю.А. Голова // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 4. – С. 19-23.
5. Гинекология по Эмилю Новаку / под ред. Дж. Берека, И. Адаши, П. Хиллард; перевод с англ. – 12-е изд. – Москва: Практика, 2002. – 892 с.
6. Гиперплазия эндометрия : клинические рекомендации / Л.А. Адамян, У.Н. Андреева, Н.В. Артымук. – МЗ РФ, 2021. – 45 с.
7. Железнов, Б.И. К проблеме предрака эндометрия / Б.И. Железнов // IV съезд акушеров-гинекологов РСФСР : труды. – Москва, 1977. – С. 188-196.
8. Задонская, Ю. Н. Гиперпластические процессы эндометрия в перименопаузе : современные аспекты патогенеза и лечения : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01 / Задонская Ю.Н. – Москва, 2009. – 20 с.
9. Злокачественная трансформация гиперпластических процессов эндометрия: иммуногистохимические особенности / М.С. Собивчак, А.Э. Протасова, Г.А. Раскин [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2022. – Т. 18, № 3. – С. 89-99. – doi: 10.17650/1994-4098-2022-18-3-89-99.
10. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. –

Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. – 252 с.

11. К вопросу о патогенезе гиперплазии эндометрия / А.Х. Биштави, О.А. Горных, В.Н. Гулиева [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2012. – № 3-4. – С. 108-111.
12. Клещев, М.А. Особенности гиперпластических процессов в эндометрии у женщин разного возраста : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.30 / Клещев М.А. – Санкт-Петербург, 2011. – 94 с.
13. Клинико-морфологические особенности гиперпластических процессов эндометрия у пациенток разных возрастных групп / М.С. Собивчак, А.Э. Протасова, Г.А. Раскин, А.М. Кавун // Онкогинекология. – 2021. – Т. 40, № 4. – С. 27-34. – doi: 10.52313/22278710_2021_4_27.
14. Кондриков, Н.И. Структурно-функциональные основы гиперпластических изменений эндометрия женщин : автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.01 / Кондриков Н.И. – Москва, 1991. – 51 с.
15. Кузнецова, И.В. Гиперпластические процессы эндометрия / И.В. Кузнецова. – Москва, 2009. – 47 с.
16. Общность иммуногистохимических показателей атипичной гиперплазии эндометрия и эндометриального рака / М.С. Собивчак, А.Э. Протасова, Г.А. Раскин [и др.] // Онкогинекология. – 2020. – Т. 33, № 1. – С. 31-39. – doi: 10.52313/22278710_2020_1_31.
17. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака тела матки и сарком матки / В.М. Нечушкина, Л.А. Коломиец, О.А. Кравец [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2020. – Т. 10, № 3s2-1. – С. 242-256. – doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-14.
18. Салов, И.А. Современные представления об этиологических факторах и факторах риска развития гиперпластических процессов эндометрия. Сообщение 1. Оценка эпидемиологической ситуации. Классификация гиперпластических процессов эндометрия. Патоморфологическая характеристика, взаимосвязь с онкогинекологическими заболеваниями /

- И.А. Салов, Н.П. Чеснокова, В.В. Курникова // Успехи современного естествознания. – 2004. – № 1. – С. 37-40.
19. Собивчак, М.С. Значимость иммуногистохимической оценки экспрессии PAX2 и PTEN для прогнозирования риска малигнизации гиперплазии эндометрия / М.С. Собивчак, А.Э. Протасова, Г.А. Раскин // Вопросы онкологии. – 2022. – Т. 68, № S3. – С. 123.
 20. Совершенствование молекулярно-генетической диагностики в Российской Федерации с целью повышения эффективности противоопухолевого лечения / Официальный сайт Программы RUSSCO. – URL: <http://www.cancergenome.ru/>.
 21. Сочетанные доброкачественные опухоли и гиперпластические процессы матки (миома, аденомиоз, гиперплазия эндометрия) / под ред. Л.В. Адамян. – Москва, 2015. – 92 с.
 22. Федянин, М.Ю. Роль микросателлитной нестабильности при раке толстой кишки / М.Ю. Федянин, А.А. Трякин, С.А. Тюляндин // Онкологическая колопроктология. – 2012. – № 3. – С. 19-26.
 23. Франк, Г.А. Морфологические особенности диспластических изменений эндометрия / Г.А. Франк, Т.А. Белоус, Н.В. Соколова // Архив патологии. – 1990. – Вып. 52, № 9. – С. 18-24.
 24. Эндометриальный рак: современные представления о скрининге / А.Э. Протасова, М.С. Собивчак, Н.Н. Байрамова [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2019. – Т. 100, № 4. – С. 662-672. – doi: 10.17816/KMJ2019-662.
 25. A national cancerinstitute workshop on microsatellite instability for cancer detection and familialpredisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer / C.R. Boland, S.N. Thibodeau, S.R. Hamilton [et al.] // Cancer Res. – 1998. – Vol. 58. – P. 5248-5257.

26. A role for MLH3 in hereditary nonpolyposis colorectal cancer / Y. Wu, M.J.W. Berends, R.H. Sijmons [et al.] // *Nat. Genet.* – 2001. – Vol. 29. – P. 137-138.
27. Aberrant activation of hedgehog signaling pathway contributes to endometrial carcinogenesis through beta-catenin / X. Liao, M.K.Y. Siu, C.W.H. Au [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2009. – Vol. 22. – P. 839-847.
28. Abnormalities of E- and P-cadherin and catenin (beta-, gamma-catenin, and p120^{ctn}) expression in endometrial cancer and endometrial atypical hyperplasia / G. Moreno-Bueno, D. Hardisson, D. Sarrió [et al.] // *J. Pathol.* – 2003. – Vol. 199. – P. 471-478.
29. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers / G.L. Mutter, M.C. Lin, J.T. Fitzgerald [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2000. – Vol. 92, № 11. – P. 924-930. – doi: 10.1093/jnci/92.11.924.
30. Analysis of PTEN, estrogen receptor α and progesterone receptor expression in endometrial hyperplasia using tissue microarray / B. Pieczyńska, S. Wojtylak, A. Zawrocki, W. Biernat // *Pol. J. Pathol.* – 2011. – Vol. 62. – P. 133-138.
31. Antonsen, S.L. Patients with atypical hyperplasia of the endometrium should be treated in oncological centers / S.L. Antonsen, L. Ulrich, C. Høgdall // *Gynecol. Oncol.* – 2012. – Vol. 125. – P. 124-128.
32. ARID1A gene mutation in ovarian and endometrial cancers (Review) / T. Takeda, K. Banno, R. Okawa [et al.] // *Oncol. Rep.* – 2016. – Vol. 35, № 2. – P. 607-613.
33. β -Catenin signaling regulates Foxa2 expression during endometrial hyperplasia formation / M. Villacorte, K. Suzuki, A. Hirasawa [et al.] // *Oncogene.* – 2012. – Vol. 32. – P. 3477-3482.
34. Baak, J.P. EIN and WHO94 / J.P. Baak, G.L. Mutter // *J. Clin. Pathol.* – 2005. – Vol. 58. – P. 1-6.
35. Baudrin, L.G. Molecular and Computational Methods for the Detection of Microsatellite Instability in Cancer / L.G. Baudrin, J.F. Deleuze, A. How-Kit // *Front Oncol.* – 2018. – Vol. 8. – P. 621.

36. Beta-catenin mutations and aberrant nuclear expression during endometrial tumorigenesis / M. Saegusa, M. Hashimura, T. Yoshida, I. Okayasu // *Br. J. Cancer.* – 2001. – Vol. 84. – P. 209-217.
37. Bianchini, F. Overweight, obesity, and cancer risk / F. Bianchini, R. Kaaks, H. Vainio // *Lancet Oncol.* – 2002. – Vol. 3, № 9. – P. 565-574.
38. Biomarkers of progestin therapy resistance and endometrial hyperplasia progression / K. Upson, K.H. Allison, S.D. Reed [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2012. – Vol. 207. – P. 36.e1-36.e8.
39. Biopsy histomorphometry predicts uterine myoinvasion by endometrial carcinoma: a gynecologic oncology group study / G.L. Mutter, J. Kauderer, J.P. Baak [et al.] // *Hum. Pathol.* – 2008. – Vol. 39. – P. 866-874.
40. Cancer genome landscapes / B. Vogelstein, N. Papadopoulos, V.E. Velculescu [et al.] // *Science.* – 2013. – Vol. 339, № 6127. – P. 1546-1558.
41. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape / G.P. Dunn, A.T. Bruce, H. Ikeda [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2002. – Vol. 3. – P. 991-998.
42. Cancer Statistics Review, 1975-2015 Bethesda, MD / A.M.H.N. Noone, M. Krapcho, D. Miller [et al.] // National Cancer Institute. – 2018. – https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2017/results_merged/sect_07_corpus_uteri.pdf.
43. Cancer Today / WHO, IARC. 2021. – <https://gco.iarc.fr/today/home>.
44. Clapier, C.R. The biology of chromatin remodeling complexes / C.R. Clapier, B.R. Cairns // *Annu. Rev. Biochem.* – 2009. – Vol. 78. – P. 273-304.
45. Classification and Diagnosis of Endometrial Hyperplasia / R. Giuntoli, H. Zacur, B. Goff [et al.]. – 2014. – URL: <https://www.uptodate.com/contents/endometrial-hyperplasia-clinical-features-diagnosis-and-differential-diagnosis>.
46. Clinical impact of endometrial cancer stratified by genetic mutational profiles, POLE mutation, and microsatellite instability / T. Haruma, T. Nagasaka, K. Nakamura [et al.] // *PloS One.* – 2018. – № 13, № 4. – P. e0195655. – doi: 10.1371/journal.pone.0195655.

47. Comparison of endometrial carcinoma coexisting with and without endometrial hyperplasia / S. Ohkawara, T. Jobo, R. Sato, H. Kuramoto // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2000. – Vol. 21. – P. 573-577.
48. Comparison of the efficacy of three progestins in the treatment of simple endometrial hyperplasia without atypia / O. Ozdegirmenci, F. Kayikcioglu, U. Bozkurt [et al.] // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2011. – Vol. 72. – P. 10-14.
49. Comparison of WHO and endometrial intraepithelial neoplasia classifications in predicting the presence of coexistent malignancy in endometrial hyperplasia / M.C. Salman, A. Usubutun, K. Boynukalin [et al.] // *J. Gynecol. Oncol.* – 2010. – Vol. 21. – P. 97-101.
50. Complex hyperplasia of the endometrium. Predictive value of curettage vs. hysterectomy specimens / B. Lambert, D. Muteganya, Y. Lepage, Y. Boivin // *J. Reprod. Med.* – 1994. – Vol. 39, № 8. – P. 639-642.
51. Computerised morphometrical analysis in endometrial hyperplasia for the prediction of cancer development. A long-term retrospective study from northern Norway / A. Orbo, J.P. Baak, I. Kleivan [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2000. – Vol. 53, № 9. – P. 697-703.
52. Concurrent endometrial carcinoma in hysterectomy specimens in patients with histopathological diagnosis of endometrial hyperplasia in curettage specimens / M. Dolanbay, M.S. Kutuk, S. Uludag [et al.] // *Ginekol. Pol.* – 2015. – Vol. 86, № 10. – P. 753-758.
53. Concurrent endometrial carcinoma in patients with a curettage diagnosis of endometrial hyperplasia / Y.L. Chen, W.F. Cheng, M.C. Lin [et al.] // *J. Formos Med. Assoc.* – 2009. – Vol. 108, № 6. – P. 502-507.
54. Congruence Between 1994 WHO Classification of Endometrial Hyperplasia and Endometrial Intraepithelial Neoplasia System / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2019. – Vol. XX. – P. 1-9. – doi: 10.1093/AJCP/AQZ132.
55. Correlation between the DNA global methylation status and progesterone receptor expression in normal endometrium, endometrioid adenocarcinoma and precursors /

- L. Ghabreau, J.P. Roux, A. Niveleau [et al.] // *Virchows Arch.* – 2004. – Vol. 445. – P. 129-134.
56. Cullen, T.S *Cancer of the uterus: its pathology, symptomatology, diagnosis and treatment; also the pathology of diseases of the endometrium* / T.S. Cullen. – New York: D. Appleton and C., 1900.
57. Deletion mapping of chromosome 1 in early onset and late onset breast tumors - a comparative study in eastern India / N. Chunder, S. Mandal, D. Basu [et al.] // *Pathol. Res. Pract.* – 2003. – Vol. 199. – P. 313-321.
58. Diagnostic and prognostic value of ARID1A in endometrial hyperplasia: a novel marker of occult cancer / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // *APMIS.* – 2019. – Vol. 127, № 9. – P. 597-606.
59. Distinct sets of gene alterations in endometrial carcinoma implicate alternate modes of tumorigenesis / A. Koul, R. Willen, P.O. Bendahl [et al.] // *Cancer.* – 2002. – Vol. 44. № 94. – P. 2369-2379.
60. Does Preoperative Diagnosis of Endometrial Hyperplasia Necessitate Intraoperative Frozen Section Consultation? / G. Boyraz, D. Başaran, M.C. Salman [et al.] // *Balkan Med. J.* – 2016. – Vol. 33, № 6. – P. 657-661.
61. Endometrial cancer / F. Amant, P. Moerman, P. Neven [et al.] // *Lancet.* – 2005. – Vol. 366. – P. 491-505. – doi: 10.1016/S0140-6736(05)67063-8.
62. Endometrial carcinoma associated with hyperplasia / T. Kaku, N. Tsukamoto, T. Hachisuga [et al.] // *Gynecologic oncology.* – 1996. – Vol. 60. – P. 22-25.
63. Endometrial carcinoma in women aged 40 years or younger: a Japanese experience / T. Kaku, K. Matsuo, N. Tsukamoto [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 1993. – Vol. 3. – P. 147-153.
64. Endometrial carcinoma in women 40 years of age or younger / J.D. Crissman, R.S. Azoury, A.E. Barnes, H.F. Schellhas // *Obstet. Gynecol.* – 1981. – Vol. 57. – P. 699-704.
65. Endometrial carcinoma risk among women diagnosed with endometrial hyperplasia: the 34-year experience in a large health plan / J.V. Lacey Jr.,

- O.B. Ioffe, B.M. Ronnett [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2008. – Vol. 98, № 1. – P. 45-53.
66. Endometrial hyperplasia and progression to cancer : which classification system stratifies the risk better ? A systematic review and meta-analysis / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2019. – Vol. 299, № 5. – P. 1233-1242. – doi: 10.1007/s00404-019-05103-1.
67. Endometrial hyperplasia and risk of coexistent cancer: WHO vs EIN criteria / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // *Histopathology.* – 2019. – Vol. 74, № 5. – P. 676-687. – doi:10.1111/his.13776.
68. Endometrial hyperplasia – the dilemma of management remains: a retrospective observational study of 280 women / S. Daud, S.S. Jalil, M. Griffin, A.A. Ewies // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2011. – Vol. 159, № 1. – P. 172-175.
69. Endometrial Intraepithelial Neoplasia, Intraepithelial Neoplasia, Supriya Srivastava / N. Abushahin, S. Pang, J. Li [et al.]. – IntechOpen, 2012. – URL: <https://www.intechopen.com/chapters/27767>.
70. Endometrial adenocarcinoma: a multiparameter clinicopathologic analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors / K.R. Geisinger, H.D. Homesley, M.T. Morgan [et al.] // *Cancer.* – 1986. – Vol. 58. – P. 1518-1525.
71. Endometrioid endometrial carcinoma with atrophic endometrium and poor prognosis / Y.P. Geels, J.M. Pijnenborg, S.Y. van den Berg-van Erp [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2012. – Vol. 120. – P. 1124-1131.
72. Endometrioid intraepithelial neoplasia (EIN) / Atypical endometrial hyperplasia / PathologyOutlines.com website. – 2018. – URL: <http://www.pathologyoutlines.com/topic/uterusein.html>.
73. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma / N. Concin, X. Matias-Guiu, I. Vergote [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2021. – Vol. 31, № 1. – P. 12-39.
74. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: diagnosis, treatment and follow-up / N. Colombo¹, C. Creutzberg, F. Amant [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2016. – Vol 27. – P. 16-41.

75. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1 / PD-L1 expression and tumour mutational burden : a systematic review-based approach / C. Luchini, F. Bibeau, M.J.L. Ligtenberg [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2019. – Vol. 30, № 8. – P. 1232-1243. – doi: 10.1093/annonc/mdz116.
76. Estrogen and progesterone receptors and cyclooxygenase-2 expression in endometrial cancer, endometrial hyperplasia, and normal endometrium / F.J. Orejuela, L.M. Ramondetta, J. Smith [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2005. – Vol. 97. – P. 483-488.
77. Estrogen and progesterone receptors in endometrial cancer and their prognostic relevance / W. Kleine, T. Maier, H. Geyer, A. Pfeleiderer // *Gynecol. Oncol.* – 1990. – Vol. 38. – P. 59-65.
78. Estrogen receptor b1 and the b2/bcx isoforms in nonneoplastic endometrium and in endometrioid carcinoma / D. Chakravarty, R. Srinivasan, S. Ghosh [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2007. – Vol. 17. – P. 905-913.
79. Estrogen receptor beta, but not estrogen receptor alpha, is present in the vascular endothelium of the human and nonhuman primate endometrium / H.O.D. Critchley, R.M. Brenner, T.A. Henderson [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – Vol. 86. – P. 1370-1378.
80. Estrogen receptor polymorphisms and the risk of endometrial cancer / K.A. Ashton, A. Proietto, G. Otton [et al.] // *BJOG.* – 2009. – Vol. 116. – P. 1053-1061.
81. Expression of estrogen and progesterone receptors in endometrium and peritoneal endometriosis: an immunohistochemical and in situ hybridization study, fertil / A. Fujishita, R.O. Chavez, P.K. Nakane [et al.] // *Steril* – 1997. – Vol. 67. – P. 856-864.
82. Expression of PAX2 in endometrial hyperplasia and carcinomas: immunohistochemical analysis of 136 cases / D.G.A. Cao, R.S. Vang, R.J. Kurman, B.M. Ronnett // *Modern Pathology.* – 2008. – Vol. 20, Suppl. 2. – Abstract № 869.

83. Expression of PAX2 in papillary serous carcinoma of the ovary: immunohistochemical evidence of fallopian tube or secondary Müllerian system origin? / G.-X. Tong, L. Chiriboga, D. Hamele-Bena, A.C. Borczuk // *Mod. Pathol.* – 2007. – Vol. 20. – P. 856-863.
84. Expression of PTTG1 and PTEN in endometrial carcinoma: correlation with tumorigenesis and progression / Z.Z. Feng, J.W. Chen, Z.R. Yang [et al.] // *Med. Oncol.* – 2012. – Vol. 29, № 1. – P. 304-310.
85. Expression of receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells and estrogen receptor subtypes in the normal, hyperplastic, and carcinomatous endometrium / X.H. Zhou, X.D. Teng, W.Y. Song, Y.J. Wu // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2008. – Vol. 18, № 1. – P. 152-158.
86. Expression of steroid receptor coactivators and corepressors in human endometrial hyperplasia and carcinoma with relevance to steroid receptors and Ki-67 expression / J. Uchikawa, T. Shiozawa, H.C. Shih [et al.] // *Cancer.* – 2003. – Vol. 98. – P. 2207-2213.
87. Features associated with survival and disease-free survival in early endometrial cancer / G.P. Sutton, H.E. Geisler, F.B. Stehman [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1989. – Vol. 160. – P. 1385-1393.
88. Gallup, D.G. Adenocarcinoma of the endometrium in women 40 years of age or younger / D.G. Gallup, R.J. Stock // *Obstet. Gynecol.* – 1984. – Vol. 64. – P. 417-420.
89. Guideline № 390 – Classification and Management of Endometrial Hyperplasia / M.-H. Auclair, P.J. Yong, S. Salvador [et al.] // *CJ Obstet. Gynaecol. Can.* – 2019. – Vol. 41, № 12. – P. 1789-1800. – doi: 10.1016/j.jogc.2019.03.025.
90. Guidelines on Clinical Management of Endometrial Hyperplasia // *HKCOG GUIDELINES.* – 2015. – № 16. – P. 1-14. – URL: https://www.hkcog.org.hk/hkcog/Download/Guidelines_on_Clinical_Management_of_Endometrial_Hyperplasia.pdf.

91. Gurda, G.T. Ki-67 index as an ancillary tool in the differential diagnosis of proliferative endometrial lesions with secretory change / G.T. Gurda, A.S. Baras, R.J. Kurman // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2014. – Vol. 33, № 2. – P. 114-119.
92. Gusberg, S.B. Precursors of corpus cancer. IV. Adenomatous hyperplasia as stage 0 carcinoma of the endometrium / S.B. Gusberg, A.L. Kaplan // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1963. – Vol. 87. – P. 662-678.
93. Hannemann, M.M. Endometrial hyperplasia: a clinician's review / M.M. Hannemann, H.M. Alexander, N.J. Cope // *Obstet. Gynecol. Reprod. Med.* – 2010. – Vol. 20, № 4. – P. 116-120.
94. Henderson, B.E. Hormonal carcinogenesis Carcinogenesis / B.E. Henderson // Heather Spencer Feigelson. – 2000. – Vol. 21, Iss. 3. – P. 427-433. – doi: 10.1093/carcin/21.3.427.
95. Hereditary Cancer Syndromes and Risk Assessment № 634 / ACOG committee opinion // American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice. – 2017. – Vol. 125. – P. 1538-1543.
96. High frequency of PIK3R1 and PIK3R2 mutations in endometrial cancer elucidates a novel mechanism for regulation of PTEN protein stability / L.W. Cheung, B.T. Hennessy, J. Li [et al.] // *Cancer Discov.* – 2011. – № 1. – P. 170-185.
97. High PD-L1 expression was associated with poor prognosis in 870 Chinese patients with breast cancer / T. Qin, Y.D. Zeng, G. Qin [et al.] // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6. – P. 33972-33981. – doi: 10.18632/oncotarget.5583.
98. Histological Typing of Female Genital Tract Tumours / R.E. Scully, T.A. Bonfiglio, R.J. Kurman [et al.]. – Heidelberg, Berlin, Germany: Springer, 1994. – P. 1-189.
99. Hu, K. Expression of estrogen receptors ERalpha and ERbeta in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma / K. Hu, G. Zhong, F. He // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2008. – Vol. 15. – P. 537-541.
100. IFN- γ from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer / K. Abiko, N. Matsumura, J. Hamanishi [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2015. – Vol. 112. – P. 1501-1509.

101. Immunohistochemical analysis of c-myc, c-jun and estrogen receptor in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium / S. Bircan, A. Ensari, S. Ozturk [et al.] // *Pathol. Oncol. Res.* – 2005. – Vol. 11. – P. 32-39.
102. Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle / B.A. Lessey, A.P. Killam, D.A. Metzger [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1988. – Vol. 67. – P. 334-340.
103. Immunocytochemical analysis of oestrogen receptors and progesterone receptors in the human uterus throughout the menstrual cycle and after the menopause / M.P. Snijders, A.F. de Goeij, M.J. Debets-Te Baerts [et al.] // *J. Reprod. Fertil.* – 1992. – Vol. 94. – P. 363-371.
104. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma / J.T. Chamber, M.L. Carcangiu, I.M. Voynick [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1990. – Vol. 94. – P. 247-254.
105. Immunohistochemical expression of PTEN and beta-catenin for endometrial intraepithelial neoplasia in Japanese women / Y. Norimatsu, T. Moriya, T.K. Kobayashi [et al.] // *Ann. Diagn. Pathol.* – 2007. – Vol. 11. – P. 103-108.
106. Immunohistochemical nuclear expression of b-catenin as a surrogate of CTNNB1 Exon 3 mutation in endometrial cancer / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2019. – Vol. 151. – P. 529-538.
107. Impact of Hormone Receptor Status and Ki-67 Expression on Disease-Free Survival in Patients Affected by High-risk Endometrial Cancer / V. Di Donato, V. Iacobelli, M.C. Schiavi [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2018. – Vol. 28, № 3. – P. 505-513.
108. Incidence of endometrial hyperplasia / S.D. Reed, K.M. Newton, W.L. Clinton [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2009. – Vol. 200, № 6. – P. 678.
109. Increased proliferation in atypical hyperplasia/endometrioid intraepithelial neoplasia of the endometrium with concurrent inactivation of ARID1A and PTEN tumour suppressors / A. Ayhan, T.-L. Mao, Y.S. Rahmanto [et al.] // *J. Pathol. Clin. Res.* – 2015. – Vol. 1, № 3. – P. 186-193.

110. Inhibition of survivin reduces cell proliferation and induces apoptosis in human endometrial cancer / Z. Ai, L. Yin, X. Zhou [et al.] // *Cancer*. – 2006. – Vol. 107. – P. 746-756.
111. Jacobsen, B.M. Progesterone receptors, their isoforms and progesterone regulated transcription / B.M. Jacobsen, K.B. Horwitz // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 357, № 1-2. – P. 18-29. – doi: 10.1016/j.mce.2011.09.016.
112. Joiner, A.K. Pax2 expression in simultaneously diagnosed WHO and EIN classification systems / A.K. Joiner, C.M. Quick, S.K. Jeffus // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2015. – Vol. 34. – P. 40-46.
113. Joint loss of PAX2 and PTEN expression in endometrial precancers and cancer / N.M. Monte, K.A. Webster, D. Neuberg [et al.] // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70, № 15. – P. 6225-6232. – doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0149.
114. Kadar, N. Steroid receptor concentrations in endometrial carcinoma: effect on survival in surgically staged patients / N. Kadar, J.H. Malfetano, H.D. Homesley // *Gynecol. Oncol.* – 1993. – Vol. 50. – P. 281-286.
115. K-ras mutations appear in the premalignant phase of both microsatellite stable and unstable endometrial carcinogenesis / G.L. Mutter, H. Wada, W.C. Faquin, T. Enomoto // *Mol. Pathol.* – 1999. – Vol. 52, № 5. – P. 257-262. – doi: 10.1136/mp.52.5.257.
116. Ki-67 acts as a biological surfactant to disperse mitotic chromosomes / S. Cuylen, C. Blaukopf, A.Z. Politi, T. Müller-Reichert [et al.] // *Nature*. – 2016. – Vol. 535, № 7611. – P. 308-312.
117. Ki-67 in endometrial cancer: scoring optimization and prognostic relevance for window studies / S. Kitson, V.N. Sivalingam, J. Bolton [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2017. – Vol. 30, № 3. – P. 459-468.
118. Ki-67 is a PP1-interacting protein that organises the mitotic chromosome periphery / D.G. Booth, M. Takagi, L. Sanchez-Pulido [et al.] // *Elife*. – 2014. – Vol. 3. – P. e01641.

119. Kurman, R.J. Precursors of endometrial and ovarian carcinoma / R.J. Kurman, T.G. McConnell // *Virchows Arch.* – 2010. – Vol. 456, № 1. – P. 1-12. – doi: 10.1007/s00428-009-0824-9.
120. Kurman, R.J. The behavior of endometrial hyperplasia A long-term study of “untreated” hyperplasia in 170 patients / J.V. Lacey, M.E. Sherman, B.B. Rush // *Cancer.* – 1985. – Vol. 56, № 2. – P. 403-442.
121. Lacey, J.V. Absolute Risk of Endometrial Carcinoma During 20-Year Follow-Up Among Women With Endometrial Hyperplasia / J.V. Lacey, M.E. Sherman, B.B. Rush // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28, № 5. – P. 788-792.
122. Lacey, J.V. Endometrial hyperplasia and the risk of progression to carcinoma / J.V. Lacey, V.M. Chia // *Maturitas.* – 2009. – Vol. 63. – P. 39-44.
123. Li, X.C. Endometrial intraepithelial neoplasia (EIN) in endometrial biopsy specimens categorized by the 1994 World Health Organization classification for endometrial hyperplasia / X.C. Li, W.J. Song // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2013. – Vol. 14. – P. 5935-5939.
124. Lokuhetty, D. Internal Agency for Research on Cancer (IARC) / D. Lokuhetty, V.A. White, R.L. Watanabe // *Female genital Tumours / WHO Classification of Tumours Editorial Board.* – 5th ed. – 2020. – ISBN 978-92-832-4504-9.
125. Loss of ARID1A expression correlates with stages of tumor progression in uterine endometrioid carcinoma / T.L. Mao, L. Ardighieri, A. Ayhan [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2013. – Vol. 37. – P. 1342-1348.
126. Loss of BAF250a (ARID1A) is frequent in high-grade endometrial carcinomas / K.C. Wiegand, A.F. Lee, O.M. Al-Agha [et al.] // *J. Pathol.* – 2011. – Vol. 224. – P. 328-333.
127. Loss of progesterone receptor links to highproliferation and increases from primary to metastatic endometrial cancerlesions / I.L. Tangen, H.M.J. Werner, A. Berg [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2014. – Vol. 50. – P. 3003-3010.
128. Loss of PTEN expression as diagnostic marker of endometrial precancer: A systematic review and meta-analysis / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // *Acta Obstet.Gynecol. Scand.* – 2019. – Vol. 98, № 3. – P. 275-286.

129. Management and clinical outcomes of endometrial hyperplasia during a 13 -year period in Songklanagarind Hospital / N. Sirimusika, K. Peeyananjarassri, Y. Suphasynth [et al.] // J. Med. Assoc. Thai. – 2014. – Vol. 97, № 3. – P. 260-266.
130. Management of Endometrial Hyperplasia / I.D. Gallos, M. Alazzam, T.J. Clark [et al.] // RCOG/BSGE Green-top Guideline. – 2016. – Vol. 67. – 30 p. – URL: <https://www.rcog.org.uk/en/guidelines-research-services/guidelines/gtg67>.
131. Management of Endometrial Precancers / C.L. Trimble, M. Method, M. Litao [et al.] // Obstet. Gynecol. – 2012. – Vol. 120. – P. 1160-1175.
132. MIB-1 in endometrial carcinoma: prognostic significance with 5-year follow-up / J.P. Geisler, H.E. Geisler, G.A. Miller [et al.] // Gynecol. Oncol – 1999. – Vol. 75. – P. 432-436.
133. Microsatellite instability is a biomarker for immune checkpoint inhibitors in endometrial cancer / H. Yamashita, K. Nakayama, M. Ishikawa [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 9, № 5. – P. 5652-5664.
134. Mills, A.M. Endometrial hyperplasia / A.M. Mills, T.A. Longacre // Sem. Diagn. Pathol. – 2010. – Vol. 27. – P. 199-214.
135. Molecular biomarkers in endometrial hyperplasias predict cancer progression / A. Steinbakk, E. Gudlaugsson, O.G. Aasprong [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2011. – Vol. 204. – P. 357-e1-e12.
136. Molecular identification of latent precancers in histologically normal endometrium / G.L. Mutter, T.A. Ince, J.P. Baak [et al.] // Cancer Res. – 2001. – Vol. 61, № 11. – P. 4311-4314.
137. Mutation and loss of expression of ARID1A in uterine low-grade endometrioid carcinoma / B. Guan, T.L. Mao, P.K. Panuganti [et al.] // Am. J. Surg. Pathol. – 2011. – Vol. 35, № 5. – P. 625-632.
138. Mutation of beta-catenin gene in endometrial cancer but not in associated hyperplasia / K. Ashihara, T. Saito, H. Mizumoto [et al.] // Med. Electron Microsc. – 2002. – Vol. 35. – P. 9-15.

139. Mutational profile of endometrial hyperplasia and risk of progression to endometrioid adenocarcinoma / M. Russo, J.M. Newell, L. Budurlean [et al.] // *Cancer*. – 2020. – Vol. 126, № 12. – P. 2775-2783.
140. Mutter, G.L. The Endometrial Collaborative Group. Endometrial intraepithelial neoplasia (EIN) Will it bring order to chaos? / G.L. Mutter // *Gynecol. Oncol.* – 2000. – Vol. 76. – P. 287-290. – doi: 10.1006/gyno.1999.5580.
141. National patterns of care and fertility outcomes for reproductive-aged women with endometrial cancer or atypical hyperplasia / R.F. Harrison, W. He, S. Fu [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2019. – Vol. 221, № 5. – P. 474.e1-474.e11. – doi: 10.1016/j.ajog.2019.05.029.
142. NCCN Guidelines Version 1.2021 Uterine Neoplasms. – URL: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1473>.
143. New concepts for an old problem: the diagnosis of endometrial hyperplasia / P.A. Sanderson, H.O. Critchley, A.R. Williams [et al.] // *Hum. Reprod. Update*. – 2017. – Vol. 23, № 2. – P. 232-254.
144. Nuclear beta-catenin is a molecular feature of type I endometrial carcinoma / A.N. Scholten, C.L. Creutzberg, L.J.C.M. van den Broek [et al.] // *J. Pathol.* – 2003. – Vol. 201. – P. 460-465.
145. Nuclear expression of β -catenin in endometrial hyperplasia as marker of premalignancy / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // *APMIS*. – 2019. – Vol. 127, № 11. – P. 699-709.
146. Nuclear localization of beta-catenin in normal and carcinogenic endometrium / H. Nei, T. Saito, H. Yamasaki [et al.] // *Mol. Carcinog* – 1999. – Vol. 25. – P. 207-218.
147. Obesity and endometrial hyperplasia and cancer in premenopausal women: A systematic review / M.R. Wise, V. Jordan, A. Lagas [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 214, № 6. – P. 689.e1-689.e17. – doi: 10.1016/j.ajog.2016.01.175.

148. Owings, R.A. Endometrial Intraepithelial Neoplasia / R.A. Owings, C.M. Quick // Arch. Pathol. Lab. Med. – 2014. – Vol. 138. – P. 484-491. – doi: 10.5858/arpa.2012-0709-RA.
149. PAIR-gynaecology: multi/interdisci-plinary for gynecologic cancer research.Problems needed to be resolved / R. Coquard, F. Chauvin, E. Leblanc [et al.] // Bull. Cancer. – 2012. – Vol. 99, № 4. – P. 479-498. – doi: 10.1684/bdc.2012.1558.
150. Palmer, J.E. Endometrial hyperplasia / J.E. Palmer, B. Perunovic, J.A. Tidy // Rev. Obstet. Gynaecologist. – 2008. – Vol. 10. – P. 211-216.
151. PAX genes: roles in development, pathophysiology, and cancer / D. Lang, S.K. Powell, R.S. Plummer [et al.] // Biochem. Pharmacol. – 2007. – Vol. 73, № 1. – P. 1-14.
152. PAX2 in endometrial carcinogenesis and in differential diagnosis of endometrial hyperplasia: A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // Acta Obstet. Gynecol. Scand. – 2019. – Vol. 98, № 3. – P. 287-299.
153. PAX2 loss by immunohistochemistry occurs early and often in endometrial hyperplasia / K.H. Allison, K. Upson, S.D. Reed [et al.] // Int. J. Gynecol. Pathol. – 2012. – Vol. 31, № 2. – P. 151-159.
154. Prediction of coexistent carcinomas risks by subjective EIN diagnosis and comparison with WHO classification in endometrial hyperplasias / Y.F. Yang, Y.Y. Liao, N.F. Peng [et al.] // Pathol. Res. Pract. – 2012. – Vol. 208. – P. 708-712.
155. Prediction of concurrent endometrial carcinoma in women with endometrial hyperplasia / K. Matsuo, A.A. Ramzan, M.R. Gualtieri [et al.] // Gynecol. Oncol. – 2015. – Vol. 139, № 2. – P. 261-267.
156. Prediction of endometrial carcinoma by subjective endometrial intraepithelial neoplasia diagnosis / J.L. Hecht, T.A. Ince, J.P. Baak [et al.] // Mod. Pathol. – 2005. – Vol. 18. – P. 324-330.

157. Prevalence of Coexisting Endometrial Carcinoma in Patients with Preoperative Diagnosis of Endometrial Hyperplasia / P. Kadirogullari, C.R. Atalay, O. Ozdemir, M.E. Sari // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2015. – Vol. 9, № 10. – P. QC10-14.
158. Prognostic impact of histological grade and vascular invasion compared with tumour cell proliferation in endometrial carcinoma of endometrioid type / I.M. Stefansson, H.B. Salvesen, H. Immervoll [et al.] // *Histopathology.* – 2004. – Vol. 44. – P. 472-479.
159. Prognostic markers for detection of coexistent carcinoma in high risk endometrial hyperplasia / A. Ørbo, B.T. Moe, M. Arnes [et al.] // *Anticancer Res.* – 2010. – Vol. 30, № 11. – P. 4649-4655.
160. Prospective multicenter evaluation of the morphometric D -score for prediction of the outcome of endometrial hyperplasias / J.P. Baak, A. Ørbo, P.J. van Diest [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2001. – Vol. 25, № 7. – P. 930-935.
161. PTEN expression in endometrial hyperplasia and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2019. – Vol. 299, № 6. – P. 1511-1524.
162. PTEN immunohistochemistry in endometrial hyperplasia: which are the optimal criteria for the diagnosis of precancer? / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // *APMIS.* – 2019. – Vol. 127, № 4. – P. 161-169.
163. PTEN-loss and nuclear atypia of EIN in endometrial biopsies can predict the existence of a concurrent endometrial carcinoma / K. Pavlakis, I. Messini, T. Vrekoussis [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2010. – Vol. 119, № 3. – P. 516-519.
164. Rajaram, R.D. Paracrine signaling by progesterone / R.D. Rajaram, C. Brisken // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 357, № 1-2. – P. 80-90.
165. Risk factor analysis of coexisting endometrial carcinoma in patients with endometrial hyperplasia: a retrospective observational study of Taiwanese Gynecologic Oncology Group / Y.L. Chen, K.L. Wang, M.Y. Chen [et al.] // *J. Gynecol. Oncol.* – 2013. – Vol. 24, № 1. – P. 14-20.

166. Risk of subsequent endometrial carcinoma associated with endometrial intraepithelial neoplasia classification of endometrial biopsies / J.V. Lacey Jr, G.L. Mutter, M.R. Nucci [et al.] // *Cancer*. – 2008. – Vol. 113. – P. 2073-2081.
167. Rižner, T.L. The Importance of Steroid Uptake and Intracrine Action in Endometrial and Ovarian Cancers / T.L. Rižner, T. Thalhammer, C. Özvegy-Laczka // *Front Pharmacol*. – 2017. – Vol. 8. – P. 346. – doi: 10.3389/fphar.2017.00346.
168. Salvesen, H.B. Prognostic significance of angiogenesis and Ki-67, p53, and p21 expression: a population-based endometrial carcinoma study / H.B. Salvesen, O.E. Iversen, L.A. Akslen // *J. Clin. Oncol* – 1999. – Vol. 17. – P. 1382-1390.
169. Schreiber, R.D. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion / R.D. Schreiber, L.J. Old, M.J. Smyth // *Science*. – 2011. – Vol. 331. – P. 1565-1570.
170. Sharma, A. Endometrial hyperplasia / endometrioid intraepithelial neoplasia (EIN) / A. Sharma, R.R. Lastra // *PathologyOutlines.com* website. – 2020. – URL: <http://www.pathologyoutlines.com/topic/uterusendometrialhyperplasiageneral.html>
171. Shevra, C.R. Cyclin D1 and Ki-67 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium / C.R. Shevra, A. Ghosh, M. Kumar // *J. Postgrad. Med*. – 2015. – Vol. 61, № 1. – P. 15-20.
172. Significance of hormone receptor status and tumor vessels in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium / O. Nunobiki, E. Taniguchi, A. Ishii [et al.] // *Pathol. Int*. – 2003. – Vol. 53. – P. 846-852.
173. Sivridis, E. Endometrial carcinoma: two or three entities? / E. Sivridis, H. Fox, C.H. Buckley // *Int. J. Gynecol. Cancer* – 1988. – Vol. 8. – P. 183-188.
174. Small endometrial carcinoma 10 mm or less in diameter: clinicopathologic and histogenetic study of 131 cases for early detection and treatment / K. Hasumi, Y. Sugiyama, K. Sakamoto, F. Akiyama // *Cancer Med*. – 2013. – Vol. 2. – P. 872-880.
175. Sporadic microsatellite instability is specific to neoplastic and preneoplastic endometrial tissues / W.C. Faquin, J.T. Fitzgerald, M.C. Lin [et al.] // *Am. J. Clin.*

- Pathol. – 2000. – Vol. 113, № 4. – P. 576-582. – doi: 10.1309/4mgm-fmrc-6awk-yqy2.
176. Strong correlation between molecular changes in endometrial carcinomas and concomitant hyperplasia / P. Zauber, T.R. Denehy, R.R. Taylor [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2015. – Vol. 25, № 5. – P. 863-868.
177. Suarez, A.A. Bokhman Redux: Endometrial cancer "types" in the 21st century / A.A. Suarez, A.S. Felix, D.E. Cohn // *Gynecol. Oncol.* – 2017. – Vol. 144. – P. 243-249.
178. The Association Between PD-L1 Expression and the Clinical Outcomes to Vascular Endothelial Growth Factor Targeted Therapy in Patients With Metastatic Clear Cell Renal Cell Carcinoma / S.J. Shin, Y.K. Jeon, Y.M. Cho [et al.] // *Oncologist.* – 2015. – Vol. 20. – P. 1253-1260.
179. The β -catenin/TCF complex as a novel target of resveratrol in the Wnt/ β -catenin signaling pathway / H.J. Chen, L.S. Hsu, Y.T. Shia [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 84, № 9. – P. 1143-1153.
180. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma / C. Kandoth, N. Schultz, A.D. Cherniack [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 497, № 7447. – P. 67-73.
181. The expression ratios of estrogenreceptor α (ER α) to estrogen receptor β 1(ER β 1) and ER α to ER β 2 identify poor clinical outcome in endometrioid endometrial cancer / G.F. Zannoni, G. Monterossi, I. De Stefano [et al.] // *Hum. Pathol.* – 2013. – Vol. 44. – P. 1047-1054.
182. The human protein atlas. – URL: <https://www.proteinatlas.org>.
183. The molecular genetics and morphometry-based endometrial intraepithelial neoplasia classification system predicts disease progression in endometrial hyperplasia more accurately than the 1994 World Health Organization classification system / J.P. Baak, G.L. Mutter, S. Robboy [et al.] // *Cancer.* – 2005. – Vol. 103, № 11. – P. 2304-2312. – doi:10.1002/cncr.21058.

184. The prognostic and therapeutic implications of cytologic atypia in patients with endometrial hyperplasia / J.E. Hunter, D.E. Tritz, M.G. Howell [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 1994. – Vol. 55, № 1. – P. 66-71.
185. The Role of ARID1A in Endometrial Cancer and the Molecular Pathways Associated With Pathogenesis and Cancer Progression / C. Toumpeki, A. Liberis, I. Tsirkas [et al.] // *In Vivo.* – 2019. – Vol. 33, № 3. – P. 659-667.
186. The two FIGO systems for normal and abnormal uterine bleeding symptoms and classification of causes of abnormal uterine bleeding in the reproductive years: 2018 revisions / M.G. Munro, H.O.D. Critchley, I.S. Fraser // *Int. Federation Gynecol. Obstet.* – 2018. – Vol. 143. – P. 393-408. – doi: 10.1002/ijgo.12666.
187. The value of curettage in diagnosis of endometrial hyperplasia / X. Xie, W.G. Lu, D.F. Ye [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2002. – Vol. 84, № 1. – P. 135-139.
188. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia / V. Chandra, J.J. Kim, D.M. Benbrook, A. Dwivedi, R. Rai // *J. Gynecol. Oncol.* – 2016. – Vol. 27, № 1. – P. 712-749. – doi:10.3802/jgo.2016.27.e8.
189. Trabzonlu, L. BCL-2 and PAX2 expressions in EIN which had been previously diagnosed as non-atypical hyperplasia / L. Trabzonlu, B. Muezzinoglu, A. Corakci // *Pathol. Oncol. Res.* – 2019. – Vol. 25. – P. 471-476.
190. Two distinct tumorigenic processes in endometrial endometrioid adenocarcinoma / Y. Sugiyama, O. Gotoh, N. Fukui [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2020. – Vol. 190, № 1. – P. 234-251. – doi: 10.1016/j.ajpath.2019.09.022.
191. Upregulation of PD-L1 and APE1 is associated with tumorigenesis and poor prognosis of gastric cancer / Y. Qing, Q. Li, T. Ren [et al.] // *Drug Des Devel. Ther.* – 2015. – Vol. 9. – P. 901-909.
192. Use of computerized morphometric analyses of endometrial hyperplasias in the prediction of coexistent cancer / C.J. Dunton, J.P. Baak, J.P. Palazzo [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1996. – Vol. 174, № 5. – P. 1518-1521.
193. Using gene expression in patients with endometrial intraepithelial neoplasia to assess the risk of cancer / K. Vierkoetter, J. Wong, H.J. Ahn [et al.] // *Gynecol. Oncol. Rep.* – 2018. – Vol. 24. – P. 24-26.

194. Xiong, Y. Expression and significance of beta-catenin, Glut-1 and PTEN in proliferative endometrium, endometrial intraepithelial neoplasia and endometrioid adenocarcinoma / Y. Xiong, Y.Y. Xiong, Y.F. Zhou // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2010. – Vol. 31, № 2. – P. 160-164.
195. Which surgical procedure for patients with atypical endometrial hyperplasia? / B.S. Karamursel, S. Guven, G. Tulunay [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2005. – Vol. 15, № 1. – P. 127-131.
196. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs / R.J. Kurman, M.L. Carcangiu, C.S. Herrington, R.H. Young // *WHO Classification of Tumours.* – 4th ed. – 2014. – ISBN 978-92-832-2435-8.
197. Wnt/Bcatenin and sex hormone signaling in endometrial homeostasis and cancer / Y. Wang, M. van der Zee, R. Fodde, L.J. Blok // *Oncotarget.* – 2010. – Vol. 1. – P. 674-684.
198. Yang, G. Correlations between microsatellite instability and the biological behaviour of tumours / G. Yang, Z. Zai // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2019. – Vol. 145, № 12. – P. 2891-2899.
199. Zhang, S. PI(3)K apart PTEN's role in cancer / S. Zhang, D. Yu // *Clin. Cancer Res.* – 2010. – Vol. 16, № 17. – P. 4325-4330.
200. Zhu, X. PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer / X. Zhu, J. Lang // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 57. – P. 97671-97682. – doi: 10.18632/oncotarget.18311.

Saint-Petersburg University

Manuscript copy

Sobivchak Maria Sergeevna

**"Clinical and morphological features of malignant transformation
of hyperplastic processes of the endometrium"**

Scientific specialty: 3.1.6. Oncology, radiation therapy

Dissertation for the degree of Candidate of Medicine

Translation from Russian

Academic supervisors:

Protasova Anna Eduardovna

Doctor of Medicine

Raskin Grigory Alexandrovich

Doctor of Medicine

Saint-Petersburg – 2023

CONTENTS

INTRODUCTION.....	4
 Chapter 1 MODERN CONCEPTS OF ENDOMETRIAL HYPERPLASIA	
MALIGNIZATION (LITERATURE REVIEW).....	12
1.1 Epidemiology of endometrial hyperplasia and endometrial cancer.....	12
1.2 Formation of concepts and classification approaches of endometrial hyperplasia	14
1.3 Relationship between endometrial hyperplasia and endometrial cancer. Hypotheses of endometrial malignization.....	20
1.4 Endometrioid intraepithelial neoplasia as a morphological form of precancer	26
1.5 Immunohistochemical characteristics of endometrial hyperplasia and cancer. Molecular predictors of endometrial malignization.....	30
 Chapter 2 MATERIAL AND METHODS	
2.1 Characteristics of the research	44
2.2 Method of morphological research	46
2.3 Method of immunohistochemical research	48
2.4 Statistical research methods	53
 Chapter 3 RESULTS.....	
3.1 Structure of endometrial diseases in the study group 818 women	55
3.2 Clinical and morphological features of benign endometrial hyperplasia, endometrioid intraepithelial neoplasia and endometrioid endometrial cancer	57
3.3 Immunohistochemical features of benign endometrial hyperplasia, endometrioid intraepithelial neoplasia and endometrioid endometrial cancer	72
 Chapter 4 DISSCUSSION	
	94

SUMMARY	101
CONCLUSIONS.....	102
PRACTICAL RECOMMENDATION	104
LIST OF ABBREVIATIONS AND SYMBOL.....	105
BIBLIOGRAPHY	107

INTRODUCTION

Relevance of the research topic

The relevance of studying the problem of endometrial hyperplastic processes is conditioned to the high level of morbidity, as well as the lack of accurate data about the mechanisms of the transition of the precancerous process to cancer. In the structure of gynecological diseases, endometrial hyperplasia ranks second after infectious diseases (from 15 to 50% according to different authors) [80, 19, 111, 144]. However, due to the emergence of new diagnostic criteria and the introduction of a new classification system for endometrial hyperplasia, there are currently no epidemiological data on the prevalence of endometrial hyperplastic processes according to the 2014 WHO criteria.

Endometrial hyperplasia, especially its atypical form, has a high risk of transformation into endometrial cancer, which currently ranks second among malignant neoplasms in women after breast cancer. Every year, up to 417 000 women in the world; 104 051 in the countries of the European Union; 54 721 in the United States of America and 22 755 in Russia fall ill with endometrioid cancer [23]. There is a steady increase in the incidence of endometrioid cancer, both in Europe and in Russia, and in St. Petersburg. From 2009 to 2020 in Russia, there was a significant increase in the incidence of endometrioid cancer in comparison with other localizations. Increase was 39%. The cumulative risk of developing endometrial malignancy also increased by 0.45 over 10 years and now stands at 2.35 [120].

Today, there are no objective predictors of the dynamics of endometrial hyperplasia in the direction of spontaneous regression (20-50%) or, conversely, progression to adenocarcinoma, the risk of which in the case of atypical endometrial hyperplasia can reach 40-50% [28].

Currently, the definition of endometrial hyperplasia has not changed, it is considered as the proliferation of predominantly glandular tissue, resulting in an increased gland/stroma ratio compared to normal endometrium [80].

However, as a result of numerous scientific studies and in-depth study of molecular processes, approaches to the pathogenesis and classification of endometrial hyperplastic processes are changing. Some recent studies have shown that if simple and complex endometrial hyperplasia without atypia are the result of absolute or relative hyperestrogenism, then atypical endometrial hyperplasia is a progressive monoclonal mutational lesion in epithelial cells with local growth independent of systemic hormonal influence [124].

In connection with the supposed difference in the pathogenesis of hyperplasia without atypia and atypical endometrial hyperplasia, the Endometrial Collaborative Group in 2000 proposed the term "endometrial intraepithelial neoplasia".

The key histological sign of endometrial intraepithelial neoplasia is a decrease in the content of stroma per unit volume of tissue compared to the epithelial (glandular) component, which exceeds 55% of its total volume, and signs of cellular atypia, which makes it possible to characterize such changes as a precancerous condition of the endometrium.

Since 2014, WHO has adopted a new binary classification of endometrial hyperplasia, approving the new term endometrioid intraepithelial neoplasia (EIN) for use and new criteria for its diagnosis, while emphasizing that the criteria for diagnosis remain subjective. The 2020 revision of the WHO rubricator confirmed and recommended the use of the binary classification. Only morphological criteria for diagnosis are mandatory, and immunohistochemical (IHC) markers are desirable.

However, studies show that only the histological evaluation of the preparation of atypical EH is subjective, and similar results in different histologists are detected in less than 50% of cases [109]. It indicates the need for more accurate diagnosis. In this aspect, the diagnostic and prognostic role in the assessment of endometrial malignancy of IHC markers is being studied.

The most common genetic changes in endometrial adenocarcinoma include the so-called microsatellite instability, which, in turn, can lead to multiple gene mutations (MLH1, MLH2 and MSH6), as well as cause a mutation of the tumor suppressor gene PTEN (phosphatase / tensin homolog) [2, 115]. Other genetic changes characteristic of endometrial cancer are loss of PAX2 and ARID1a expression [115, 117, 130, 191]. The detection of such immunohistochemical changes in the endometrium can serve as a marker of the hereditary form of endometrial adenocarcinoma and a predictor of malignancy of endometrial hyperplasia. However, the accumulated data is still not enough to introduce these indicators into the routine practice of a doctor.

Differential diagnosis between benign hyperplasia and true endometrial neoplasia is of great clinical importance due to the difference in the risk of malignancy. A correct diagnosis will help prescribe adequate therapy and avoid insufficiently effective or overly radical treatment, especially in women of reproductive age. The IHC study is promising in this regard, however, there are no clear indications for its use in endometrial hyperplasia.

Given the already known differences in the molecular characteristics of endometrial cancer, according to the molecular classification of EC, it can be assumed that there is a similar pattern in endometrial hyperplastic processes, and when it is detected, it may be possible to establish new diagnostic criteria that will help predict the risk of endometrial hyperplasia malignancy and diagnose specific type of tumor. This can be a key moment in the approach to treatment and further tactics of managing a patient with this pathology.

Objective

To identify clinical, morphological and molecular predictors of malignant transformation of endometrial hyperplasia

Research tasks

1. Identify the prevalence of endometrial hyperplastic processes in the study group according to the 2014 WHO binary classification.
2. Assess the risk factors for malignancy of endometrial hyperplasia based on anamnestic and clinical data.
3. Assess the morphological and molecular features of benign, atypical endometrial hyperplasia and endometrioid adenocarcinoma of the endometrium.
4. Determine the prognostic criteria for malignant transformation of endometrial hyperplasia based on the assessment of clinical, morphological, and immunohistochemical parameters.
5. Clarify the indications for the use of IHC markers in patients with suspected hyperplastic and neoplastic diseases of the endometrium.

Scientific novelty

For the first time, the prevalence of EH was assessed in the Russian Federation according to the 2014 WHO criteria in the study group of 818 women. For the first time, the diagnostic and prognostic significance of the selected IHC panel for assessing the malignancy of EH is specified, and clear indications for the use of IHC markers are established.

Theoretical significance

This study clarifies the sequence of molecular events in the process of endometrial carcinogenesis.

Practical significance

This study identifies clinical and molecular predictors of malignant transformation of endometrial hyperplasia, clarifies the indications for the use of IHC markers in patients with EH.

Methodology and research methods

The first part of the study is retrospective and includes an analysis of the histological findings of 818 women with suspected EH according to the clinical picture and / or ultrasound signs, who underwent hysteroscopy with morphological verification of the diagnosis. The purpose of this part of the work is to identify the structure of endometrial pathology and the prevalence of endometrial hyperplasia according to the 2014 WHO criteria.

The second part of the study is comparative and includes 107 women who are divided into three groups according to the diagnosis. The diagnosis was established on the basis of the 2014 WHO morphological criteria after reviewing the preparations in a specialized oncopathological laboratory.

Inclusion Criteria:

1. Histologically confirmed diagnosis of endometrial hyperplasia without atypia.
2. Histologically confirmed diagnosis of endometrioid intraepithelial neoplasia.
3. Histologically confirmed diagnosis of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium.

Exclusion Criteria:

1. Non-endometrioid type of endometrial cancer.
2. Hereditary forms of endometrioid cancer (Lynch syndrome).
3. Taking Tamoxifen.

Clinical examination methods included clinical and anamnestic method. Data from case histories were analyzed with an assessment of risk factors for hyperplastic and neoplastic diseases of the endometrium.

Evaluated:

1. Age, stage of aging of the reproductive system (STRAW+10).
2. Comorbid background (the presence of obesity, overweight, arterial hypertension, diabetes, thyroid disease).
3. Obstetric and gynecological history (age of onset of menstruation and their nature, gynecological diseases , especially endometrial hyperplasia, infertility, number of pregnancies with their outcomes, age of menopause).

4. History of the disease (clinical picture, results of previous histological findings evaluating the endometrium).

Morphological method: a morphological review of preparations was carried out in a specialized oncopathological laboratory, an IHC study was performed with an assessment of the expression of BAF250a (ARID1A), PTEN, β -catenin, PAX2, PDL1 by determining the MSI / MMR status (MSH6, PMS2, MLH1, MLH6), proliferation index (Ki-67) and receptor profile (expression of steroid hormone receptors – Er and Pr).

Further, the statistical processing of the obtained results was performed using IBM SPSS Statistics 24.

The patients' condition was monitored 3-5 years after the diagnosis by telephone survey and medical records to determine the prognostic role of IHC markers, possible malignancy of endometrial hyperplasia, and to assess 3-year survival.

The following statements are submitted to the thesis defence

1. The prevalence of endometrial hyperplastic processes according to the WHO binary classification was: 30% – benign endometrial hyperplasia and 4% – EIN.
2. Clinical factors of endometrial malignancy can be age and concomitant somatic diseases, such as arterial hypertension and type 2 diabetes mellitus.
3. Loss of expression of PAX2, PTEN can be considered as initial signs of malignant transformation of endometrial hyperplasia.
4. The prognostic role of IHC markers in assessing the risks of EH malignancy is not yet clear and requires further study.
5. A comprehensive assessment of clinical and morphological data and expression of a panel of markers PAX2, PTEN, ARID1A, β -catenin, Ki-67 index, PMS2 and MLH1 will improve the diagnostic search for suspected malignancy of endometrial hyperplasia.

Practical recommendations

1. For additional differential diagnosis of benign endometrial hyperplasia and endometrioid intraepithelial neoplasia, immunohistochemical determination of PAX2 and PTEN is recommended.
2. PAX2 and PTEN should be determined in patients older than 55 years and/or in the postmenopausal period with a morphologically confirmed diagnosis of endometrial hyperplasia due to the high probability of their having endometrioid intraepithelial neoplasia.
3. In patients with significant risk factors for endometrial cancer (age over 55 years, postmenopausal period, presence of hypertension, presence of type 2 diabetes mellitus) with a morphologically verified diagnosis of endometrioid intraepithelial neoplasia, the determination of MMR/MSI, ARID1a will exclude or identify coexisting endometrial cancer.

The degree of reliability and approbation of the results

The collection of clinical data was carried out on the basis of case history. The revision of the histological material for the final diagnosis was performed by an expert in the field of oncopathology. For the IHC study, standardized antibodies were used, the results were also monitored according to the protocols for each of the antibodies. The creation and design of the database and statistical processing of the study results were carried out using the Microsoft Office and IBM SPSS Statistics 24 software packages. To test statistical hypotheses, a P criterion less than 0.05 ($P < 0.05$) was chosen, only with this value of p the difference between samples were considered statistically significant. All results and conclusions of the presented dissertation are based only on statistically reliable data.

The materials of the dissertation work were reported and published in the collection of abstracts for the XXIV International Medical and Biological Scientific Conference of Young Researchers “Fundamental Science and Clinical Medicine. Man and his health” (St. Petersburg, 2021); VII St. Petersburg Oncological Forum

"White Nights" (St. Petersburg, 2021); XXV International Biomedical Scientific Conference of Young Researchers "Fundamental Science and Clinical Medicine. Man and his health" (St. Petersburg, 2022); VIII St. Petersburg Cancer Forum "White Nights" (St. Petersburg, 2022).

On the topic of the dissertation research, 9 papers have been published in journals recommended by the Higher Attestation Commission of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, including two journals included in the Scopus abstract base.

Thesis structure

The dissertation work is presented on 128 pages of typewritten text and consists of an introduction, literature review, description of materials and research methods, results of own research and their discussion, conclusions, practical recommendations and a list of references, including 24 domestic and 176 foreign sources. The work is illustrated with 12 tables and 34 figures.

Chapter 1

MODERN CONCEPTS OF ENDOMETRIAL HYPERPLASIA MALIGNIZATION (LITERATURE REVIEW)

1.1 Epidemiology of endometrial hyperplasia and endometrial cancer

The epidemiological situation in relation to endometrial hyperplastic processes remains insufficiently studied today. This is due, firstly, to the absence of a mandatory register of this pathology. Secondly, in connection with the introduction of a new classification of EH and the emergence of a new nosological unit – endometrioid intraepithelial neoplasia (EIN). Currently, there are no epidemiological studies that would clarify the prevalence of EIN and benign endometrial hyperplasia in the Russian population and the world as a whole.

According to existing data, there are about 200 000 new cases of EH annually in developed countries [30].

Most of the authors in their papers present the results of the largest population-based study of 2009. It included more than 63 000 histological samples of the endometrium and revealed an incidence of simple EH of 58 per 100 000 women per year, complex EH of 63 per 100 000, and AEH of 17 per 100 000 [96].

The works of domestic authors, such as B.I. Zheleznov, E.A. Smirnova, which describe the frequency of occurrence of AEH, date back to the 1970s. According to the results of these scientists, AEH is observed from 1.7% to 5.8% of cases of all studied endometrial samples [163, 199].

To date, there is a lack of modern statistical data on the prevalence of EH in the Russian population.

Special attention should be paid to the incidence of AEH and minimal endometrial cancer in women of reproductive age. It is for this category of women that it is important to establish the correct diagnosis, assess the risks of malignancy

and the possibility of conservative therapy in order to preserve reproductive function. Based on several studies, it can be said that AEH and initial EC occur in women younger than 40 years in 5-25% of cases [46, 47, 74].

According to the National Cancer Institute, endometrial cancer is diagnosed in about 7% of women of reproductive age [22].

Recently, there has been a trend towards an increase in the incidence of AEH and initial EC in women of reproductive age. In the United States, analyzed cases of insurance claims for these diagnoses over 10 years and 4007 patients under 45 years of age with established precancer and endometrial cancer were identified, that is, on average, this is 400 women per year, who, if properly diagnosed, can maintain childbearing function if necessary [134].

According to Ya.V. Bokhman in 50% of cases, atypical hyperplasia turns into invasive endometrial cancer [18].

Cancer of the uterine body (carcinoma of the uterine corpus) is the most common malignant tumor of the female genital organs in developed countries after breast cancer and the 2nd most common after cervical cancer in the world. Cancer of the uterine body is a morphologically heterogeneous malignancy. In this dissertation study, only the endometrioid type of endometrial cancer is considered, since EIN is a precancer of this morphological type. Endometrioid adenocarcinoma is determined in 80% of cases of malignant diseases of the uterine body [148].

Every year, up to 417 000 women fall ill with endometrioid cancer in the world, 104 051 in the countries of the European Union, 54 721 in the United States of America and 22 755 in Russia [23]. There is a steady increase in the incidence of endometrioid cancer, both in Europe and in Russia, and in St. Petersburg. From 2009 to 2019 in Russia, there was a significant increase in the incidence of endometrioid cancer in comparison with other localizations. Its score is 39%. The cumulative risk of endometrial cancer also increased by 0.45 over 10 years and is now 2.35. In 2019, in 15% of cases, endometrial cancer was detected in women of reproductive age up to 45 years [120].

The average age of patients with endometrioid cancer in Europe and Russia is 63 years. More than 80% of cases occur in women over the age of 50. However, we emphasize once again that EC also occurs in women of reproductive age. In 2019, in Russia, endometrial cancer was detected in 15% of cases in women under 45 years of age [120].

1.2 Formation of concepts and classification approaches of endometrial hyperplasia

Although there is no single definition of EH, the essence of the concept most often comes down to a change in the ratio of stroma/gland in the endometrial tissue towards an increase in the glandular component [28, 127].

According to other authors, the concept of EH should take into account not only quantitative changes in the balance of the glandular and stromal components of the endometrium, but also a qualitative restructuring of the endometrial glands, namely the appearance of signs of cellular atypia of varying severity up to the development of EC [28, 73, 98, 108].

The diagnosis of "endometrial hyperplasia" is established on the basis of cytological or histological methods for examining the endometrium using diagnostic morphological criteria that have repeatedly undergone changes. The diagnostic criteria are based on the assessment of the balance of the glandular and stromal components of the endometrium, as well as the absence or presence of atypical epithelial cells.

For the first time this pathology was described by the Canadian scientist Thomas Cullen in his monograph "Cancer of the uterus". Cullen found atypical endometrial cells in areas adjacent to foci of endometrial adenocarcinoma [38].

Only half a century later, Gusberg described adenomatous hyperplasia and defined it as a precancerous disease of the endometrium [78]. Further, the terms

atypical hyperplasia and carcinoma in situ were proposed to describe the precancerous process [25].

Even then, there was an understanding that EH is a heterogeneous pathology and has different forms with different malignancy potential, which required the introduction of new terms and classification.

In 1961, 1 classification of endometrial hyperplastic processes was appeared and included 4 categories: benign hyperplasia, type I atypical hyperplasia, type II atypical hyperplasia, type III atypical hyperplasia.

Subsequently, this classification and terminology has been repeatedly changed and revised (Table 1). Prior to 1985, terms such as "mild, moderate, and severe hyperplasia" were often used in the US, while "cystic" and "adenomatous hyperplasia" was more fashionable in Europe. The lack of a unified approach caused confusion and disagreement in terminology between experts even in the same country [11].

In modern literature, two main classification systems are used to subdivide EH, which are based on an attempt to stratify the risk of EH malignancy.

Table 1 – Revisions of the classification system for endometrial hyperplastic processes [186]

YEAR	Classifying type			
1961	Benign hyperplasia	Atypical hyperplasia type I	Atypical hyperplasia type II	Atypical hyperplasia type III
1963	Mild adenomatous hyperplasia	Moderate adenomatous hyperplasia	—	Marked adenomatous hyperplasia
1966	Cystic hyperplasia	Adenomatous hyperplasia	Anaplasia	Carcinoma in situ
1972	Cystic hyperplasia	Adenomatous hyperplasia	Atypical hyperplasia	Carcinoma in situ
1978	Cystic hyperplasia	Adenomatous hyperplasia		Atypical hyperplasia

Table 1 continuation

YEAR	Classifying type			
1979	Hyperplasia without atypia	Hyperplasia with mild atypia	Hyperplasia with mild atypia	Hyperplasia with severe atypia
1985	Simple, nonatypical	Complex, nonatypical	Simple atypical	Complex atypical
1994	—	—	—	—
Added table from the V. Chandra et al. paper [186].				

In 1994, the WHO recommended a classification system based on the histological features of hyperplastic lesions. The system is built on the glandular / stromal architectural structure of the endometrium and the presence or absence of cytological atypia and is divided into 4 categories:

1. Endometrial hyperplasia without atypia:

- simple endometrial hyperplasia: a change in the shape and size of the endometrial glands, a violation of their distribution, lymphoid-leukocyte infiltration and signs of circulatory disorders are possible in the stroma;
- complex or complex hyperplasia of the endometrium: increased proliferative processes in the glandular component of the endometrium, characterized mainly by an increase in the number of glands, a change in their shape and a decrease in the stromal component.

2. Atypical hyperplasia:

- simple atypical hyperplasia: branching of the glands, formation of papillary outgrowths towards the lumen of the endometrial glands, covered with multinuclear cylindrical glandular epithelium, stromal thickening, stasis phenomena and the formation of fibrin thrombi in the blood vessels;
- complex or complex hyperplasia (adenomatous): disorganization and crowding of the uterine glands, cytotypic changes in the tinctorial properties of the cell cytoplasm, a tendency to disrupt the differentiation of epithelial cells, the stroma is represented by narrow layers of connective tissue [85].

However, over time, there was an understanding that this classification is not perfect and does not solve clinical problems in the tactics of managing patients and reducing the incidence of EC.

To improve the quality of predicting the risks of EH malignancy, in 2000, a group of pathologists from the International Endometrial Collaborative Group (ECG), based on an assessment of not only morphological, but also cytogenetic parameters, proposed the term "endometrial intraepithelial neoplasia" (EIN) [133].

The EIN system is a synthesis of new data obtained since 1980, generalized into a classification system that corresponds to the new concept of the pathogenesis of EH.

Initially, the task of the EIN system was to objectify the morphological diagnosis. For this, Baak et al. developed a computerized morphometric evaluation scale D-score. The parameters for evaluation are the sum of the percentage volume of the stroma, the severity of nuclear polymorphism and the state of the superficial glands. Endometrial changes are classified as benign when D is less than or equal to 1, EIN is established when D is greater than 1 [181]. However, due to the high cost of this technique, it could not enter into routine practice.

There are a number of morphological (cytological and histological) criteria for the diagnosis of EIN: a change in the ratio of glandular tissue / stroma towards an increase in the glandular component (stroma less than 55%), a zone of precancerous changes of at least 1 mm, cytological differences between altered glands and surrounding normal ones, which include enlarging and rounding the nuclear; coarse-meshed unevenly distributed chromatin; inconspicuous nucleoli, visible only at high magnification; loss of polarity [181].

Taking into account the new concept of the EIN binary system, in 2014 WHO updated the classification of endometrial hyperplasia, confirming it with a revision in 2020 [115, 194].

It comes in two categories:

1. Endometrial hyperplasia without atypia (synonym: benign endometrial hyperplasia).

Obligatory diagnostic criteria are: an increase in the endometrial ratio of gland / stroma, tubularity, branching and / or cystic enlarged glands resembling a proliferative endometrium, a uniform distribution of altered nuclei in the tissue under study.

2. Endometrioid intraepithelial neoplasia (synonym: endometrial atypical endometrial hyperplasia).

Obligatory diagnostic criteria are: morphological changes in endometrial cells with crowding of endometrial glands and damaged cytological picture of the epithelium, different from the surrounding glands and / or represented by islands of non-tumor glands.

The terms simple and complex (complex) hyperplasia have been abolished, and the term endometrioid intraepithelial neoplasia has been recommended instead of endometrial intraepithelial neoplasia to show the association of the diagnosis with an endometrioid rather than a serous type of endometrial tumor [56].

The latest WHO classification is approved and recommended for use by the world's leading expert organizations: the Royal College of Obstetricians and Gynecologists (RCOG) in 2016 and the International Association of Obstetricians and Gynecologists FIGO in 2018 [123, 184].

Comparison of classification systems of endometrial hyperplastic processes.

According to the literature, there are reports of several classification systems of endometrial hyperplastic processes that are currently used in practice and in science: this is the WHO 1994 system, which divides EH into 4 categories, taking into account the architectonics of the glands; its 2014 revision (and new 2020 version), which includes two categories considering the presence or absence of cellular atypia and a binary EIN (endometrial intraepithelial neoplasia) system that can be based on objective (computer morphometry and D-score scale) and subjective criteria .

Although the 2014 revision of the WHO classification conceptually adopted the binary system of EIN, which is now equated, it does not contain the criteria for precancerous changes that were originally adopted for the concept of EIN [136].

In fact, four categories were merged into two: simple and complex EH without atypia were combined into one group – AH without atypia, and simple and complex EH with atypia were combined into the EIN group [194].

The following are data from meta-analyses designed to compare classifications on several characteristics: their congruence, validity for determining malignancy prognosis, and the likelihood of coexisting malignancies. However, there is a risk of bias and bias in the identified judgments, since each study used different morphological criteria for assessing the AEH and there is a high probability of subjectivity in this assessment. It again underlines the problem of the lack of a unified classification.

According to the results of the 2019 meta-analysis, which included 8 studies [17, 31, 100, 114, 149, 151, 161, 187] with 1352 samples of hyperplastic changes in the endometrium, the following patterns were established: in 1/4 cases, when analyzing simple and complex EH without atypia showed signs of precancerous changes characteristic of EIN. In the category of simple EH without atypia, only 6% showed signs of EIN, which indicates a high congruence of these concepts, however, in cases of complex EH without atypia, atypia was detected in 50% of cases, which is half of the cases are precancer. On the other hand, almost one-fifth of the 1994 category of hyperplasia (simple and complex) was benign according to the criteria for EIN: complex EH with atypia met the criteria for EIN in 90% of cases, while simple EH with atypia met the criteria for EIN only in 15% of cases. It follows that the 1994 WHO classification cannot be directly translated into a binary EIN system due to insufficient congruence between categories. This study reveals a more significant role for the complexity of cellular architectonics, rather than a sign of atypia, to meet the criteria for EIN [36].

Regarding to the predictive value of malignancy criteria, several studies have shown that an objective EIN system with computerized calculation of morphometric data has a higher predictive value compared to the WHO system [33, 155, 181].

A 2018 systematic review also found that the subjective criteria for EIN do not exceed the accuracy of the WHO classification criteria 94 [49].

Eighteen studies [17, 31, 32, 34, 35, 42, 52, 122, 149, 150, 152, 154, 158, 160, 182, 185, 190, 193], comparing the WHO classification criteria 1994 and the EIN system for the presence of coexisting endometrial adenocarcinoma in EH were included in a meta-analysis by Travaglino et al. 2018. The relative risk for concomitant endometrial cancer was similar between both classifications (11.15 and 11.85; $p=0.90$), and there were differences in their sensitivity and specificity, suggesting that one classification could potentially complement the other [50].

Based on the above data, today there are no high-precision EH criteria that would be suitable for use in clinical practice and reliably stratify the risks of endometrial malignancy. Therefore, the problem is still relevant for further study.

1.3 Relationship between endometrial hyperplasia and endometrial cancer.

Hypotheses of endometrial malignization

In this section, we consider the possible relationship between hyperplasia and endometrial cancer: common risk factors, pathogenesis, and mechanisms of malignant transformation.

Risk factors for endometrial hyperplasia and EC are largely similar and based on the presence of hyperestrogenemia. The difference in the risk factors for the development of these pathologies is age: above 35 years for EH, and 50-55 years for EC, which is associated with the average age of disease development [51, 135]. The literature does not indicate whether there are differences in risk factors for benign and precancerous changes in the endometrium.

The latest international recommendations provide evidence that one of the triggers for the development of both endometrial hyperplasia and endometrioid adenocarcinoma, as previously thought, is the excessive action of estrogen, which, without encountering opposition from progesterone, stimulates the growth of

endometrial cells by binding to estrogen receptors in the nuclei of endometrial cells [28, 51, 58, 115, 123, 135]. With this in mind, the main risk factors are identified.

In the reproductive period, the state of hyperestrogenemia can cause: polycystic ovary syndrome, when an increased concentration of peripheral androgens is converted into an excess of estrogens; chronic anovulation or infertility, when there is a relative excess of estrogens without the proper content of progesterone, which leads to uncontrolled cell proliferation. In peri- and postmenopausal age, exogenous estrogen as part of hormonal menopausal hormone therapy, or tamoxifen therapy, which is an estrogen receptor antagonist in the mammary gland, but an agonist in the endometrium, has an effect [166]. At any age, elevated estrogen levels can be caused by obesity (adipocytes contain the enzyme aromatase, which converts androgens into estrogens, increasing their blood levels) [140]. An interesting fact is that already overweight (BMI more than 25 kg/m²), and not just obesity (BMI more than 30 kg/m²) leads to an increased risk of developing endometrial pathology. Thus, according to the results of a case-control study published in the Lancet, the risk of developing EC increases by 200-400 times with excess body weight [15].

Obesity is often accompanied by other elements of the metabolic syndrome (type 2 diabetes mellitus, hypertension), which are also risk factors for the development of hyperplastic and neoplastic endometrial diseases [58].

There are also ovarian pathologies leading to hyperestrogenemia: stromal hyperplasia and ovarian hyperthecosis and hyperandrogenism associated with these conditions, as well as hormone-producing ovarian tumors [166].

In addition to estrogenic stimulation, factors such as immunosuppression and infection may play a role in the development of EH. A retrospective analysis of 45 kidney transplant patients with AUB showed a twofold increase in the incidence of EH compared with patients without a transplant (69% vs. 33%) [123].

Table 2 lists the relative risks of developing EC, taking into account various risk factors.

Table 2 – Relative risks of developing endometrial cancer (ESMO; ESGO; ESTRO, 2016)

Risk factor	Relative risk
Metabolic syndrome	1,89
Obesity	2,21
Hypertension	1,81
Triglyceridemia	1,17
Type 2 diabetes	2,1
No history of childbirth and infertility, polycystic ovaries syndrome	2,8
Estrogen replacement hormone therapy for more than 5 years	10-30
Estrogen-producing ovarian tumors	20% suffering from EC
Early menarche and late menopause	2,0
Menarche less than 12 years old	2,4
Menopause over 55	1,8
Taking tamoxifen:	
Perimenopausal	There is no increased risk
Postmenopausal	4,0

Although the risk factors for the development of endometrial neoplastic processes have been studied quite well, there are many questions about the feasibility of population screening for endometrial cancer. According to the analysis of modern studies on the effectiveness of EC screening, it can be concluded that to date there are no methods for screening endometrial cancer in the population [44]. This fact once again underlines the need to study possible predictors of endometrial malignancy.

In addition to the above risk factors, there is a special group of patients with a genetic risk of developing EC 40-60% higher compared to the population – these are patients with Lynch Syndrome (non-polyposis colorectal cancer). For them, selective screening has been developed – endometrial biopsy, starting from the age of 35, while effective screening for EC in the population does not exist [82].

It is important to emphasize that EH without atypia has not been noted as a risk factor for the development of precancer and EC.

Despite the fact that the role of estrogen exposure in the pathogenesis of the development of endometrial hyperplasia is a generally accepted and proven fact, new data are emerging on the pathogenesis of the development of precancer and endometrial cancer, based on the study of the cellular genome. The key link in the new concept is the accumulation of mutational damage [174]. Can it be argued today that the process of malignant transformation occurs sequentially from disordered endometrial proliferation to EH-AEH and EC under the influence of hormonal stimulation [76], or are there two independent pathways of the endometrium: “the path of hyperplasia or the path of neoplasia” [79], and the latter pathway may not be related to estrogenic influence.

Now the ideas about the pathogenesis of endometrial hyperplastic processes are changing and being refined. If endometrial hyperplasia without atypia is associated with hormonal influence on the endometrium, in particular with hyperestrogenism [124], then the development of atypical endometrial hyperplasia is associated with the accumulation of genomic mutations, and the role of estrogenic effects is being specified [28].

EH without atypia does not share similar genetic mutations with endometrial adenocarcinoma [7].

While the genes that are damaged in EIN and EC are the same and include: inactivation (mutation or deletion) of the PTEN gene in 44-63% of cases [5, 129], inactivation of the PAX2 gene in 71% [101], KRAS mutation – 16% [102], and microsatellite instability in 20-25% [172]. The role of genetic markers is described in the relevant section.

There are several studies in the literature that try to prove differences in the pathogenesis of EH without atypia and atypical EH, indicating that initially EH without atypia is a diffuse process with pronounced signs of proliferation in the glands and stroma, while AEH occurs as microfoci. The results of the study by Bishtavi et al. showed that AEH can occur against the background of various conditions of the endometrium, reflecting both obvious signs of estrogen stimulation (EH, proliferative endometrium) and obvious signs of hypoestrogenism (atrophic

endometrium, often with signs of destructive changes, polyposis, as a rule, against the background of atrophic endometrium) [141]. This fact casts doubt on the exclusive role of estrogen in the development of precancerous and oncological processes.

Most of the risk factors for endometrial cancer, as mentioned above, can be explained by the hypothesis of excessive estrogen exposure to the endometrium. According to this hypothesis, exposure to endogenous or exogenous estrogens in the absence of progesterone or synthetic progestins increases endometrial cell proliferation. However, it has only recently begun to talk about DNA replication errors caused by this process, which can lead to somatic mutations and malignant transformations [162].

Although there is evidence that hormonal secretion and metabolism can be regulated by environmental influences such as diet and physical activity, it is also known that the control of hormonal patterns is largely genetically regulated. Thus, the role of genes promoting carcinogenesis in hormone-sensitive tissue is extremely important, and candidate loci in genes responsible for interindividual differences in steroid hormone levels should be identified. These loci are probably involved in the metabolism and transport of steroid hormones [81].

Based on the possibility of genetic influences on the development of EC, studies are underway to confirm the existence of two histopathological programs in the development of EC. And although, as already mentioned above, signs of EH on the background of hyperestrogenism are typical for patients with endometrial adenocarcinoma, a number of studies describe patients (from 17% to 77%) in whom concomitant EH is not detected microscopically. It is assumed that such variants of adenocarcinoma develop *de novo* against the background of normal or atrophic endometrium [29, 41, 45, 55, 169, 170].

According to the study by Y. Sugiyama et al., who analyzed the hormonal and genetic influence on the development of EC (the analyzed group included 200 samples of endometrioid adenocarcinoma with and without EH), it was found that two pathogenetic groups of carcinogenesis can be distinguished (Figure 1).

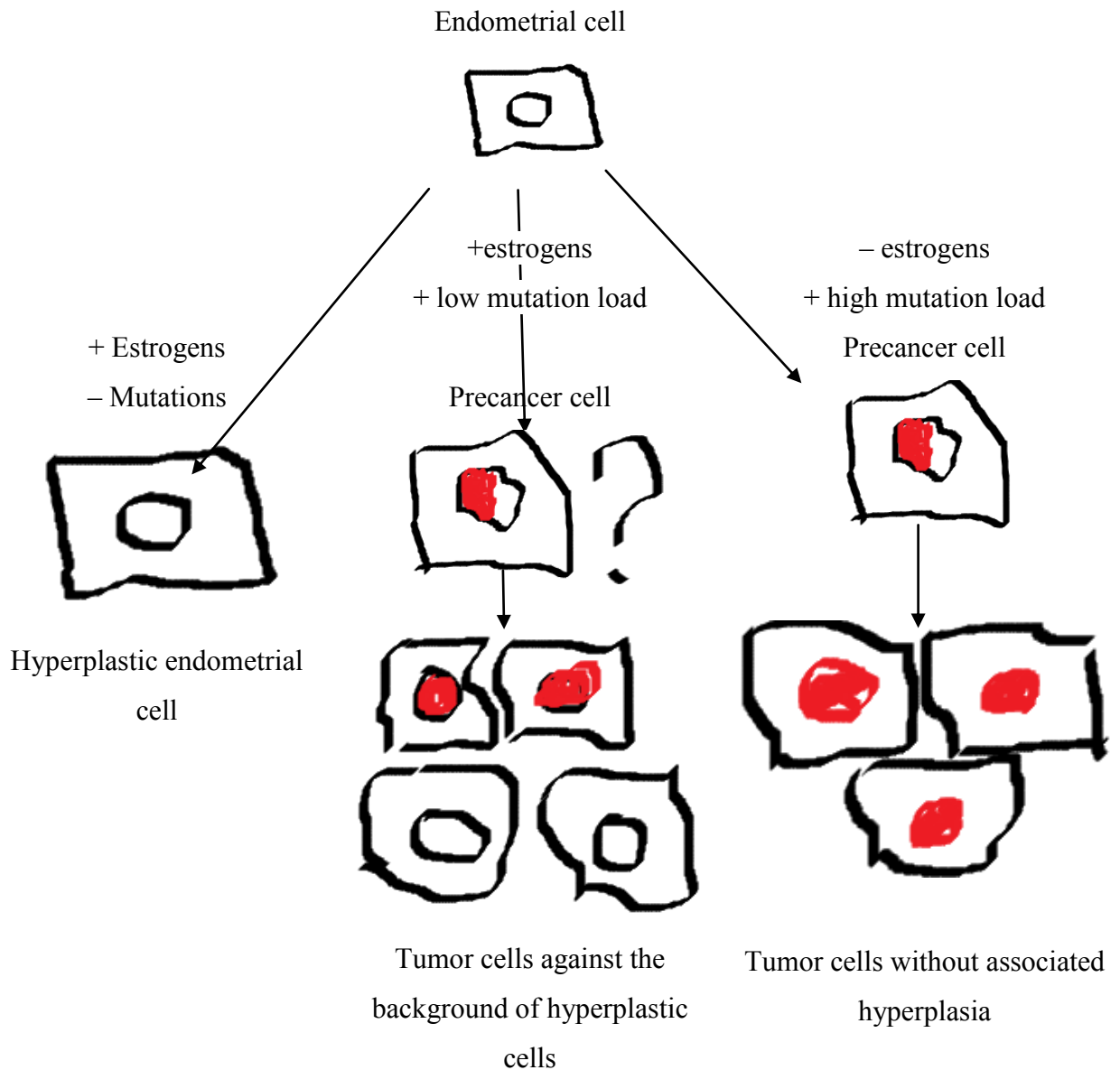


Figure 1 – Histopathological programs for the development of endometrial endometrioid adenocarcinoma (based on the study by Sugiyama Y. et al.)

The first, in which EC occurs against the background of EH, is associated with the activation of the estrogen signal in cancer cells under the influence of external stimuli. According to molecular subtypes, this group belongs to the low mutation subtype. The second group (without concomitant EH) of tumorigenesis is associated with the presence of a high mutation load caused by DNA repair deficiency (POLE mutations, MMR deficiency, and hormone receptor deficiency), and is often accompanied by genomic DNA hypermethylation. Based on these observations and

taking into account previous studies, it can be assumed that the tumor programs for the development of EC are not unified, and they can be broadly divided into two molecular mechanisms: 1. Provoked by an excess of uncontrolled estrogen; 2. Mutation load, including multiple forms of deficiency DNA repair [188].

To date, the same studies have not been conducted to study the role of EIN, which could confirm its contribution to the development of EC according to the mutation program of carcinogenesis. However, the fact that the same mutations were found in both EC and EIN allows us to think about this.

1.4 Endometrioid intraepithelial neoplasia as a morphological form of precancer

The emergence of the concept of EIN as a morphological form of precancer is natural and is a consequence of the accumulated knowledge about the mechanisms of carcinogenesis.

Pathogenetically, EIN is a progressive monoclonal mutational damage to endometrial epithelial cells with the growth of atypical glands with local growth independent of systemic hormonal influence. However, hyperestrogenemia remains a risk factor for the development of EIN [115, 124].

EIN contains mutational lesions similar to endometrial cancer, such as MSI, PAX2 gene inactivation, PTEN, KRAS, and CTNNB1 mutation [115]. In other words, EIN is a histological manifestation of molecular progression in endometrial carcinogenesis, it is a lesion that can be diagnosed in time in order to adopt a reasonable treatment strategy [142].

The risks of transformation from EIN to endometrial cancer are high, however, prospective studies on the risk assessment of EIN progression with a long-term follow-up period have not been published. It is known that the risks of developing endometrial cancer in women diagnosed with EIN increase 45 times compared with

the general population, while in accordance with the old classification system, this figure was 7 [181].

In another study, the relative risk of developing EC with EIN compared with benign endometrial hyperplasia was 7.76, which was consistent with the risks using the old 1994 classification [161].

According to other sources, endometrial cancer develops in 30-40-60% of cases in patients with AEH. More than half of women diagnosed with AEH simultaneously have signs of endometrial cancer [75, 76, 113, 115].

While the risk of malignant transformation of EH without atypia does not exceed, according to some authors, from 1 to 5% with long-term follow-up (from 1 to 26 years) [7, 48, 110, 112].

Morphological criteria for EIN according to WHO 2020 [115].

Recommended terms: endometrioid intraepithelial neoplasia, atypical endometrial hyperplasia.

Not recommended synonyms: complex atypical, simple atypical endometrial hyperplasia, endometrial intraepithelial neoplasia.

Histological picture:

EIN is a collection of crowded, tubular with cellular changes or branching glands. Within the lesion, the glands predominate over the stroma, which leads to a decrease in the volume of the stroma. The dimensions of the lesion should be sufficient to exclude artifacts and mimicry (pictures similar to, but not EIN).

The differences between AEH and benign EH are based on nuclear atypia, namely enlargement, pleomorphism, rounding of the nuclei, loss of polarity, and virtual disappearance of the nucleoli, which become visible only at high magnification. Signs of nuclear atypia are different in each individual case, but they should be different from the normal surrounding glands. Cytoplasmic changes (various types of metaplasia) may occur together with nuclear atypia in EIN foci. It should be differentiated from basal endometrium, endometrium of the secretory phase, polyps. A combined assessment of architectonics and cytology can help differentiate EIN from EH without atypia: for EIN, local changes in architectonics

and cytologically altered foci are most characteristic, for non-atypical EH, changes in the entire field under study are characteristic.

There are attempts to describe morphological parameters in more detail in order to increase their accuracy. For example, the international group of pathologists from PathologyOutlines.com, in their latest revision of the EH/AEH paragraph, propose the following criteria for making a diagnosis of endometrial hyperplasia without atypia.

The architectonics should be as follows: groups of glands are close to each other, while the ratio of glands to stroma is greater than 3 to 1. Stroma is present between the basement membrane of the glands, albeit in small quantities. Changing the size of the gland with their cystic dilatation or inconsistent contours (budding, angularity, invagination, protrusion). Violation of the integrity of the stroma. Increased volume of endometrial tissue on biopsy/curettage is typical but not required for diagnosis.

Cytologic features: Tissue resembles normal proliferative endometrium with pseudostratified, mitotically active, elongated columnar cells, slight cellular enlargement may be seen, but cells retain smooth nuclear contours without distinct nucleoli, metaplastic cell changes (eosinophilia, papillary syncytial, squamous morular, mucinous, ciliated).

The following features of EIN are suggested: the architectonics is similar in characteristics to EH without atypia described above.

Cytological features: enlarged, rounded nuclei with unstable nuclear contours, enlarged nucleoli with coarse and vesicular chromatin, occasionally, cytoplasmic eosinophilia imparts a distinct low power appearance, cells lose polarity with respect to the basement membrane, metaplastic changes can be seen.

For differential diagnosis of benign and atypical changes, the following should be excluded:

Compression artifacts – the overlapping of glands on top of each other in the process of creating a drug, can cause a false impression of groups of glands closely located to each other;

The absence of peripheral stroma adjacent to the site of the lesion may give an idea of the false density of the glands;

Cystic atrophy – may have the same appearance as hyperplastic endometrium with tight and cystic glands, but they will not have the irregular contours of hyperplastic glands, gland cells in cystic atrophy are low cuboidal, flattened, without mitotic activity unlike proliferative endometrium, the stroma is dense and resembles the stroma of the basal endometrium;

Endometrial polyp – altered, disorganized or unequal glands, fibrous stroma of varying density, thin-walled vessels, the polyp may contain a focus of EIN;

Impaired proliferation: no defined criteria, considered histologically as grade below hyperplasia without atypia, but usually no morphological differences are observed; squamous metaplasia; endometrium in the decay phase – endometrium in the rejection phase may show signs of cellular changes, such as loss of polarity due to the acceleration of nuclei and compaction of chromatin, destruction of the glands creates artificial crowding without stroma areas, the presence of glandular aggregation against the background of necrotic changes can mimic carcinoma.

Malignant changes should also be ruled out: endometrioid adenocarcinoma – the degree of atypia between AEH and EC is similar, however, EIN should not have cribriform, confluent glands, labyrinthine intraluminal gland junctions, stromal changes suggestive of invasion, desmoplasia (myofibroblasts, edema, inflammation) or necrosis (the intermediate stroma of the endometrium is replaced by pools of neutrophilic detritus [166]).

Despite the existing morphological criteria for EIN, the percentage of errors in the diagnosis is quite significant, and similar results in different pathologists are detected in less than 50% of cases [109]. In a study conducted by the Gynecological Oncology Group, endometrial adenocarcinoma was detected in 42.6% of women with a morphologically confirmed diagnosis of EIN during hysterectomy and expert histological analysis of the surgical material [160].

Therefore, the search for additional diagnostic criteria for EIN and predictors of malignancy of EH is underway. The most promising is the detection of genetic cellular changes that can be established by the IHC method [178].

1.5 Immunohistochemical characteristics of endometrial hyperplasia and cancer. Molecular predictors of endometrial malignization

To date, the use of IHC markers for the diagnosis of hyperplastic and neoplastic diseases of the endometrium is regulated by several international recommendations. In more cases they are advisory. It is lack in Russian recommendations. And further study of IHC markers is required to introduce them into practice.

According to the recommendations of the ESMO-ESGO-ESTRO consensus of 2016 and the ESGO revision of 2017, in cases of a doubtful diagnosis of EIN, a review of the material by an oncomorphologist specializing in gynecological pathology is recommended. It is also recommended to use certain IHC markers. Loss of PTEN expression and loss of PAX-2 are IHC markers that have already been sufficiently studied and are recommended for the analysis of histological material in order to differentiate EIN from benign changes in the endometrium. Loss of PTEN occurs in 40-50% of EIN cases, while PAX-2 loss occurs in 70% of EIN cases, and joint loss of PTEN and PAX-2 occurs in 30% of EIN cases. Other markers that can be used in this context are the IHC detection of MLH1 and ARID1a [58].

If it is necessary to clarify the diagnoses of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium and EIN, a morphological study, rather than an IHC study, should be used [57].

Joint guidelines from the Royal College of Obstetricians and Gynecologists (RCOG) and the British Society for Gynecological Endoscopy (BSGE) are also considering the use of biomarkers associated with malignancy of EH. The results of

a meta-analysis of 123 studies of IHC markers revealed the most promising markers of malignant transformation of EH: tensin homolog (PTEN) possibly in combination with B-cell lymphoma 2 (BCL-2) and BCL-2-like protein 4 (BAX), but they also need further research [123].

In 2013, based on the results of a genomic analysis of more than 400 endometrial cancer samples, the Cancer Genome Atlas (TCGA) research group identified four new subtypes of endometrial tumors based on differences in the quality and quantity of gene mutations [177]. After an analysis of the results, the TCGA scientists have described four genomic subtypes of endometrial cancer, which may lay the foundation for new approaches to the diagnosis and treatment of this type of tumor. Each of the four genomic EC subtypes is grouped together and named after one of its significant characteristics:

1. POLE-mutated.

Ultramutated tumors due to a POLE mutation (polymerase epsilon gene – a gene encoding the catalytic subunit of DNA polymerase ϵ). Named for the unusually high frequency and variability of mutations.

2. Microsatellite-unstable/hypermethylated (MSI).

Hypermethylated tumors: Tumors with a high level of microsatellite instability.

3. Copy-number-low/p53-wild-type (p53wt).

Low copy number subtype (endometrioid type): with a high mutation rate of the CTNNB1 gene

4. Copy-number-high/p53-mutated (p53mt).

Subtype of a large number of copies (serous type). This subtype displays the copy number changes and mutation pattern characteristic of serous tumors.

Since 2020, WHO, as well as the major cancer communities (NCCN), have included in their recommendations the conduct of additional IHC and genetic studies to identify the molecular subtype of EC (Pole mutations, MSI and aberrant p53 expression) in addition to the morphological assessment of the histological type of tumor for prognosis and selection treatment tactics [115, 135].

Thus, the assessment of IHC indicators already at the stage of differentiation of EH from AEH can provide valuable information about the further development of the process.

There are a number of potential IHC markers of EH malignancy, one of the most studied among them is **PTEN** (phosphatase/tensin homolog) tumor suppressor gene, its mutation is most often detected in the process of EC carcinogenesis.

The mechanism of its action is associated with the control of cell growth through the PI3K signaling phosphoinositol kinase pathway, which is one of the main signaling cascades that regulate cell proliferation, metabolism, and cell survival [197]. It has been established that disturbances in the PI3K/AKT pathway are present in more than 80% of ECs [83].

PTEN acts as a lipid phosphatase that dephosphorylates phosphoinositol 3,4,5-phosphate at the 3' position (dephosphorylates the PIP3 protein to PIP2), which triggers the PI3K signaling phosphoinositol kinase pathway. Loss of PTEN leads to unregulated activation of the PI3K pathway, which causes uncontrolled cell growth. It has been established that the loss of function of this protein is recorded in 55% of cases of atypical hyperplasia and 83% of endometrial carcinomas [5]. PTEN mutation is detected in EC type 1 in 57-83% of cases, and in EC type 2 in 10% of cases [143].

Among the 4 molecular subtypes of EC identified by the Cancer Genomic Atlas in 2013 (ultramutated tumors, hypermutated tumors, a low copy number subtype, which more often includes endometrioid EC, and a high copy number subtype, more often serous cancer), the PTEN gene mutation occurs in 94%, 88%, 77% and 15%, respectively [177].

It is important to emphasize the high probability of loss of PTEN expression already at the stage of the precancerous process in the endometrium, which is an early event in endometrial cancer carcinogenesis [119].

There are a number of studies that have revealed a high prognostic value of this marker [68, 192].

But the 2019 systematic review did not confirm this significance. It analyzes the results of 9 studies investigating the involvement of the PTEN mutation in the

process of EH malignanzation. It was found that the loss of PTEN expression in cases of EH was a risk factor for the development of EC (an increase in the risk of EC development by 3.32 times). But in statistical analysis, the prognostic significance was low: the average sensitivity and specificity of the loss of PTEN expression in predicting the development of EC were 0.58 (95% CI 0.52-0.64) and 0.60 (95% CI 0.56-0.64), respectively.

An interesting finding was that in the group of patients with AEH, the loss of PTEN is associated with the risk of coexisting cancer in more than 50% of cases [156].

But it is impossible to make a final judgment on the prognostic significance of PTEN, since there are no clear and unified diagnostic criteria for the IHC assessment of this indicator. Different investigators apply different criteria for PTEN: 1. Complete loss of PTEN expression throughout the lesion; 2. The presence of PTEN-negative, that is, unstained glands; 3. The percentage of PTEN-positive cells below the threshold values (which are also different); 4. The intensity of staining is below normal. That is why further studies are needed to determine the clinical significance and to determine uniform standards for assessing this indicator [157].

PAX 2

The PAX2 gene (paired box gene) belongs to the family of genes involved in the regulation of transcription during embryogenesis and is responsible for the normal development of the central nervous system and genitourinary tract [145]. According to G.-X. Tond et al., nuclear expression of PAX2 is normally found in epithelial cells of endometrial glands [67]. The beginning of the study of this gene as a predictor of the development of AEH was associated with studies by Lang D, which showed that the PAX2 gene can act as a proto-oncogene through the regulation of cell growth and apoptosis mechanisms [145].

A decrease in PAX2 expression correlates with malignancy of endometrial hyperplasia [66]. According to the results of the studies, PAX2 was named a diagnostically reliable indicator that distinguishes precancerous lesions of the endometrium from its benign changes. In a study by K.H. Allison et al. (2012), the

frequency of complete loss of PAX2 directly depended on the degree of endometrial damage, occurring in the chain normal endometrium – simple EH – complex EH – atypical EH – EC with a frequency of 0% – 17.4% – 59% – 74.1% and 73.3% respectively. The authors conclude that the loss of PAX2 occurs in the early stages of carcinogenesis in EH [147]. In a more recent 2015 study by A.K. Joiner et al. evaluated the expression of PAX2 in samples with EIN in comparison with benign hyperplasia. A decrease in PAX2 expression correlated with the diagnosis of EIN in 92% of cases, and with endometrial hyperplasia without atypia – only in 15%, which confirms the feasibility of assessing PAX2 to identify early precancerous changes in the endometrium [100].

Based on the data of the above and several other works, the determination of the PAX protein is also recommended by the ESMO-ESGO-ESTRO consensus for the differential diagnosis of EH from EIN [58].

Following the accepted recommendations, the group of authors conducted a review in 2019 a study to determine the sensitivity and specificity of IHC detection of PAX2 as a diagnostic marker of malignant transformation of EH. This review included data from 6 studies that included 266 histological specimens of intact endometrium, 586 EHs and 114 ECs. The results were analyzed according to the 2014 WHO classification. Both reduction and complete loss of PAX2 expression were significantly more common in EC and AEH than in benign EH. At the same time, the accuracy of the method using the EIN system showed better results (sensitivity = 0.72; specificity = 0.95) than using the old 1994 classification system.

The authors conclude that immunohistochemical evaluation of PAX2 expression and the use of EIN classification serve as reliable diagnostic criteria for EH malignancy [146].

ARID1A

The ARID1A protein (The AT-rich interacting domain-containing protein 1A) is a part of the SWI/SNF chromatin remodeling complex and is considered a promising marker for diagnosing and predicting EH malignization [39].

The function of this complex is to influence the processes of transcription, replication, repair, methylation and recombination of DNA. Thus, by changing the structure of chromatin, it can turn on and off various genes [24].

Dysfunction in the mechanism contributes to carcinogenesis by aberration in chromatin remodeling and activation of the PI3K/AKT signaling pathway. This disorder is found in about 10% of all human tumors [20].

The ARID1A mutation is the most common among gynecological tumors and, according to some data, occurs in 40% of cases of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium (in 25-29% of cases of poorly differentiated and 39% of well-differentiated endometrioid adenocarcinoma) [117, 130, 191].

It is assumed that the loss of gene expression may occur already at the precancerous stage of the process, that is, its determination can serve as a prognostic marker of EH malignanization [8, 116, 183].

To prove this statement, Raffone et al in 2019 conducted a review meta-analysis of existing studies on this topic and found that as a diagnostic marker of endometrial tumors, the expression of ARID1A expression has a low sensitivity of 12% and a high specificity of 99%, and as a prognostic marker of malignancy ARID1A has a sensitivity of 33% and a specificity of 99%. This leads to the conclusion that the loss of ARID1A is very specific, but not accurate enough as a diagnostic marker of precancerous EH. In contrast, loss of ARID1A in AEH is an accurate and almost perfectly specific prognostic marker for defining coexisting EC [40].

Microsatellite instability (MSI)

Microsatellites are repetitive DNA sequences that are widely distributed in the genome and are closely associated with many important genes. It is believed that microsatellites play an important role in the formation and reorganization of chromosome structures that affect gene replication and expression. For recognition and repair of mismatched bases during DNA replication, especially in repetitive DNA sequences such as microsatellites, there is a DNA repair system ((mismatch repair system MMR) [196].

Due to mutations or epigenetic changes in any of the genes of the DNA repair system (MSH2, MSH3, MSH6, MLH1, PMS2, EXO1), normal MMR function is impaired, which leads to the accumulation of many mutations and the appearance of microsatellite instability [27, 196].

Several studies have shown that MSI plays an important role in carcinogenesis, including endometrial tumors, and is closely related to their occurrence, progression, and prognosis [173, 196].

In order to maximize sensitivity and specificity, various methods have been developed to detect MSI.

Based primarily on polymerase chain reaction, the Bethesda/NCI panel has been the gold standard for MSI detection for over 20 years. This is a model of 5 markers: mononucleotide (BAT26, BAT25) and double nucleotide sequences (D2S123, D5S346, D17S250). According to the number of mutations, MSI is classified into three different subtypes, including high levels of MSI (MSI-H), low levels of MSI (MSI-L) and microsatellite stability (MSS). However, it is now recognized that MSI-low is a misidentified category, so tumors are divided binary into MSS and MSI-high.

The second option for diagnosing dMMR is an immunohistochemical study (IHC), when the expression of MSH2, MLH1, PMS2, MSH6 proteins is studied in the tumor by determining the antigen-antibody reaction. In the absence of staining of at least one protein, MMR deficiency (dMMR) is established [1, 72].

According to the 2019 ESMO recommendations, the first method for determining MSI is the immunohistochemical study of MSH2, MLH1, PMS2, and MSH6 proteins [59].

Recently, with the development of next generation gene sequencing (NGS), new computational algorithms have emerged that allow the detection of MSI in thousands of microsatellite markers without comparison with normal body tissues [13].

Endometrioid adenocarcinoma of the endometrium is one of the most common tumors with MSI among sporadic malignancies and is detected in 20-40% of cases

[53, 177, 196]. It has also been found that MSI in general, and abnormal MLH1 methylation in particular, is an early event in endometrial cancer carcinogenesis and found at the stage of precancerous lesions [53].

Great interest is currently being paid to the possibility of immunotherapy of tumors with identified MSI, including endometrial tumors. So the study by Yamashita et al. 2017 revealed that in the group of patients with EC and established by MSI, the expression of CD8 and PD-1 on the surface of infiltrating lymphocytes and PD-L1 on the surface of tumor cells was significantly higher than in the group without MSI. This indicates that MSI may be a useful biomarker for predicting response to anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy [126]. Thanks to the accumulated scientific data, in 2017 the FDA and in 2019 the Ministry of Health of the Russian Federation registered dMMR/MSI-H as an indication for immunotherapy for any solid tumor.

PD-L1

PD-L1 (Programmed Cell Death 1 Ligand 1) is a transmembrane protein, a ligand for the PD-1 receptor, which is involved in the physiological mechanism of autoimmune suppression. Binding to the PD-1 receptor on cytotoxic lymphocytes blocks their cytotoxic activity. Within the tumor process, the expression of PD-L1 by tumor cells is the main mechanism for escaping immune control [21, 95, 165].

At present, the question of the role of PD-L1 as a biomarker of malignancy and a prognostic marker of the course and progression of the tumor process remains open [200]. For some localizations (such as cancer of the breast, ovaries, stomach, kidneys), such a pattern has been identified [84, 87, 175, 189].

However, there are no studies evaluating the expression of PDL1 by tumor cells in endometrial cancer and precancer and determining its diagnostic and prognostic significance.

Estradiol receptors

According to studies, estrogen receptors, which are of two types (ER α and ER β – alpha and beta), are normally expressed in the unchanged endometrium [65, 89, 90]. In intact perimenopausal and postmenopausal endometrium, the ratio

of ER α to ER β varies depending on the stage of the menstrual cycle. During the proliferation phase, ER α expression is expressed in the gland and stroma, which decreases in the secretory phase after a postovulatory increase in progesterone levels [63]. These and other studies demonstrate the importance of estrogen in the regulation of endometrial cell proliferation, angiogenesis, and inflammation [136].

As is well known, one of the risk factors for EH and EC is the imbalance of hormonal effects on the endometrium: excessive exposure to estrogen without the effect of progesterone [135].

Numerous studies have examined ER status in patients with endometrioid endometrial adenocarcinoma to analyze the possible association of tumor receptor status with histology, prognosis, and survival [54, 64, 71, 91, 179]. According to The Human Protein Atlas, high expression of estrogen receptors in EC has a good prognostic value, the 5-year survival rate in such patients is significantly higher [180]. There are also studies aimed at comparing the degree of ER expression between normal endometrium, EH and EC. However, the results of these scientific works are contradictory. For example, a number of authors Uchikawa et al. and Bircan et al. have described increased expression of ER α in cases of EH compared with normal secretory endometrium [70, 88]. Hu et al. conducted an IHC analysis of 114 histological samples (15 intact endometrium, 37 EC, 30 simple EH, 13 complex EH and 20 AEH), studying the expression of ER α and ER β . The authors published the following results: from normal endometrium to simple and complex hyperplasia, ER alpha expression was increased ($P < 0.05$), while ER beta expression was practically unchanged ($P > 0.05$). In atypical hyperplasia and adenocarcinoma, both ER alpha and ER beta were significantly reduced ($P < 0.05$). Thus, Hu et al conclude that both ER alpha and ER beta play an important role in EH and endometrial carcinomas, and their levels can be used as prognostic indicators [86].

Chakravarty et al., who studied ERbeta expression levels in 22 proliferative endometrium, 15 secretory endometrium, 20 EH, and 26 endometrioid adenocarcinoma samples, found no difference in ER β expression levels between normal endometrium and EH, however, one of the ER β fractions was reduced

in samples from endometrioid adenocarcinoma [62]. Thus, several studies have identified a reduced level of ER α expression in cases of hyperplasia and EC, implying that loss of receptor expression may occur as the lesion progresses [62, 86, 88]. In contradiction to the above data X.-H. Zhou et al. found an increased level of ER α receptors in the endometrium of endometrial adenocarcinoma than in normal and hyperplastic endometrium, and ER-b expression had no significant differences between each group [69]. However, the conducted studies were performed using different methods (IHC or genetic analysis), various evaluation criteria were established, and different statistical significance of the results was revealed, which is why the role and necessity of assessing ER expression in the development of EC is not yet clear enough.

Progesterone receptors

PRs are part of the family of ligand-activated transcription factors, when a ligand (progesterone) binds to its receptor, gene transcription is activated (estrogen receptors belong to the same family) [99]. Progesterone is a steroid hormone that is essential for the normal functioning of the reproductive system. Its function in the endometrium is to inhibit estrogen-dependent cell proliferation by inducing secretory transformation of endometrial glands and downregulating ER α [159]. As mentioned above, a key component in the development of EC is the progesterone-unbalanced proliferative effects of estrogen on endometrial cells [43]. The role of PR has been extensively investigated in the development and progression of EC, with loss of PR shown to be associated with poor survival and metastatic disease [61, 103, 118], while high expression, on the contrary, is associated with a favorable prognosis and high 5-year survival [180]. Several studies have been devoted to the expression of PR in the endometrium of varying degrees of damage: from normal to atypical. Three reports reported that in cases of EH, there was a trend towards a decrease in the amount of PR compared with normal endometrium [6, 70, 168]. Opposite Ghabreau et al. demonstrated an increase in PR expression in the chain of EH without atypia – AEH [37]. Orejuela et al. published a report that there are no significant and

statistically significant differences in PR expression between normal endometrium, EH, and EC [60].

Interesting results were obtained by Upson et al., who found that among women with atypical endometrial hyperplasia receiving progesterone preparations, high expression of PR B was associated with a 90% reduction in the risk of further persistence/progression of EH. Also, high expression of progesterone receptors A and B, according to their data, indicated a decrease in the risk of persistence / progression of the disease. These results were not observed in women with complex hyperplasia without atypia [16].

Thus, research data are contradictory and, as in the case of ER, the significance of Pr expression as a marker of EH malignization is not yet clear.

Beta-catenin (β -кактенин)

It is a cell adhesion protein encoded by the CTNNB1 gene and is normally expressed on the cell membrane. In addition to its function of maintaining intercellular contacts, it is a member of the Wnt pathway [92]. It is believed that the canonical Wnt (β -catenin dependent) signaling pathway plays an important role in cell regulation, proliferation, differentiation, and carcinogenesis [10]. In normal cells, β -catenin is rapidly degraded by proteasomes, and if this process is disturbed, this leads to the accumulation of cytoplasmic protein [137]. This leads to translocation of β -catenin to the cell nucleus, where it can form complexes with T-cell factor/lymphoid enhancer factors (Tcf/Lef), converting them into potent transcription factors [137]. Activated TCF/LEFs have the ability to bind selectively to certain DNA sequences and to activator proteins that trigger certain genes [176].

Thus, it is logical to conclude that if beta-catenin expression is detected not only in the cytoplasm of the cell, but in its nucleus (cytoplasmic-nuclear transition), it can be a prognostically unfavorable sign in terms of further progression of the tumor process.

Activating mutations in the Wnt signaling pathway are widespread in a number of tumors; it is known that the beta-catenin-dependent pathway is involved in EC carcinogenesis, especially in endometrioid adenocarcinoma and its precancer [93, 195].

According to the Cancer Genomic Atlas, one of the molecular subtypes of endometrioid cancer (Copy-number-low/p53-wild-type (p53wt) the subtype of low copy number (endometrioid type) is characterized by a high mutation rate of the CTNNB1 gene [177], which indicates its significance in carcinogenesis of EC.

Numerous studies have been conducted to analyze differences in the expression of beta catenin in cases of benign, precancerous and malignant lesions of the endometrium.

However, the results were mixed. Most authors have shown that nuclear expression of beta-catenin increases in the chain from normal endometrium to EC [3, 4, 14, 92, 128, 131, 192].

Other researchers have demonstrated that activation of the beta-catenin-dependent Wnt pathway can also occur in normal endometrium as a result of the physiological effects of estrogen [139, 195].

To objectify the obtained results, Raffone et al. performed a meta-analysis of data from 12 studies on this topic, which included 270 samples of unchanged endometrium, 312 EH without atypia, 303 AEH and 625 EC. The conclusions reached by the authors after statistical processing of the results are as follows: moderate or strong nuclear expression of b-catenin is an insensitive, but quite specific marker for the diagnosis of endometrial precancer. If cytoplasmic expression is also considered, sensitivity can be improved, but with lower specificity and lower overall accuracy. In addition, when using the EIN classification, the accuracy of the method is higher than the 1994 WHO classification (the authors suggest that this is due to the fact that the benign WHO category – complex EH without atypia according to the EIN system belongs to the precancerous form).

Despite the fact that the determination of b-catenin cannot be used as an autonomous IHC diagnostic test, however, it can serve as a highly reliable indicator for the further search for endometrial precancer [138].

Ki-67

Ki-67 – a marker of proliferation – a nuclear protein involved in maintaining mitotic cell division. It acts as a kind of biological surfactant, preventing the

transformation of chromosomes into a single mass of chromatin after disassembly of the nuclear membrane, which ensures independent chromosome mobility and effective interaction with the mitotic spindle [104]. Also Ki-67 plays a role in chromatin organization. However, it is not clear whether it plays a direct role in the organization of chromatin or indirectly due to its function as a participant in the mitotic division of chromosomes [106].

Thus, this marker reflects the number of mitotically active cells and is most often used to assess the proliferative activity of the endometrium. The expression of this protein in the endometrium depends on the phase of the menstrual cycle: it increases during the proliferation stage, reaching a maximum at the end of the follicular phase, and decreases during the secretion stage.

Ki-67 has been studied as a prognostic marker for the course of EC quite well. A number of authors, in the course of their studies, confirm the prognostic value of the Ki-67 marker for assessing life expectancy [125, 153, 164], the stage of the disease and prognosis of treatment [105] and the risk of disease recurrence in patients with EC [94].

Research data on the assessment of the prognostic significance of Ki-67 in the development of atypical endometrial hyperplasia or its transition to a malignant form are ambiguous. Most studies have established a gradual increase in the expression of Ki-67 in the series EH-AEH-EC [12, 77, 107, 197]. At the same time, the statistical significance of these results was not significant in all studies. There are also data from Shevra et al., which confirm the increased expression of Ki-67 in patients with endometrial tumor relative to proliferative endometrium and EH, but do not reveal significant differences in the index in cases EC and AEH [167].

A number of researchers come to the conclusion that the determination of only one indicator is not enough to predict the malignant transformation of EH, since none of them has a sufficiently high sensitivity and specificity [97, 136].

Not only does IHC analysis show the need to use a range of markers, but the latest NGS sequencing method suggests that a change in a single gene cannot be used to judge the risks of malignancy. According to Russo et al, who analyzed molecular

events in cases of EH that led to the development of EC and which regressed on the background of conservative therapy, they concluded that in cases of progressive atypical changes, there were much more mutational events. Only the assessment of changes in several genes with the calculation of the mutation load can be clinically valuable [132].

Thus, there is a need to compile a diagnostically significant panel of IHC markers, which can become an objective predictor of EH malignancy.

Chapter 2

MATERIAL AND METHODS

2.1 Characteristics of the research

The work consisted of two parts: the first part was an epidemiological, and its purpose was to determine the frequency of EH occurrence (according to the WHO 2014 criteria).

The study was conducted on the basis of the Clinical Hospital No. 122 named after L.G. Sokolov, V.A. Almazov Clinical Hospital and Medical Research Center on the basis of a retrospective analysis of the journals of histological conclusions of the pathoanatomical departments. The sample included patients who underwent hysteroscopy with the collection of material for morphological studies. Analysis of the histological assessment of the endometrium was carried out in 818 women: 675 patients underwent an invasive examination of the endometrium over 4 years from 2016-2019. in 122 clinical hospital and 143 patients over 3 years from 2017-2019. in Almazov centre, in which the clinical characteristics were also analyzed and published in the article [26].

Indications for surgical treatment were AUB, infertility, suspicion of endometrial pathology according to ultrasound examination of the pelvic organs.

The structure and prevalence of endometrial diseases in the studied group was revealed by the results of histological examination.

The second stage was the recruitment of patients who met the inclusion/exclusion criteria and whose histological material was available for revision and immunohistochemical staining.

Characteristics of the investigated material

The material for the analysis of the second stage of the study was clinical and anamnestic data and histological preparations (glasses and paraffin blocks) of

152 patients with endometrial hyperplastic diseases who were treated at the following bases: Railway-Medicine St. Petersburg, Clinical Hospital No. 122 named after L.G. Sokolova FMBA of Russia, St. Petersburg, Hospital "Ava Peter", St. Petersburg, Federal State Institution "N.M. V.A. Almazov" of the Ministry of Health of Russia from 2016 to 2020.

The inclusion diagnoses were (according to the 2014 WHO morphological classification criteria):

1. Endometrial hyperplasia without atypia (simple and complex) or endometrial hyperplasia of the endometrium without atypia.
2. Atypical endometrial hyperplasia (simple and complex) or endometrioid intraepithelial neoplasia.
3. Endometrioid adenocarcinoma of the endometrium.

Exclusion Criteria:

1. Non-endometrioid type of endometrial cancer.
2. Hereditary forms of endometrioid cancer (Lynch syndrome).
3. Taking Tamoxifen.

The revision of the morphological material was carried out on the basis of the WHO classification of 2014 in a specialized oncopathological laboratory by an expert doctor.

The following clinical and anamnestic data were evaluated in the work: complaints, age at the time of diagnosis, history of the disease, stage of aging of the reproductive system according to the STRAW +10 scale, the period of menarche and menopause, the number of pregnancies and childbirth, infertility, body mass index, family oncological history, somatic diseases (presence of hypertension, type 2 diabetes mellitus, thyroid diseases), drug therapy (tamoxifen and estrogen monotherapy)

The analysis was carried out on the basis of data from medical records and a telephone survey. Monitoring of the condition of patients was carried out 3-5 years after the diagnosis was made by telephone survey and monitoring of medical records. For further processing, all material was entered into an Excel computer database.

2.2 Method of morphological research

All collected histological material was reviewed on the basis of the Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technologies named after Academician A.M. Granov” of the Ministry of Health of Russia, St. Petersburg using the 2014 WHO morphological classification criteria.

Of the 152 samples, 10 cases were excluded from the study: 2 cases were serous endometrial cancer, which is not the object of study in this work, 4 cases were represented by atypical mucinous proliferation, 2 were combinations of serous cancer with atypical endometrial hyperplasia, 2 cases were a combination of clear cell carcinoma and endometrioid endometrial cancer, 3 cases – endometrial polyp without endometrial hyperplasia, 2 cases – proliferative endometrium. In 35 patients, it was not possible to adequately assess the histological material due to its quality or quantity.

The remaining 107 cases after revision according to the 2014 WHO morphological criteria were divided into three groups: 35 patients diagnosed with benign endometrial hyperplasia, 36 with endometrioid intraepithelial neoplasia, 36 with endometrioid adenocarcinoma of the endometrium.

At the same time, in 23 cases (22%) there was a discrepancy in the morphological diagnosis: 18 cases after revision by different pathologists, in 5 cases after the analysis of biopsy and surgical material.

Morphological criteria WHO 2014:

1. Endometrial hyperplasia without atypia – increased proliferation of glands with a change in their shape and size, accompanied by an increase in the gland / stroma ratio compared to proliferative endometrium, but without significant signs of cellular atypia.

Synonyms: benign EH, simple non-atypical EH, complex non-atypical EH, simple EH without atypia, complex EH without atypia.

Histological picture: The spectrum of changes is typical. Glands vary in size and shape and can be separated from each other by varying amounts of stroma,

including glandular islands ("back to back") with little or no intervening stroma. The glands are unevenly spaced, creating different densities of the glands and stroma. While some glands may retain their normal tubular or spiral shape, others become branched or cystically enlarged. The epithelium remains stratified and uniserial, with frequent mitotic figures. Local hemorrhages and damage to the stromal component are typical.

2. Atypical endometrial hyperplasia/endometrioid intraepithelial neoplasia (EIN).

It is characterized by signs of cellular atypia together with signs of EH. Synonyms (not recommended since 2020): complex atypical EH, simple atypical EH, endometrial intraepithelial neoplasia.

Histological picture:

EIN is a collection of crowded tubular with cellular changes or branching glands. Within the lesion, the glands predominate over the stroma, appearing as islands of crowded glands with little intervening stroma.

The differences between AEH and benign EH are based on nuclear atypia, namely: enlargement, pleomorphism, rounding of the nuclei, loss of polarity and disappearance of the nucleoli, which become visible only at high magnification. Nuclear atypia is different both in quantity and quality of changes. Since these changes are subjective in nature and depend on the perception of the researcher, a reliable definition of the above characteristics remains a problem. The diagnosis of atypia can be established by comparing adjacent areas of normal, unchanged endometrium and areas of hyperplastic endometrium, but without evidence of atypia.

3. Endometrioid adenocarcinoma of the endometrium – usually a glandular tumor with an acinar, papillary, or partially solid structure, but no nuclear signs of serous carcinoma.

The histological picture is represented by glandular or viloglandular structures covered with a cylindrical epithelium with a complex crowded branching architecture. The cells lining the lumen of the glands are usually columnar and share an apical border with neighboring cells, resulting in a smooth lumen.

The cytoplasm of neoplastic cells is eosinophilic or granular. Nuclear atypia is usually mild to moderate with inconspicuous nucleoli, except in poorly differentiated adenocarcinoma. The mitotic index is highly variable. In contrast to EIN, stromal invasion is present, there is no intermediate stroma (confluent or cribriform glands), there is damaged endometrial stroma (desmoplastic reactions) or papillary structures.

2.3 Method of immunohistochemical research

Immunohistochemical examination was performed according to a standard protocol (Table 4) with determination of the tumor receptor status (estrogen and progesterone receptors), expression of BAF250a (ARID1A), PTEN, CTNNB1(β -catenin), MSH6, MSH2, PMS2, MLH1, PAX2, PD-L1, proliferation index (Ki-67) (Table 3).

Table 3 – Specification of antibodies used for differential diagnosis of endometrial hyperplasia without atypia, with atypia and endometrial adenocarcinoma

№	Antibody	Clon	Nature of antibody	Dilution	Firm-manufacturer
1.	Estrogen receptors (ER)	6F11	Mouse, Monoclonal	1:100	LabVision
2.	Progesteron receptors, (PR)	PGR-312	Mouse, Monoclonal	1:50	LabVision
3.	BAF250a (ARID1A)	EPR13501-73	Rabbit Monoclonal	1:1000	Abcam
4.	PTEN	6H2.1	Mouse, Monoclonal	1:25	DAKO
5.	β -catenin	14/ β -Catenin	Mouse, Monoclonal	1:50	Cell Marque

Table 3 continuation

№	Antibody	Clon	Nature of antibody	Dilution	Firm-manufacturer
6.	Ki-67	MIB-1	Mouse, Monoclonal	1:50	LabVision
7.	MSH6	EP49	Mouse, Monoclonal	1:100	DAKO
8.	PMS2	EP51	Rabbit Monoclonal	1:25	DAKO
9.	MSH2	FE11	Mouse, Monoclonal	1:100	DAKO
10.	MLH1	ES05	Mouse, Monoclonal	—	Leica
11.	PAX 2	—	Rabbit Policlonal	1:20	Cell Marque
12.	PDL-1	Sp263	Rabbit Monoclonal	—	Ventana

Using the HM 355S microtome with the STS (Thermo) slice transfer system, 2.5 micron thick slices were obtained from each paraffin fabric multiblock (Figure 2) produced using Tissue Microarray technology.

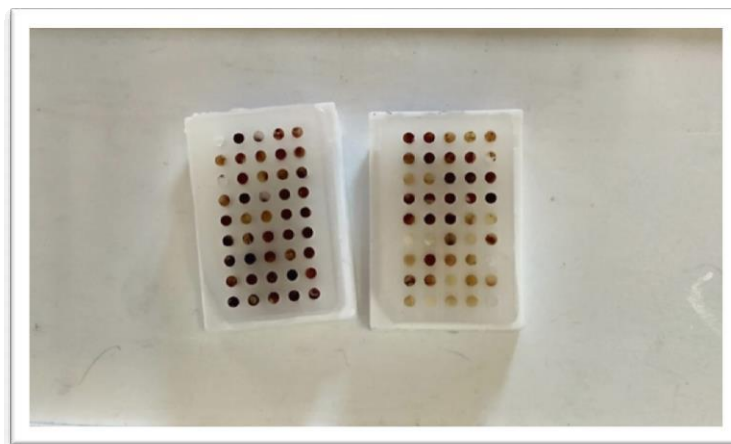


Figure 2 – Fabric multiblock (matrix)

Next, sections were applied to glasses with poly-L-lysine coating by Menzel and dried at a temperature of 35-37 °C for 60 minutes. After that, the material was dewaxed in two o-xylenes, two minutes each, washing and dehydration in two 96% alcohols for five minutes each and 70% alcohol for ten minutes. In the next step, the glasses were washed in distilled water and exposed to antigen unmasking in a DAKO citrate buffer (Target Retrieval Solution pH 6.0, code S169984-2) in a water bath at a temperature of 95 ° with a duration of 40 minutes. After that, they were cooled to room temperature together with the buffer in which the unmasking was carried out, and washed in a Tris buffer for 10 minutes. Then the slices were outlined with a paraffin pencil (DakoCytomation Pin, code S200230-2) and re-lowered into the Tris buffer (TBS pH 7.4) for 10 minutes. After that, it is treated with 3% hydrogen peroxide for 5 minutes to suppress endogenous peroxidase.

To dilute the first antibodies, a buffer (Antibody Diluent with Background Reducing Components by DakoCytomation, code S3022) was used to dilute antibodies with a component that prevents their nonspecific binding. The first antibodies were kept for 30 minutes at a constant temperature of 30 °C, which was maintained using a LEICA HI1220 heating plate (Histoplat). Then the glasses were washed in a Tris buffer for 10 minutes.

To determine the binding of the first antibodies to tumor cells, the DAKO EnVision Flex polymer imaging system with diaminobenzidine as a chromogen was used. Then the sections were washed in distilled water and additionally stained with Mayer hematoxylin for 1-2 minutes. Then they were washed in water for 15 minutes, dehydrated in 96% alcohol for 10 minutes and clarified with carbol xylene or xylene for 5 minutes.

The slices were enclosed in special liquids Ultramounts, Paramount, Aquatic Mounting Medium, Ready-to-Use by DAKO code S302580-2.

Evaluation and interpretation of the results was performed using light microscopy (Olympus CX41, DP72 camera) at magnifications of 200 and 400.

The PD-L1 staining was carried out on a Ventana BenchMark Ultra closed-type autostainer using ready-to-use PD-L1 clone SP 263 antibodies and a two-stage

OptiView DAB Detection Kit imaging system according to a standard protocol: the primary antibody binds to the desired antigen, then the secondary antibody with numerous HQ haptens binds to the primary antibody, then the tertiary antibody to HQ-haptens containing peroxidase binds to a secondary antibody, and as a result of the reaction of DAB-chromogen and hydroperoxide with peroxidase, brown staining and visualization occurs.

Table 4 – Immunohistochemical staining protocol (estrogen and progesterone receptors, expression of BAF250a (ARID1A), PTEN, CTNNB1(β -catenin), MSH6, MSH2, PMS2, MLH1, PAX2, ki-67 proliferation index

N ^o	Stage	Substances	Exposition
1	Dewaxing	Xylene	5 min
		Xylene	5 min
		96% ethyl alcohol	5 min
		96% ethyl alcohol	5 min
		70% ethyl alcohol	10 min
		Distilled water	Washing
2	Unmasking	Citrate buffer	Water bath, temperature 95 °C, 30 min in a preheated buffer
		Tris buffer	10 min: two cups of 5 min each with a shift (the first is poured out, the second becomes the first)
3	Inhibition of endogenous Peroxidases	3% hydrogen peroxide	20 min
		Tris buffer	washing
4	Incubation of the first antibodies	The first antibodies, previously diluted by the diluent in accordance with the dilution table, on a thermostick at a temperature of 25 °C with wet filter paper (water bath effect)	30 min
		Tris buffer	10 min

Table 4 continuation

№	Stage	Substances	Exposition
5	Visualization system	EnVision Flex or on a thermal stand at 30 °C with wet filter paper (water bath effect)	30 min
		Tris buffer	10 min
6	Coloring	Diaminobenzidine (at the rate of 1 drop of concentrate per 1 ml of solvent DAB)	1 min
		Distilled water	Washing
7	Counter-staining	Mayer 's Hematoxylin	1 min
		Running water	3 cups, rinsing
8	Conclusion	Isopropyl alcohol	5 min
		Isopropyl alcohol	5 min
		Xylene	2 min
		Xylene	2 min
		Enclosing medium	–

The evaluation of immunohistochemical staining was carried out for each indicator in accordance with standard and generally accepted methods of determination. Some of the indicators have a qualitative reaction and were determined by the presence or absence of staining of the cell cytoplasm and nuclei. The other part was quantified. The methodology for evaluating each indicator is presented below.

Quality indicators:

1. PAX2 – the absence of nuclear staining was assessed as the absence of expression of this gene. The presence of colored and unpainted nuclei in the preparation was assessed as a partial loss of expression of this gene.
2. PTEN – the absence of cytoplasmic and nuclear staining was assessed as a complete loss of PTEN expression. The presence of stained and unpainted cells in the preparation was assessed as a partial loss of expression of this gene.

Limitation of the method: there are no standardized methods for assessing staining (subjective assessment of staining).

3. MSI: MLH1 PMS2 MSH6 MSH2 – the absence of nuclear staining was evaluated as the absence of expression of this gene. When one of the genes of the DNA repair system fell out, the sample was considered to have a microsatellite stability deficiency (dMMR). All cases of MSI were confirmed by the method of new generation sequencing (NGN, next generation sequencing) in the molecular genetic laboratory of Novosibirsk.
4. ARID 1a – the absence of nuclear staining was assessed as the absence of expression of this gene. The presence of colored and unpainted nuclei in the preparation was assessed as a partial loss of expression of this gene.

Quantitative indicators:

1. Receptors for estrogens, progesterone. The expression of estrogen and progesterone receptors was evaluated semi-quantitatively by counting the percentage of positive endometrial cancer cells.
2. Ki 67 – the ratio of stained nuclei per 300 cells was calculated with an increase of 400.
3. β -catenin: the staining of the membrane, cytoplasm and nuclei was qualitatively evaluated, the presence of a cytoplasmic nuclear transition was recorded. The presence of colored nuclei of cancer cells was quantified (the ratio of colored nuclei per 300 cells was calculated with an increase of 400).
4. PDL with CPS (combined positive score): it was estimated as the ratio of the number of cells with PD-L1 expression in the tumor, lymphocytes, macrophages to the total number of tumor cells multiplied by 100.

2.4 Statistical research methods

The analysis of own data was carried out using the IBM SPSS Statistical 27 statistical program.

Descriptive statistics of quantitative indicators such as age, body mass index, number of pregnancies, births, abortions, proliferative activity index Ki-67, β -catenin and PDL1 were calculated using standard concepts: averages, deviations, percentage composition, medians and quarters.

The analysis of linear variables was carried out using the ANOVA dispersion method. Since all linear variables had an abnormal distribution, their analysis was carried out using the Univariate General Linear Model (UnANOVA) after the variables were ranked (on ranks). The nonparametric Kruskal-Wallis (KW) and Pairwise test was used to compare linear variables between histological groups. The analysis of nominal variables when comparing their frequency distribution according to histological conclusions is presented according to the results of the chi-square/ χ^2 or Fisher's Exact test response tests.

The criterion of statistical reliability of the obtained conclusions was considered to be the generally accepted value in medicine $p < 0.05$. In cases where the test (ChiSq or Fisher) showed significant differences ($p < 0.05$) between groups, calculations of odds ratio, relative risk, sensitivity and specificity (Odd ration – OR, Relative Risk – RR, Sensitivity, Specificity) were added for IHC indicators. Binomial logistic regressions were constructed using the Forward Stepwise (Conditional) method.

Chapter 3

RESULTS

3.1 Structure of endometrial diseases in the study group 818 women

During the analysis of the histological conclusions of 818 patients, the following results were obtained: endometrial pathology was detected in 84% of women, of which 246 women (30%) had endometrial hyperplasia without atypia, 34 patients (4%) were diagnosed with atypical endometrial hyperplasia, 78 (10%) – endometrial adenocarcinoma, the majority of patients 328 (40%) were diagnosed with an endometrial polyp (Figure 3).

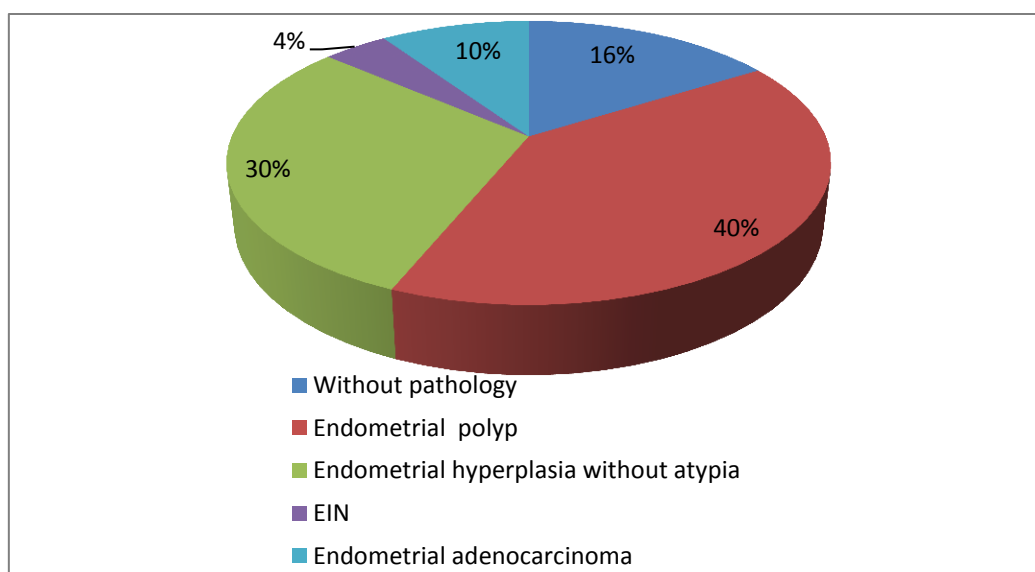


Figure 3 – The structure of endometrial diseases
in the study group 818 patients

The average age of patients with EH without atypia was 46 ± 7 years, with AEH – 52 ± 10 years, with EC – 60 ± 12 years (Figure 4).

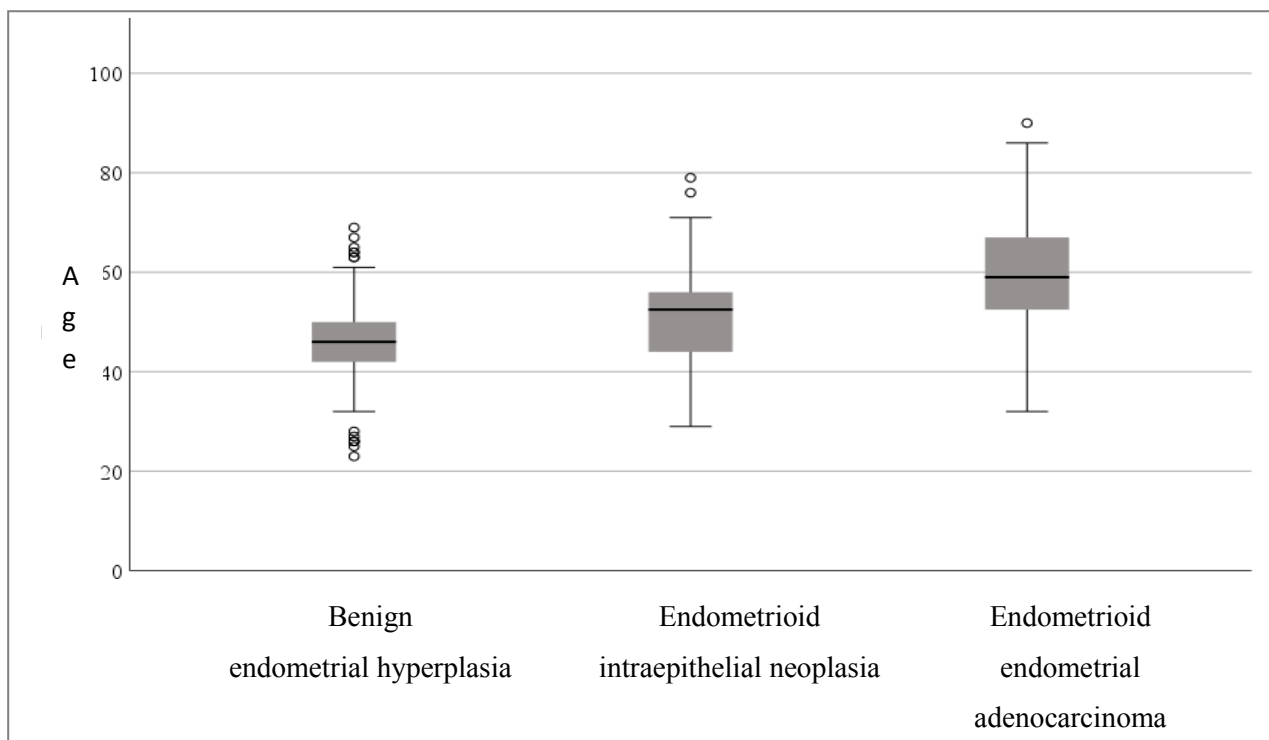


Figure 4 – Age distribution of patients with hyperplastic processes and endometrial adenocarcinoma

The age of patients with benign EH is less than that of patients with AEH ($p < 0.001$) and EC ($p < 0.001$), while the age of patients in the AEH group is less than the EC group ($p = 0.002$).

The incidence of various pathologies of the endometrium differed between the periods of aging of the female reproductive system ($p < 0.001$): EH was more common in women in the reproductive period compared to AEH and EC, which were more common in postmenopausal women. AEH was more common in the reproductive and transitional periods compared to EC, which was more common in postmenopausal women (Figure 5).

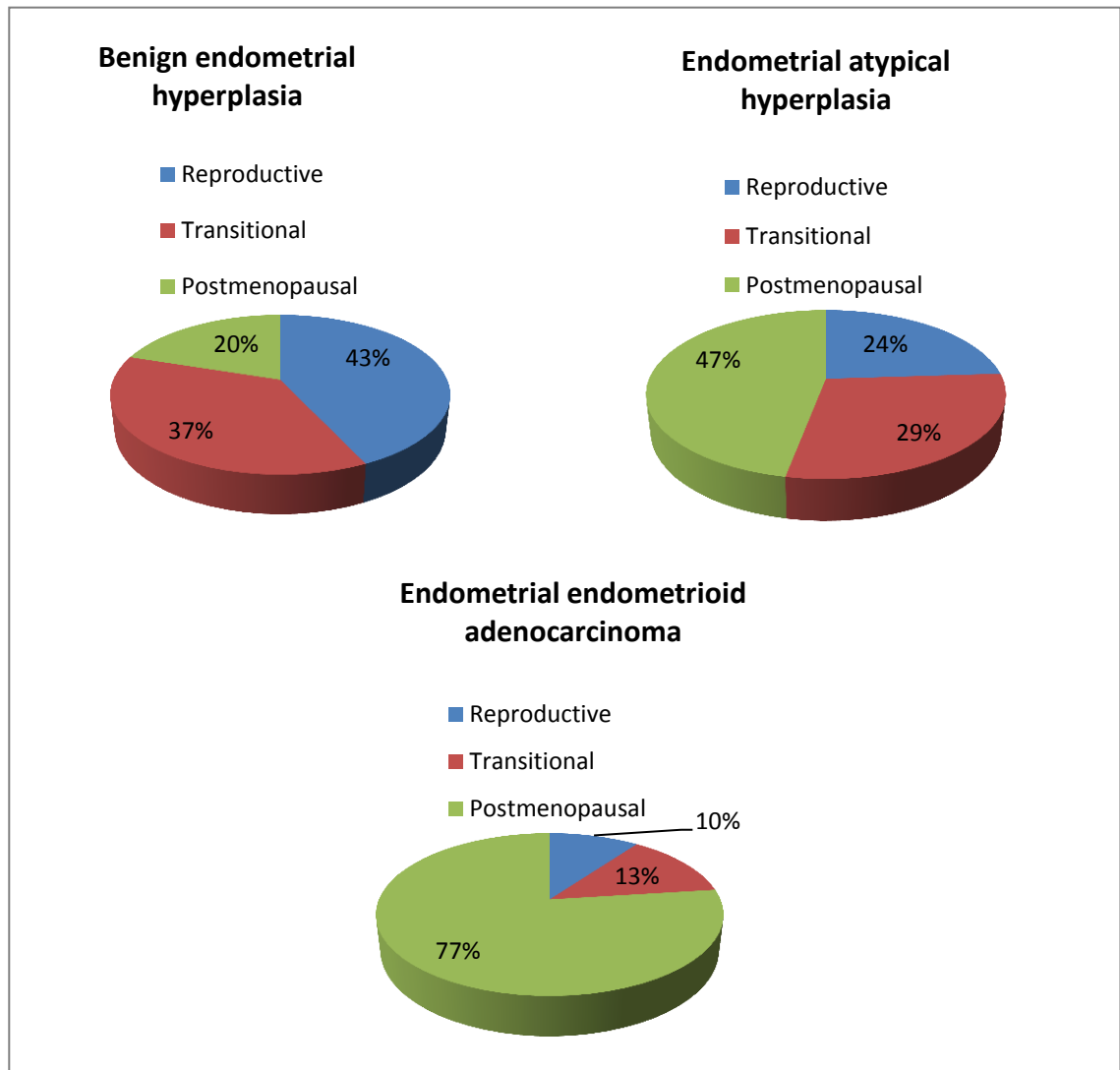


Figure 5 – The frequency of occurrence of endometrial hyperplasia and adenocarcinomas depending on the stage of aging female reproductive system

3.2 Clinical and morphological features of benign endometrial hyperplasia, endometrioid intraepithelial neoplasia and endometrioid endometrial cancer

After morphological revision of the material and preparation of multiblocks for IHC study, the final sample included 107 women: 35 with a diagnosis of endometrial hyperplasia without atypia, 36 with EIN, and 36 with a diagnosis of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium. 251 patients were not included in the study for

a number of reasons: unavailability of histological material, insufficiency or inadequacy of the material after the manufacture of multiblocks, other histological types of endometrial cancer (serous adenocarcinoma, clear cell adenocarcinoma) and other changes in the endometrium (impaired proliferation of the endometrium, secretory endometrium, mucinous proliferation), which were not the aim of this study.

Clinical and anamnestic characteristics of the groups.

Group 1: patients diagnosed with endometrial hyperplasia without atypia (EH without atypia)

The group of patients with endometrial hyperplasia without atypia was 35 women. The average age of this group was 46 ± 6 years. 11 (31%) women were reproductive age, 22 (63%) were in transition period, and 2 (6%) were postmenopausal. Most of them had complaints about AUB – 83% (of which 39% were with laboratory-confirmed anemia (hemoglobin below 120 g/l)), the rest did not complain (Table 5). The indication for morphological examination in this case was the data of ultrasonography: the mismatch of the thickness and structure of the endometrium with the phase of the cycle.

Among the risk factors for the development of endometrial hyperplasia and neoplasia in this group, obesity was the most common in 60% of cases and overweight in 26% of cases, and both factors were respectively present in almost all women in 86% of cases. The average BMI was 29 ± 7 kg/m². The average number of pregnancies is 3 ± 2 , of which, on average, 1 ± 1 childbirth and 2 ± 2 abortions. None of the studied women had diabetes. Hypertension occurred in 31% of women, AIT – in 11% (table 5).

Among the reproductive risk factors in 11% of cases (in 4 patients), early onset of menstruation (before 11 years) was noted, in 14% (in 5 patients) infertility was observed (table 5).

Table 5 – Clinical parameters in patients with EH without atypia, EIN and EC

Parameter	Indicator	EH without atypia	EIN	EC
Age	Average value	46	53	61
	Standard deviation	6	10	13
	Quartile 25	44	47	53
	Quartile 75	50	60	68
BMI	Average value	29	30	31
	Standard deviation	7	7	8
	Quartile 25	25	25	25
	Quartile 75	32	35	35
Pregnancy	Average value	3	3	2
	Standard deviation	2	2	2
	Quartile 25	1	2	1
	Quartile 75	4	3	4
Childbirth	Average value	1	1	1
	Standard deviation	1	1	1
	Quartile 25	1	1	1
	Quartile 75	1	1	2
Abortion	Average value	2	1	1
	Standard deviation	2	2	1
	Quartile 25	0	0	0
	Quartile 75	2	2	2
Reproductive aging period	Reproductive	11 (31%)	7 (20%)	3 (8%)
	Transitional	22 (63%)	12 (33%)	6 (17%)
	Postmenopausal	2 (6%)	17 (47%)	27 (75%)

Group	Reproductive	Transitional	Postmenopausal
EH without atypia	11	22	2
EIN	7	12	17
EC	3	6	27

Table 5 continued

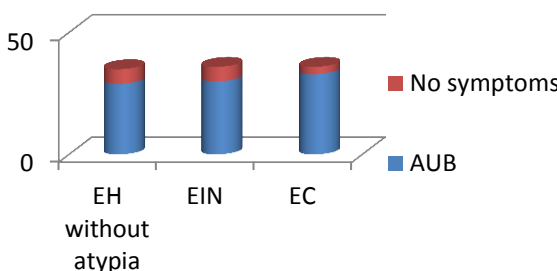
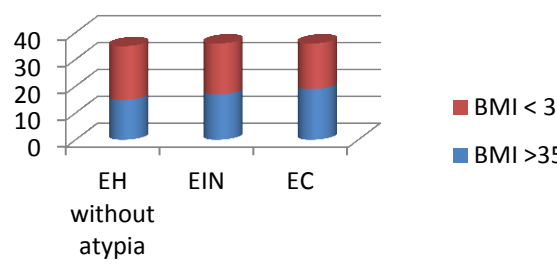
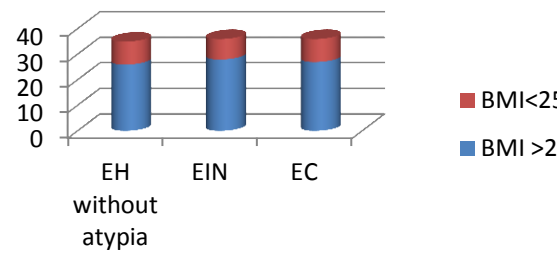
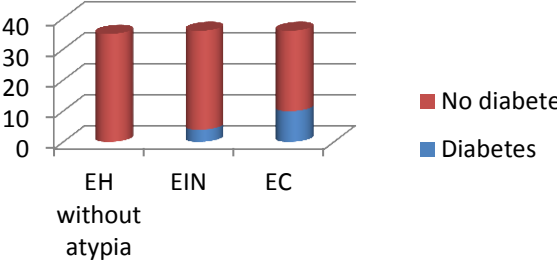
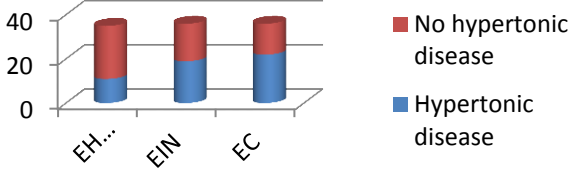
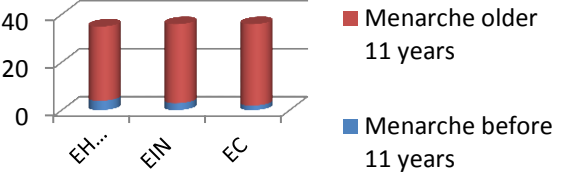
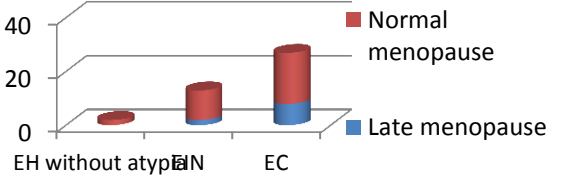
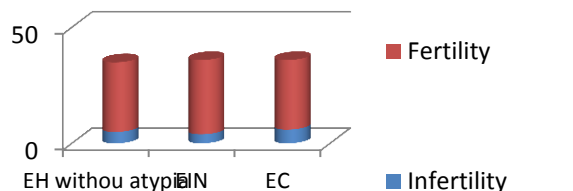
Parameter	Indicator	EH without atypia	EIN	EC
Complaints 	AUB	29 (83%)	30 (83%)	33 (92%)
	No complaints	6 (17%)	6 (17%)	3 (8%)
Obesity 	Yes	15 (43%)	17 (47%)	19 (53%)
	No	20 (57%)	19 (53%)	17 (47%)
Overweight 	Yes	26 (74%)	28 (78%)	27 (75%)
	No	9 (26%)	8 (22%)	9 (25%)
Type 2 diabetes 	Yes	0	4 (11%)	10 (28%)
	No	35	32 (89%)	26 (72%)

Table 5 continued

Parameter	Indicator	EH without atypia	EIN	EC
Hypertonic disease 	Yes	11 (54%)	19 (53%)	22 (61%)
	No	24 (46%)	17 (47%)	14 (39%)
Early menarche (before age 11) 	Yes	4 (11%)	3 (8%)	2
	No	31 (89%)	33 (92%)	34
Late menopause (55 years and older) 	Yes	0	2	8
	No	2	11	19
Infertility 	Yes	5	4	6
	No	30	32	30

Data on the use of COCs in this sample are limited, it is reliably known that only 2 women received COCs for more than 3 years. For the rest, there is no information on admission and duration of admission.

I would like to emphasize that in 10 women (29%), endometrial hyperplasia is recurrent in nature, and the anamnesis has already recorded cases of histologically confirmed HE without atypia 3-7 years ago.

Morphological analysis of the material revealed discrepancies in the diagnosis according to the conclusions of different pathologists in 3 women (9% of cases). In one of the patients, initially, according to the histological conclusion, no EH was detected, but only a proliferative endometrium. The other two were overdiagnosed: AEH was diagnosed, but a review confirmed EH without atypia (Figure 6).

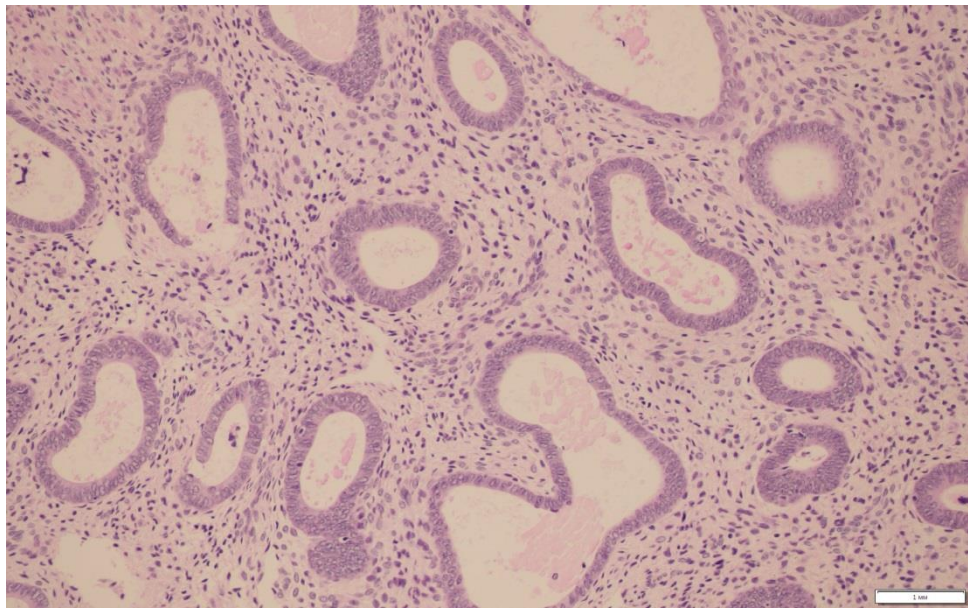


Figure 6 – Preparation of endometrial hyperplasia without atypia, color hematoxylin eosin, $\times 200$

However, one of the patients (with late menopause) has recurrent endometrial hyperplasia. Since 2016, the patient has had 5 hysteroscopies with separate diagnostic curettage of the uterine cavity and cervical canal. According to the histological conclusion, EH was confirmed without atypia, 2 times in combination with an endometrial polyp. The patient is under dynamic observation. At the time of the examination in 2021, the patient had no complaints about AUB; according to the ultrasound examination, the endometrium corresponds to postmenopause, its thickness does not exceed 4 mm. Since 2016, the second patient has noted the

absence of menstruation, has no complaints, according to the ultrasound examination of the small pelvis, no pathology of the endometrium was detected.

This group of patients was followed up by telephone survey (31 patients were interviewed 5 years after the initial endometrial assessment, 1 patient after 3 years, 2 patients could not be contacted, 1 patient was included in the study in 2021). In 6 cases, repeated morphological evaluation of the endometrium was performed in the interval from 2-5 years. None of the patients showed malignancy of EH.

**Group 2: patients diagnosed with endometrioid
intraepithelial neoplasia/atypical endometrial
hyperplasia (EIN/AEH)**

The second group of patients included 36 people with a morphologically confirmed diagnosis – endometrioid intraepithelial neoplasia\ atypical endometrial hyperplasia (Figure 7).

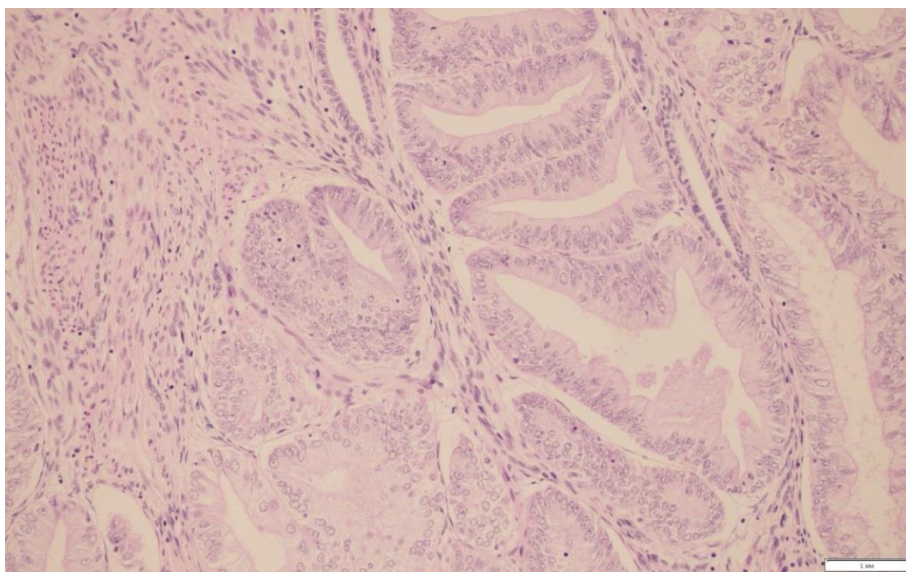


Figure 7 – Preparation of endometrioid intraepithelial neoplasia,
hematoxylin eosin , ×200

This group consisted of women with an average age of 53 ± 10 years. 7 women (19%) were in the reproductive period, 12 (33%) – in the transition period, 17 (48%) – in postmenopause. In 83% of women complained about AUB (30% of them had signs of anemia hemoglobin below 120 g/l). The most common of all the risk factors

for endometrial cancer in this group were obesity and overweight. They were detected in 75% of the women studied, the average BMI was 30 ± 7 kg/m² (Table 5).

Other somatic risk factors were less common: hypertension in 53% (19 women), diabetes in 11% (4 patients), AIT in 31% (11 women).

Reproductive risk factors: early menarche was observed in 3 women (8%), infertility in 4 patients (11%).

The average number of pregnancies in patients of this group was 3 ± 2 , the number of births was 1 ± 1 , the number of abortions was 1 ± 2 (Table 5).

None of the patients had data on taking COCs.

In 3 cases (8%), a recurrence of endometrial hyperplasia was observed. Previously obtained histological preparations revealed EH without atypia (histological results from 2006, 2015, 2018 years). In 92%, precancerous endometrial disease was diagnosed for the first time without previous episodes of EH without atypia.

It should be emphasized that during morphological revision, a discrepancy in diagnoses was detected in 42% of cases (in 15 women). According to histological results, 7 women were initially diagnosed with EH without atypia (that is, 20% underestimated the severity of the diagnosis), and 8 patients had cases of overdiagnosis of the condition and were diagnosed with EC instead of EIN (22%). In 11 (5 overdiagnostics and 6 underdiagnostics) out of 15 cases of discrepancy in diagnoses were detected in two or more pathologists, that is, in 31% of all studied cases. In 4 patients (11% of all women with EIN), the conclusion obtained after the analysis of the biopsy material differed from that obtained after surgery (1 case of underdiagnosis and 3 cases of overdiagnosis).

Hysterectomy was performed in the majority of patients diagnosed with EIN (33 women). 2 patients were fitted with a Levonorgesterel-producing spiral, against the background of which a regression of the disease was recorded in patients during 3 years of follow-up. In one of the patients, the progression of the disease to endometrioid adenocarcinoma was recorded: EH was mistakenly diagnosed without atypia instead of EIN in 2016 year (one of the cases of EIN underdiagnosis), in 2020,

due to complaints about AUB, hysteroscopy with morphological examination of the material was performed – a diagnosis of highly differentiated endometrial adenocarcinoma with invasion of the myometrium less than 1\2, a hysterectomy was performed – the diagnosis was confirmed.

Group 3: patients diagnosed with endometrioid adenocarcinoma of the endometrium

The group of patients with morphologically confirmed diagnosis of endometrial adenocarcinoma (Figure 8) was 36 women.

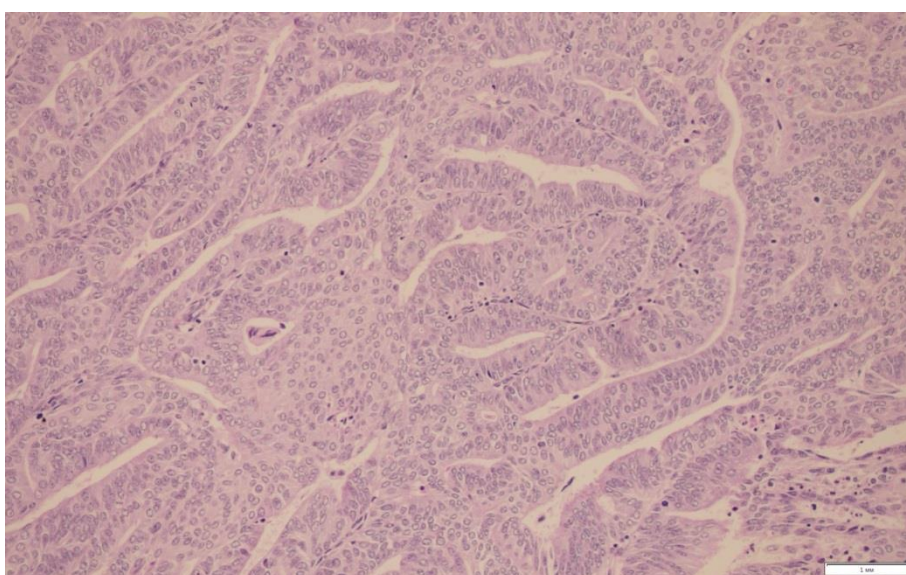


Figure 8 – Endometrioid adenocarcinoma of the endometrium, hematoxylin eosin, $\times 200$

In 31 patients (86%), stage 1 of the disease was established, of which 81% of cases had a moderate degree of tumor differentiation, 16% had a highly differentiated tumor and 3% had a low-grade cancer. In 3 patients (8%), moderately differentiated endometrial adenocarcinoma of the 2nd stage of the disease was detected. In 2 patients (6%) – stage 3 of the disease (moderate and low-grade tumors).

The average BMI of the group was $31 \pm 8 \text{ kg/m}^2$. 75% (27) of women were overweight, 53% (19) were obese. Only 25% were of normal weight (Table 5).

Hypertension occurred in 19 women 53% of cases, DM – in 4 women 11%, 11 women (31%) suffered from AIT (Table 5).

Reproductive risk factors: early menarche in 2 women (6%), infertility suffered 6 women (17%), 9 out of 28 had late menopause (32%). The average number of pregnancies in women of this group was 2 ± 2 , births 1 ± 1 , abortions 1 ± 1 (Table 5).

3 women (8%) had a history of endometrial cancer without atypia before diagnosis.

The 3-year survival rate of patients with EC was 94%. 2 cases of death of patients were associated with the stage of the disease (1 patient with stage 3), the second patient was diagnosed with primary multiple cancer: breast cancer in combination with endometrial cancer.

In 5 cases (14%), when reviewing the morphological material, a discrepancy in the diagnosis was revealed. In all cases, there was an underdiagnosis of endometrial disease. In 4 women, different pathologists gave different conclusions, in one case the diagnosis differed in the case of biopsy and surgical material.

Comparative characteristics of groups by clinical parameters

After a statistical analysis of all clinical indicators, the following statistically significant differences were revealed ($p < 0.05$).

Age significantly differed in all three groups. In women diagnosed with EH without atypia, the average age was 46 ± 6 years, in the group of patients with EIN, the average age was 53 ± 10 years, in the group of patients with EC, the average age was 61 ± 13 years (Figure 9).

The incidence of endometrial cancer in women after 55 is higher compared to the development of EH ($p < 0.001$) and EIN ($p = 0.018$) in women of the same age group. In the group over 55 years of age, EIN was diagnosed more often than EH ($p < 0.001$).

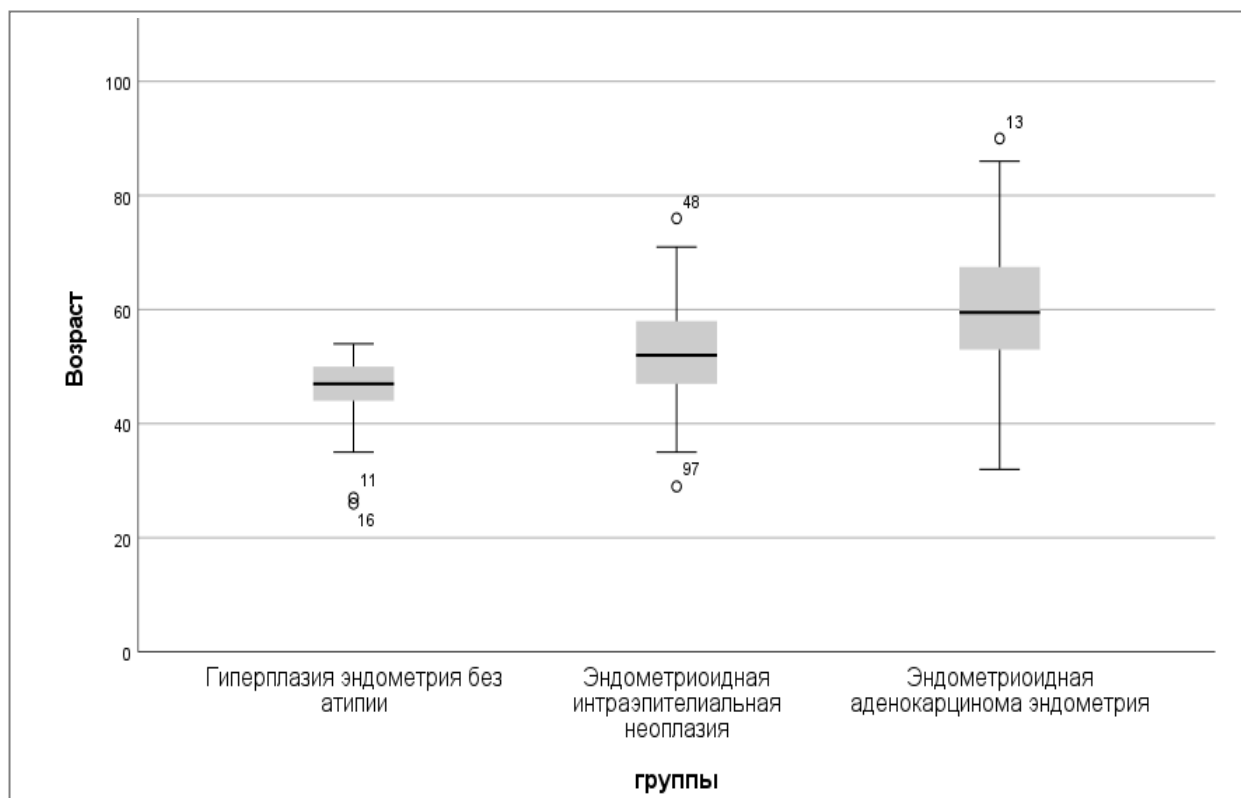


Figure 9 – Age distribution of patients with various endometrial pathology

When analyzing the stages of reproductive aging of women, the following results were obtained: EIN was more common in postmenopausal women ($p=0.003$) and transition period ($p=0.008$) than benign EH. In the reproductive period, endometrial hyperplasia without atypia was more common than EIN ($p<0.001$). EC compared with EH occurred more often in the transition period ($p<0.001$) and postmenopause ($p<0.001$) and less often in the reproductive period ($p=0.014$). Endometrial cancer, compared with EIN, occurred more often in postmenopause ($p=0.001$) and less often in the reproductive period ($p=0.007$), whereas in the transitional stage these conditions occurred with the same frequency.

Somatic diseases with significant differences in the frequency of occurrence in different endometrial pathologies were also identified.

Endometrial cancer occurred more often ($p=0.001$) than EH without atypia in patients with type 2 diabetes mellitus, and less often in the absence of diabetes ($p<0.001$).

Patients with hypertension developed endometrial cancer more often than EH without atypia and less often in its absence ($p=0.017$).

The remaining clinical indicators taken into account did not have a significant effect on the incidence of EC, precancerous or EH (Table 5).

There were no significant differences in BMI, the number of pregnancies, abortions and births in the three study groups (Figure 10).

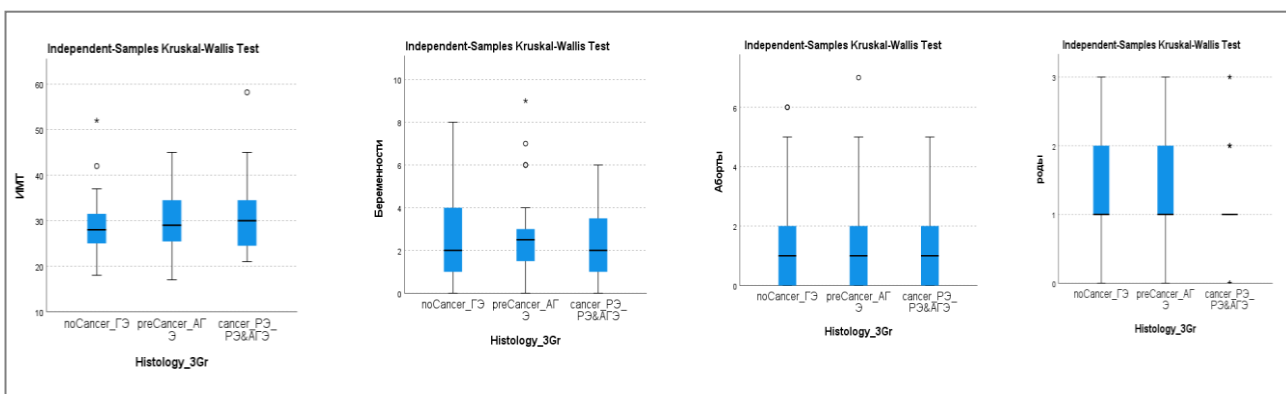


Figure 10 – BMI, number of pregnancies, abortions and births in patients with EH without atypia, EIN and EC

Divergence of diagnoses of endometrial hyperplasia without atypia, atypical endometrial hyperplasia and endometrial adenocarcinoma during morphological evaluation

In total, 107 histological samples were included in the final work, which were subject to revision in a specialized oncological institution by an oncopathologist specialist, taking into account the morphological criteria of the WHO in 2014. A discrepancy in the pathoanatomic diagnosis was found in 23 cases (21%). All these cases were analyzed taking into account the data obtained by the IHC and the assessment of the patients' condition 5 years after the initial diagnosis. Overdiagnosis of endometrial disease was observed in 57% (13 cases), underdiagnosis – in 43% (Figure 11).

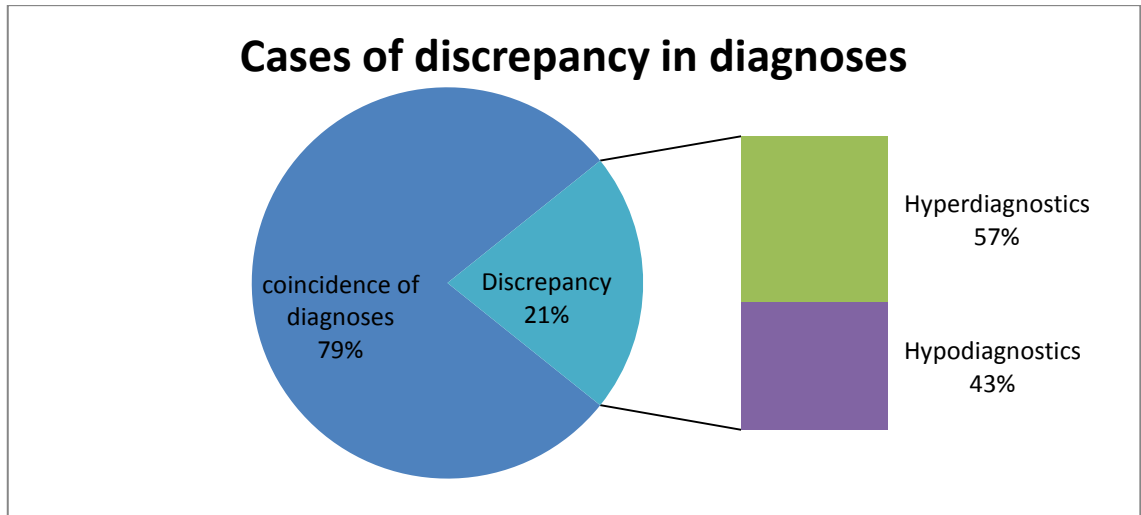
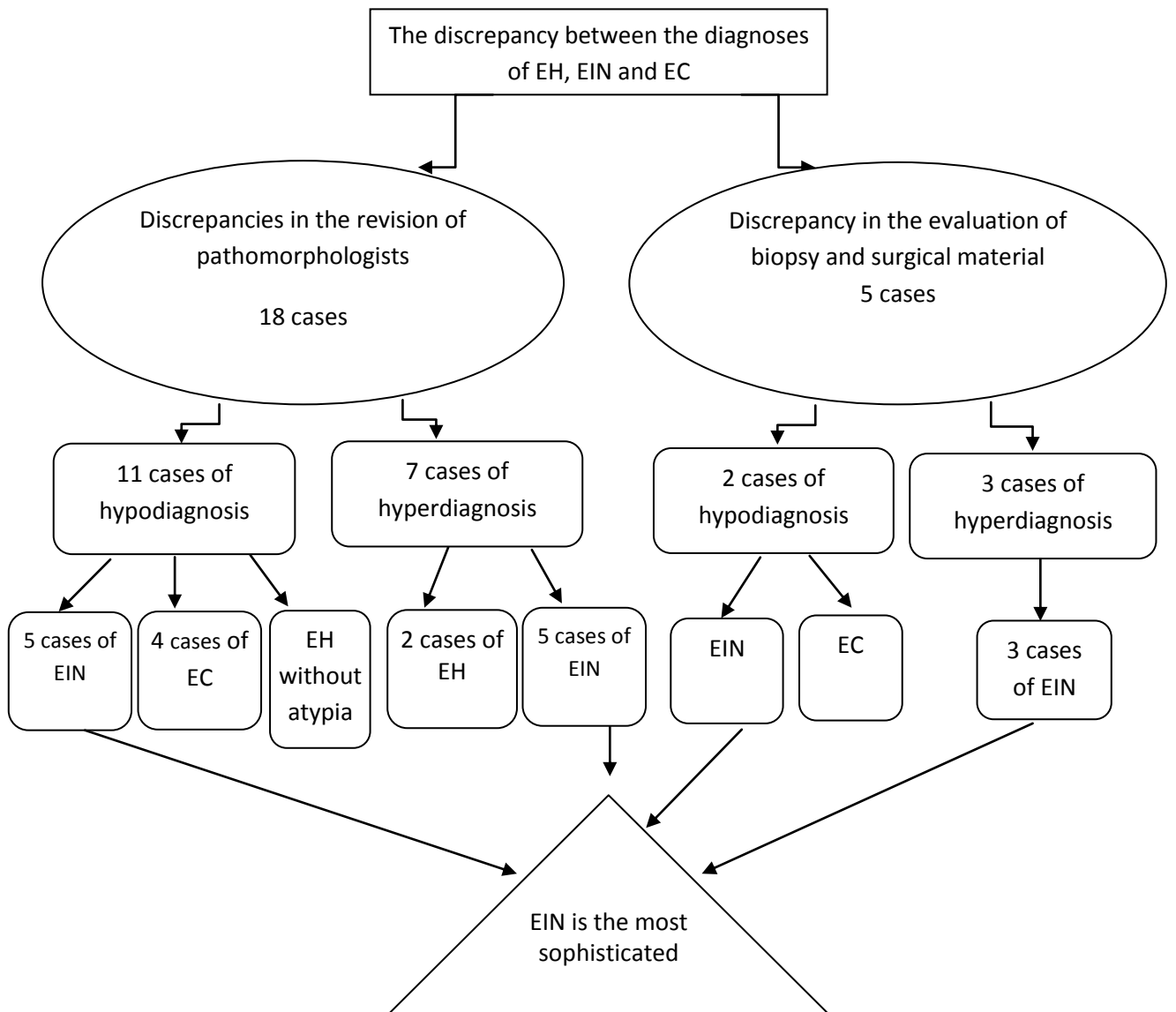


Figure 11 – Cases of divergence of diagnoses of EH, EIN and EC during morphological revision

Block diagram 1 – The structure of the discrepancy between the diagnoses of EH, EIN and EC



In some cases, different diagnoses were established when reviewing the same material by different pathologists from two to four (18 cases), in others – during histological analysis of biopsy and surgical material (5 cases) (block diagram 1). In 3 out of 5 cases, an overestimation of the degree of endometrial atypia was revealed: the biopsy material was diagnosed with EC, and the operating material with EIN. In one case EH without atypia was made after the evaluation of the biopsy material the diagnosis, after the operation – EIN, in one case the degree of atypia was underestimated: during the examination of the endometrial biopsy material the diagnosis of EIN was established, EC was detected in the postoperative material. Out of 18 cases 11 patients had discrepancies in diagnoses towards hypodiagnosics: in 5 cases, the diagnosis of EIN was not established, the response of the histological conclusion was EH without atypia; in 5 cases EIN was put instead of EC; in 1 case EH was omitted without atypia, the endometrium was described without pathological changes. In 7 cases overdiagnosis was allowed: in 5 cases there were discrepancies in the diagnoses of EIN and EC, in 2 cases EIN and EH without atypia.

Statistically errors in diagnosis are most often found in the EIN group. In our study, 15 out of 36 women diagnosed with EIN (42%) initially had difficulties in making a diagnosis. With the use of IHC markers, diagnostic errors could be avoided in 87% of cases. The above data and individual clinical cases confirm the expediency of using IHC markers to diagnose the atypical form of endometrial hyperplasia, which is the most difficult to diagnose [9].

Reproductive age group

Women of reproductive age deserve special attention. Women of reproductive age accounted for 18% (19 people) of all the studied patients. Their number, depending on the pathology of the endometrium, is shown in the graph (Figure 12). Among patients diagnosed with precancer and initial cancer of the uterus, 14% of cases (10 patients) were of reproductive age. Their mean age was 39 ± 5 years (with a minimum of 29 years and a maximum of 44 years). 4 of them were diagnosed with infertility (40%).

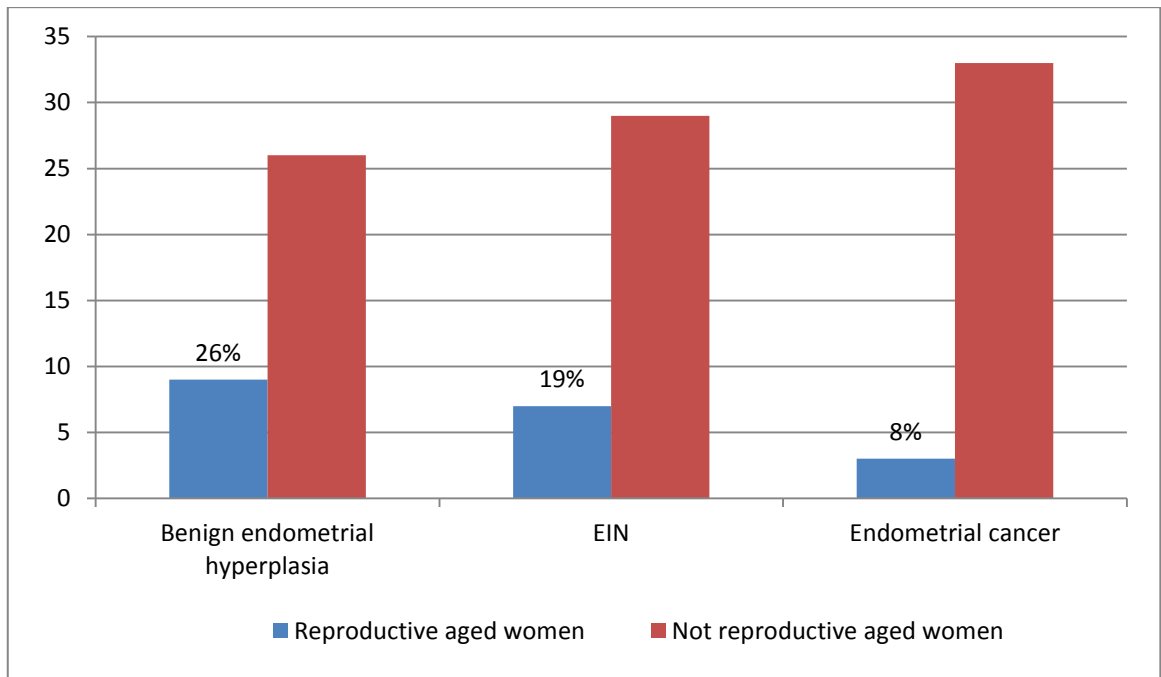


Figure 12 – The proportion of women of reproductive age in groups of patients with various pathologies of the endometrium

In 3 cases, in patients of reproductive age, there was a discrepancy in the diagnosis. One of these patients deserves a separate description as a clinical case of the use of IHC markers to improve the diagnostic search for suspected hyperplasia and endometrial cancer.

A 44-year-old patient with a diagnosis of secondary infertility was referred for diagnostic hysteroscopy with a histological examination of a curettage of the uterine cavity due to suspected endometrial hyperplasia according to ultrasound examination of the pelvic organs. After a morphological study, the patient was diagnosed with atypical endometrial hyperplasia (EIN). The material was reviewed in two specialized institutions in Moscow, where the histological conclusion was confirmed. Despite the woman's reproductive plans, she was offered surgical treatment. However, taking into account the persistent desire of the patient to realize the reproductive function, she refused surgical treatment. Conservative therapy was also not carried out. After 6 months from the diagnosis, she underwent a second hysteroscopy due to signs of an endometrial polyp and complaints of AUB. A study of new material and revision of primary preparations with IHC evaluation (PAX2 and PTEN) was carried out. In the

revised preparations foci with areas of "squamous metaplasia" resembling areas of atypical hyperplasia were found, with a positive reaction to PAX2 and PTEN. Conclusion: glandular hyperplasia of the endometrium. Conclusion after evaluation of new histological material: endometrial glandular polyp, endometrium in the secretion phase. Thus, the diagnosis in this patient after additional studies: Endometrial hyperplasia without atypia. Endometrial polyp without atypia. The patient was prescribed conservative treatment with further consultation of a reproductologist and the implementation of reproductive function. Within 1 year after the diagnosis, the patient is under observation, receives therapy with progesterone drugs, no endometrial pathology has been identified at the moment, pregnancy planning continues.

In this clinical example, the IHC study became a valuable additional factor for a more accurate diagnosis of endometrial hyperplasia, which made it possible to avoid unjustified radical treatment.

3.3 Immunohistochemical features of benign endometrial hyperplasia, endometrioid intraepithelial neoplasia and endometrioid endometrial cancer

1. IHC profile of benign endometrial hyperplasia:

After IHC study the following indicators were revealed: the average value of Ki-67 was $13\pm 9\%$ (minimum value 5%, maximum 35%), estrogen receptors had an average value of $95\pm 5\%$ (minimum value 55%, and maximum value 100%), progesterone receptors – $89\pm 24\%$ (minimum value 2%, and maximum value 100%), β -catenin – the average value was $2\pm 9\%$ (minimum 0, maximum 35%) (table 6).

Normal expression of ARID1a was observed in all women in 100% of cases.

Partial loss of PTEN expression was observed in one woman (3%). In the rest (97%) the expression of this gene is preserved. Follow-up of the patient for 3 years did not reveal the progression of the disease against the background of the action of Levonogestrel-containing IUD.

Loss of MMR genes (MLH1, MSH6, PMS2, MSH2) was not detected in any of the cases of endometrial hyperplasia without atypia.

Loss of PAX 2 expression was observed in 2 women (6%). Follow-up of them for 5 years did not reveal malignant transformation of EH (Table 6) [121].

2. IHC profile of endometrioid intraepithelial neoplasia:

After IHC studies the following indicators were revealed: the average value of the Ki-67 indicator was $18\pm 13\%$ (the minimum value was 0, and the maximum value was 55%). Estrogen receptors had a mean value of $93\pm 7\%$ (minimum value 60% and maximum value 100%). Progesterone receptors – $73\pm 25\%$ (with a minimum value of 7, and a maximum of 100%). The mean value of beta-catenin was $10\pm 22\%$, with a minimum of zero and a maximum of 95% (Table 6).

Normal expression of ARID1a was observed in all women in 100% of cases.

Loss of PTEN gene expression was observed in 24 patients (67% of cases). Microsatellite instability was detected in 1 case due to the loss of the PMS2 and MLH1 genes (Table 6). These data were confirmed by NGS next generation sequencing.

PAX 2 loss was recorded in 89% of patients diagnosed with EIN (32 women) (Table 6) [121].

3. IHC profile of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium:

After IHC studies the following indicators were revealed: the average value of Ki-67 was $39\pm 23\%$ (with a minimum value of 2%, a maximum of 90%). Estrogen receptors had a mean value of $75\pm 30\%$ (with a minimum value of 0 and a maximum of 100%). Progesterone receptors – $54\pm 31\%$ (with a minimum value of 0 and a maximum of 100%). The mean value of β -catenin was $13\pm 25\%$ (minimum 0, maximum 90%) (Table 6).

ARID1a loss was observed in 33% of women (12 cases). Loss of PTEN gene expression was noted in 24 patients (67% of cases). Microsatellite instability was detected in 13 cases (33%), in 92% due to the loss of the PMS2 and MLH1 genes and in 8% (1 case) due to the loss of the MSH6 and MSH2 genes. These data have been confirmed, including by next generation sequencing (NGS).

PAX 2 loss was recorded in 86% of patients diagnosed with EIN (31 women) (Table 6) [121].

Table 6 – Comparative characteristics of the expression of the main markers in endometrial hyperplastic processes and endometrioid adenocarcinoma [121]

ICH parameter	Indicator	Benign endometrial hyperplasia 35	EIN 36	Endometrial cancer 36
Ki-67, %	Average value	13	18	39
	Standard deviation	9	13	23
	Quartile 25	5	10	19
	Quartile 75	20	25	53
Estrogen receptors, %	Average value	95	93	75
	Standard deviation	9	7	30
	Quartile 25	95	90	65
	Quartile 75	100	98	97
Progesteron receptors, %	Average value	89	73	54
	Standard deviation	24	25	31
	Quartile 25	95	60	30
	Quartile 75	98	94	73
Nuclear expression of beta-catenin , %	Average value	2	10	13
	Standard deviation	7	22	25
	Quartile 25	0	0	0
	Quartile 75	0	8	13
ARID1a	Presence	35	36	24 (67%)
	Loss	0	0	12 (33%)
PTEN	Presence	34 (97%)	12 (33%)	12 (33%)
	Loss	1 (3%)	24(67%)	24 (67%)
MSH6	Presence	35	36	35 (97%)
	Loss	0	0	1 (3%)
MSH2	Presence	35	36	35 (97%)
	Loss	0	0	1 (3%)

Table 6 continued

ICH parameter	Indicator	Benign endometrial hyperplasia 35	EIN 36	Endometrial cancer 36
PMS2	Presence	35	35 (97%)	24 (67%)
	Loss	0	1 (3%)	12 (33%)
MLH1	Presence	35	35 (97%)	24 (67%)
	Loss	0	1 (3%)	12 (33%)
MSI	Presence	35	35 (97%)	23 (64%)
	Loss	0	1 (3%)	13 (36%)
PAX2	Presence	33 (94%)	4 (11%)	5 (14%)
	Loss	2 (6%)	32 (89%)	31 (86%)

Comparative characteristics of groups by IHC parameters

The comparison of the studied groups on the expression of IHC markers was carried out. The results are presented in Table 6.

If there are significant differences between the groups ($p < 0.05$) according to the test results (ChiSq or Fisher), the odds ratio (OR), relative risk (RR) sensitivity and specificity were calculated (Table 7).

Table 7 – Diagnostic accuracy of IHC markers for differentiation of benign, precancerous and oncological diseases of the endometrium) [121]

ICH parameter	Characteristic	EIN and EC	EH and EC	EN and EIN
ARID1a	RR	2,308	2,269	–
	Sensitivity	33%	33%	–
	Specificity	97%	100%	–
PTEN	RR	No differences	3,7	3,7
	Sensitivity		67%	67%
	Specificity		97%	97%
MSH6	There are no differences			
MSH2				

Table 7 continued

ICH parameter	Characteristic	EIN and EC	EH and EC	EN and EIN
PMS2	RR	2,269	2,269	No differences
	Sensitivity	33%	33%	
	Specificity	97%	100%	
MLH1	RR	2,269	2,269	No differences
	Sensitivity	33%	33%	
	Specificity	97%	100%	
MSI	RR	2,342	2,342	No differences
	Sensitivity	36%	36%	
	Specificity	97%	100%	
PAX2	RR	No differences	7,139	8,706
	Sensitivity		86%	89%
	Specificity		94%	94%

Note – RR – relative risk; EH – endometrial hyperplasia without atypia; EIN – endometrioid intraepithelial neoplasia; EC – endometrioid adenocarcinoma of the endometrium.

Expression of the ARID1a gene

There were no significant differences between the groups of EH without atypia and EIN. Loss of expression of the ARID1a gene was not observed either in cases of EH without atypia (Figure 13) or in cases of EIN (Figure 14).

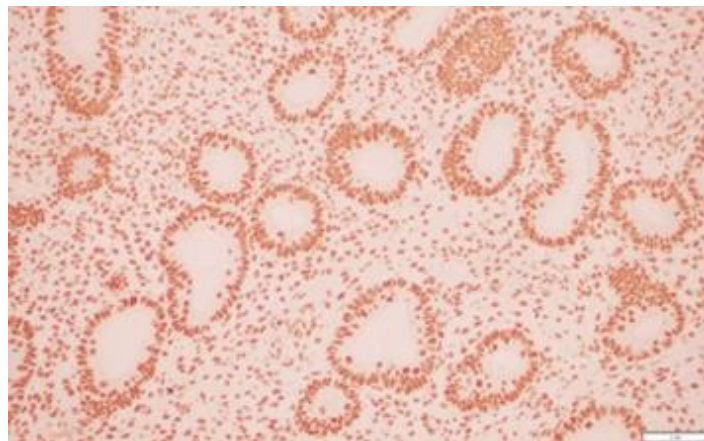


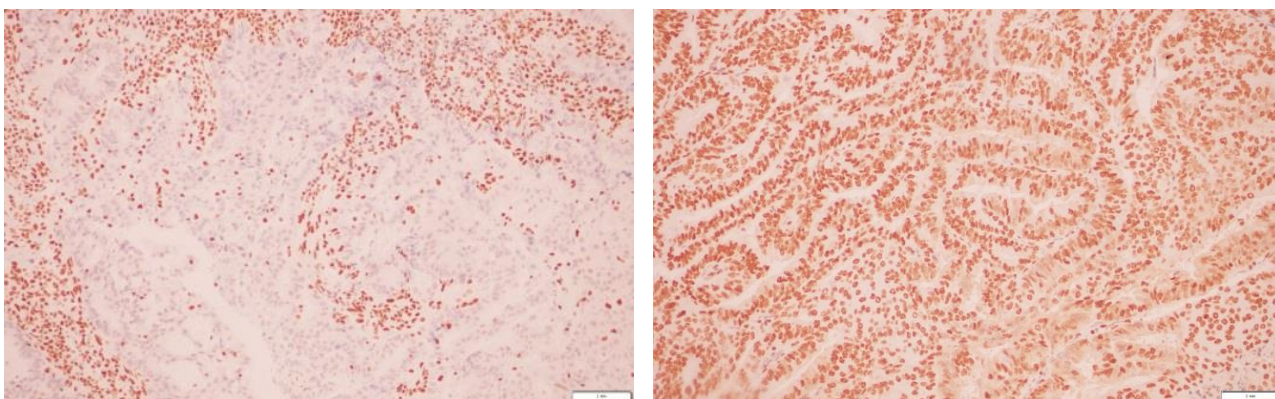
Figure 13 – ARID1a positive staining in the preparation of endometrial hyperplasia without atypia, ×200



Figure 14 – ARID1a positive staining in the preparation of endometrioid intraepithelial neoplasia, $\times 200$

Significant differences were revealed between the groups of EIN and EC, EH without atypia and EC on the basis of loss of expression of ARID1a (assessed as the absence of staining in the IHC analysis).

Loss of ARID1a expression is most characteristic of EC, occurring in 67% of all studied cases of EC (Figure 15).



1 – negative staining (67% of cases);

2 – positive staining (33% of cases).

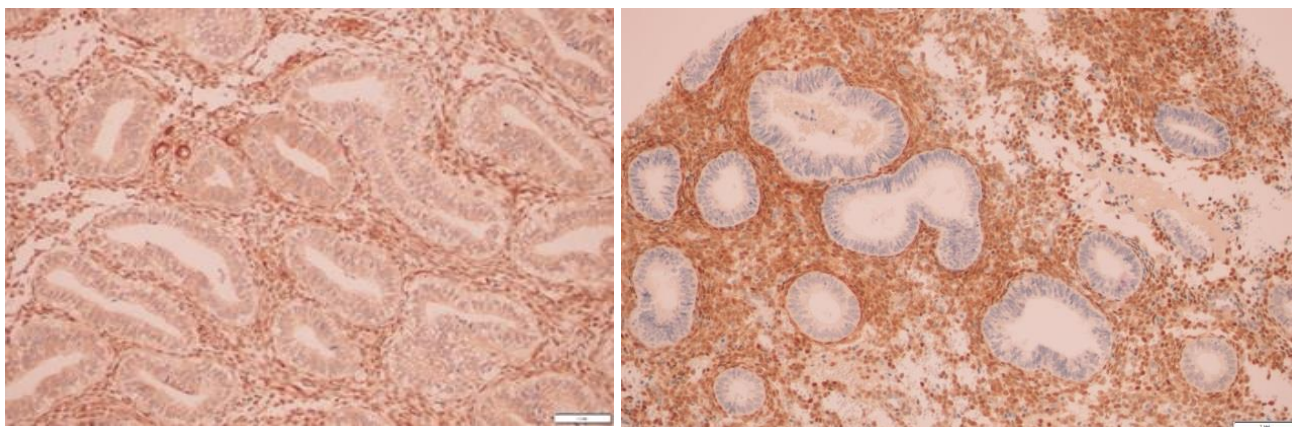
Figure 15 – ARID1a staining in tumor cells in the preparation endometrioid endometrial adenocarcinoma $\times 200$

According to the obtained data, when ARID1a falls out, EC is diagnosed 2.3 times more often than EIN and EH. In the differential diagnosis of EC from EIN

and EC from EH, this marker will have the same sensitivity – 33%, and specificity – 97% and 100%, respectively (Table 7).

Expression of the PTEN gene

Loss of PTEN expression was registered only in one case of endometrial hyperplasia without atypia, all other samples were with preserved expression (Figure 16).



PTEN positive staining, ×200;

PTEN negative staining, ×200

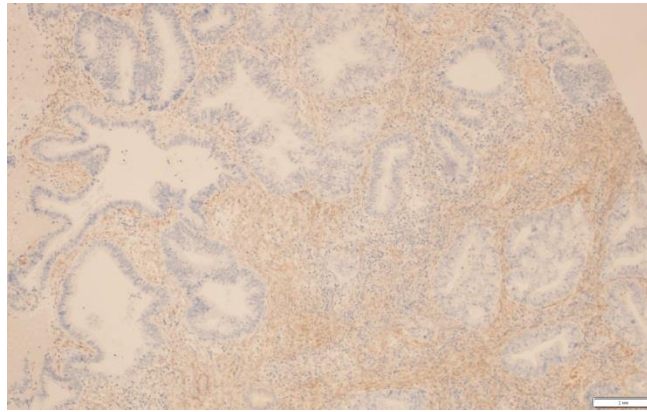
(1 case – 3%).

Figure 16 – Expression of the PTEN gene
in the preparation of endometrial hyperplasia without atypia

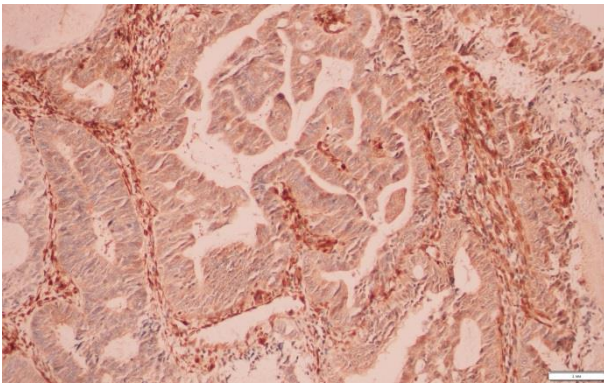
There were no significant differences in PTEN loss in the EIN and EC groups. Differences were revealed in the groups: EH and EIN, EH and EC.

Loss of PTEN is equally common in the EIN and EC groups in 67% (Figure 17).

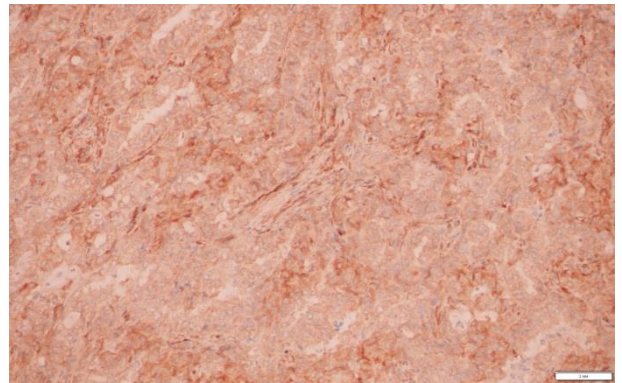
In cases of PTEN loss precancerous and endometrial cancer are observed 3.7 times more often than EH.



PTEN negative staining in the preparation of endometrial adenocarcinoma with foci of EIN, $\times 200$;



PTEN positive staining in the EIN preparation,
 $\times 200$;



PTEN positive staining in the preparation
of endometrial adenocarcinoma, $\times 200$.

Figure 17 – Expression of the PTEN gene
in preparations of endometrioid intraepithelial neoplasia and endometrioid
endometrial cancer

In the differential diagnosis of EIN and EC from EH, the sensitivity of this marker is 67%, and the specificity is 97% (Table 7) [171].

Assessment of microsatellite instability status

(expression of 4 genes: MSH6 and MSH2, PMS2 and MLH1)

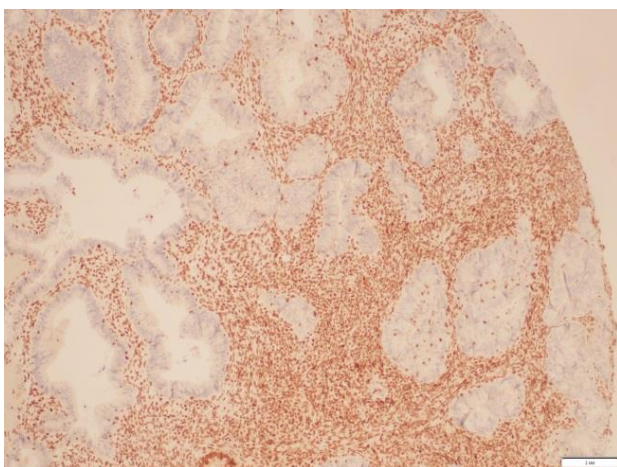
There were no significant differences in the paired MSH6 and MSH2 genes in the groups. The absence of staining was observed only in one case of EC.

For the PMS2 and MLH1 genes, significant differences were found in the EIN and EC, EH and EC groups. There were no differences in the EH and EIN groups.

The relative risk of detecting EC in the presence of PMS2 and MLH1 loss is 2.3 times higher than the detection of EH and EIN.

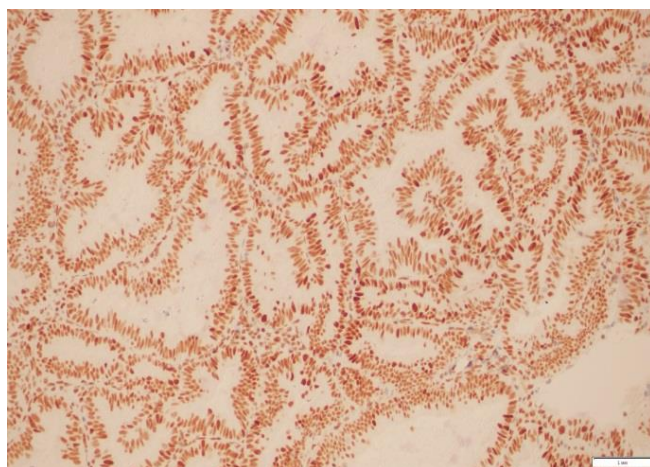
In the differential diagnosis of EC and EIN, EC and EH the sensitivity of these markers is 33%, and the specificity is 97% and 100%, respectively (Table 7).

MSI is more common in EC (36% of cases) (Figure 18), practically does not occur in EIN (1 case) (Figure 19), does not occur in EH (Figure 20). When detecting MSI, the relative risk of detecting EC will be 2.3 times higher than the detection of EIN and EH.



MLH1 negative staining, $\times 200$

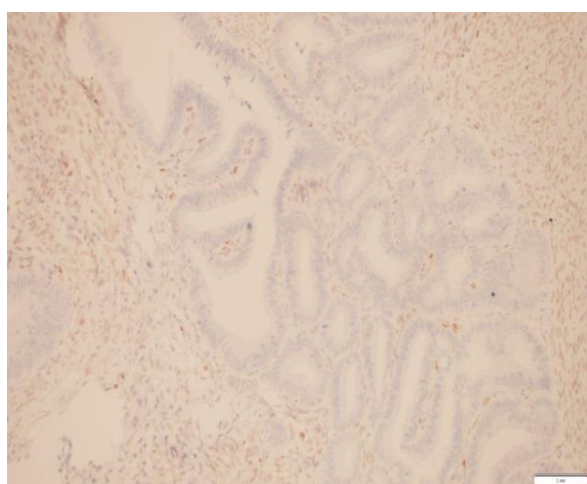
(MSI – 36% of cases);



MSH6 positive coloring, $\times 200$

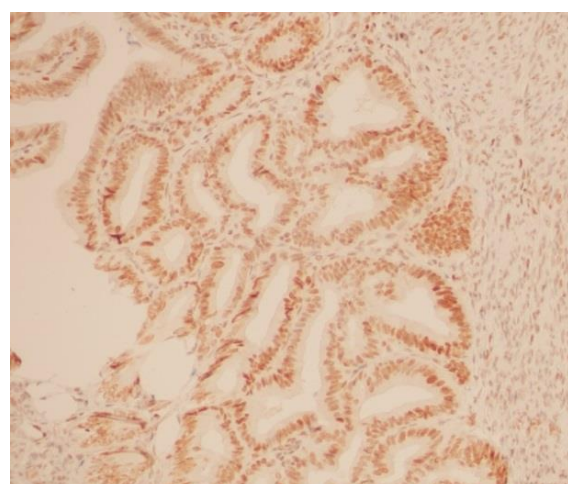
(without dMMR – 64% of cases).

Figure 18 – Microsatellite status in endometrial adenocarcinoma preparations



MLH1 negative staining, $\times 200$

(MSI – 3% of cases);



MSH6 positive coloring, $\times 200$

(without dMMR – 97% of cases).

Figure 19 – Status of microsatellite instability
in endometrioid intraepithelial neoplasia preparations

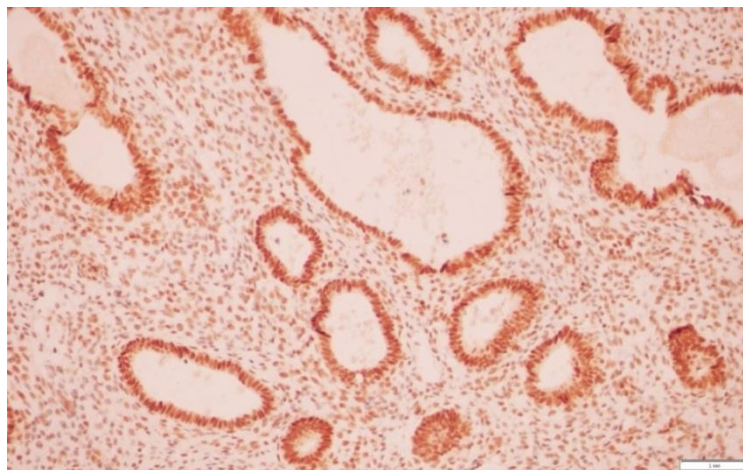
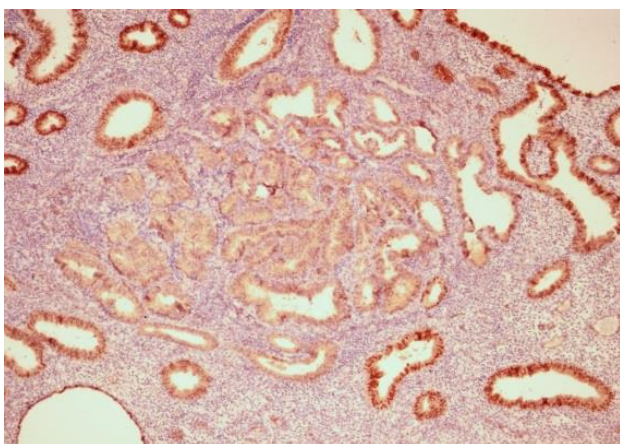


Figure 20 – MLH 1 positive staining
in the preparation of benign endometrial hyperplasia (without dMMR), ×200

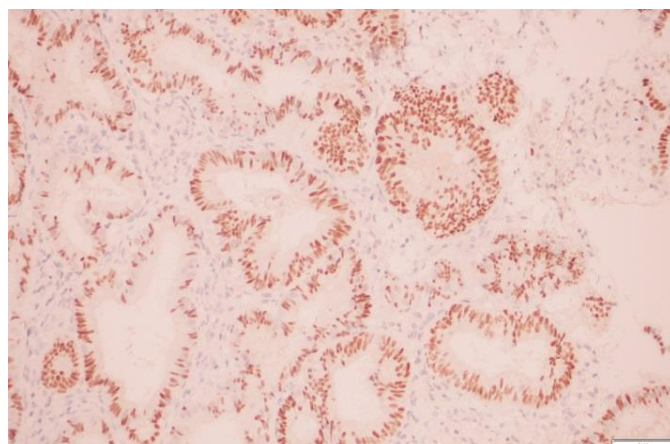
The sensitivity of the MSI determination method in the differential diagnosis of EC from EH and EIN was 36%, and the specificity was 100% and 97%, respectively (Table 7).

Expression of the PAX2 gene

Most often, the loss of PAX2 expression (absence of staining during the IHC reaction) is observed in the EIN groups (in 89% of cases) (Figure 21) and EC (in 86% of cases) (Figure 22), practically does not occur in the EH group (detected only in 2 patients – 6%) (Figure 23).

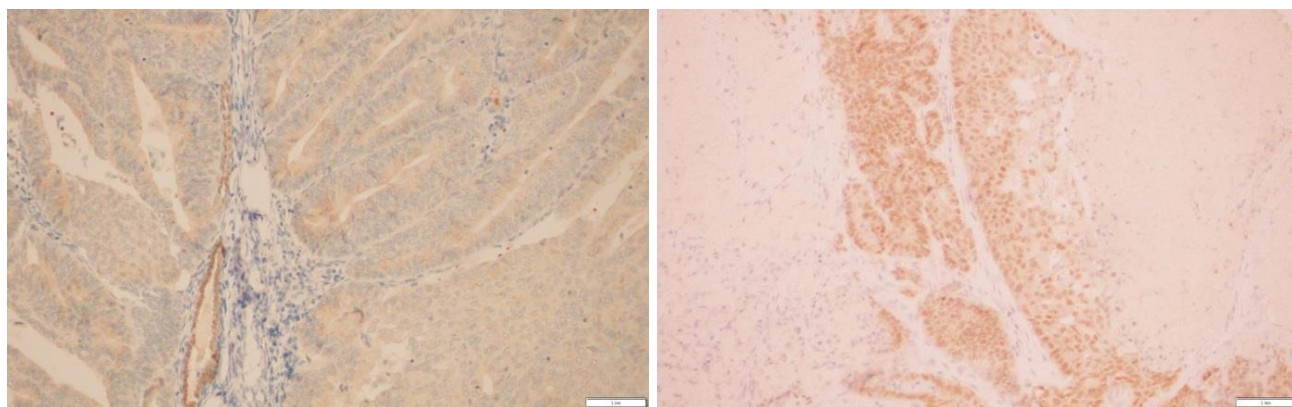


PAX 2 negative staining in the focus of EIN in
the endometrial polyp, ×200;



PAX 2 positive staining, ×200.

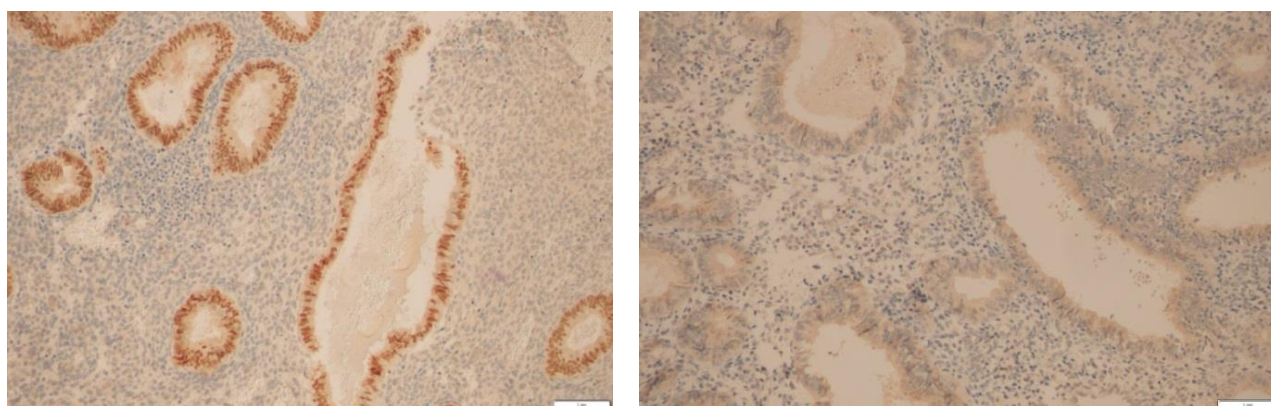
Figure 21 – Immunohistochemical study of Pax2
in endometrioid intraepithelial neoplasia preparations



PAX 2 negative staining, $\times 200$;

PAX 2 positive staining, $\times 200$.

Figure 22 – Immunohistochemical study of Pax2
in preparations of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium



PAX 2 positive staining, $\times 200$ (94% of cases);

PAX 2 negative staining $\times 200$ (6% cases).

Figure 23 – Immunohistochemical study of Pax2
in preparations of benign endometrial hyperplasia

The relative risk of detecting EIN with PAX2 loss is 8.7, and with EC – 7.1 compared to EH.

The sensitivity of this marker in the differential diagnosis of EIN from EH was 89%, and the specificity was 94%. The differential diagnosis of EC from EH revealed sensitivity of 86%, and specificity of 94% (Table 7) [171].

Expression of Ki-67

The Ki-67 proliferation index significantly differed in the three study groups, with the lowest value in the EH group and the highest in the EC group ($p=0.004$) (Table 7, Figure 24).

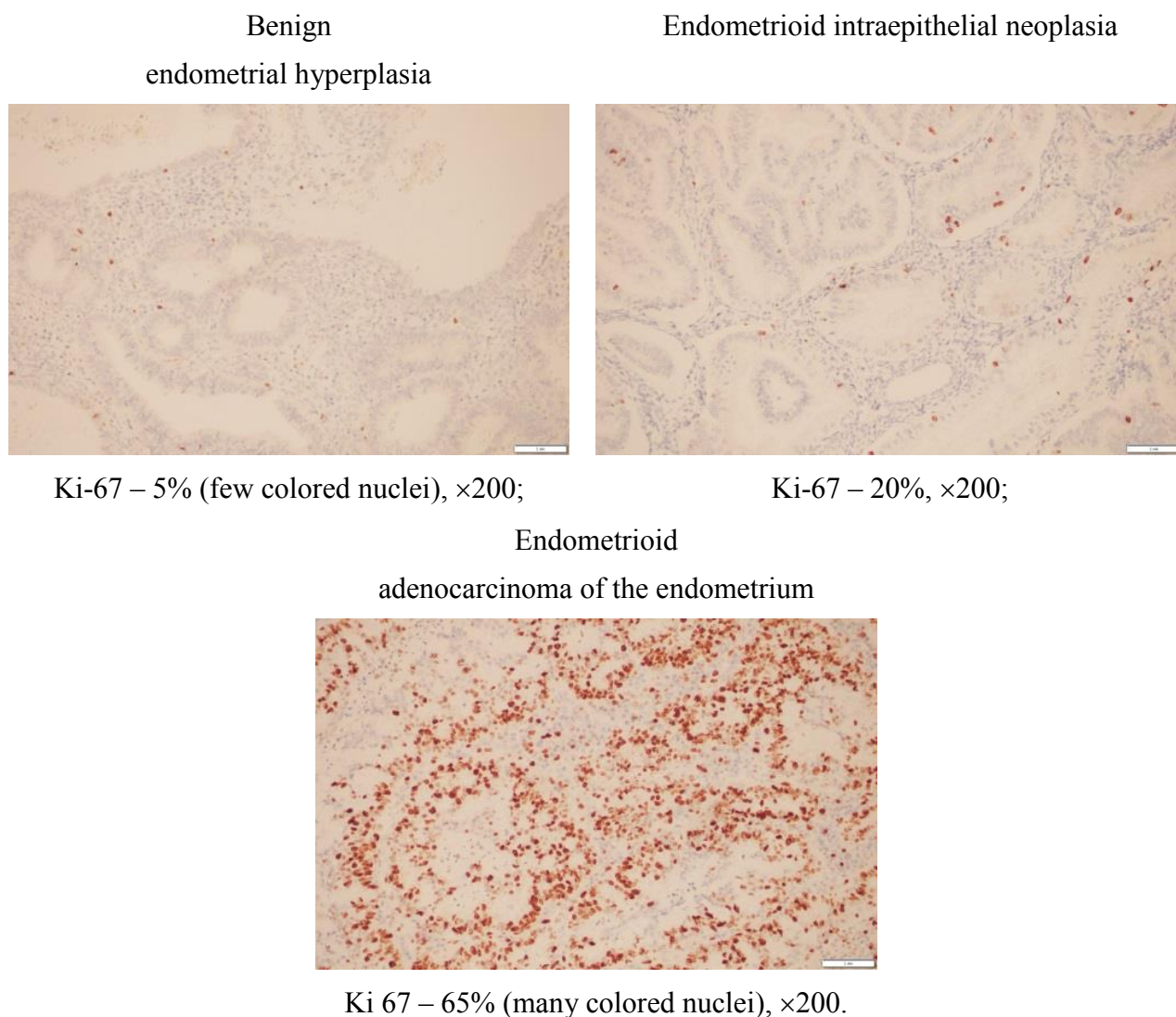


Figure 24 – Examples of IHC staining Ki-67

A pairwise comparison of the data revealed differences in the Ki 67 index in the EH groups without atypia and EC and the EIN and EC groups, with a higher proliferation index value in the EC group than in the EH group without atypia and EIN.

A tendency to increase the Ki 67 index with an increase in the degree of cellular atypia was revealed: the lowest values were in women with EH and

amounted to $13\pm 9\%$, in the EIN group the average value of the proliferation index was $18\pm 13\%$, in the EC group – $39\pm 23\%$ (Figure 24).

Calculate the diagnostic threshold value of Ki-67 is not it succeeded, there is only a trend. At the same time, the data spread was quite high and the values of Ki-67 in particular cases could not correspond to the revealed trend (Figures 25, 26).

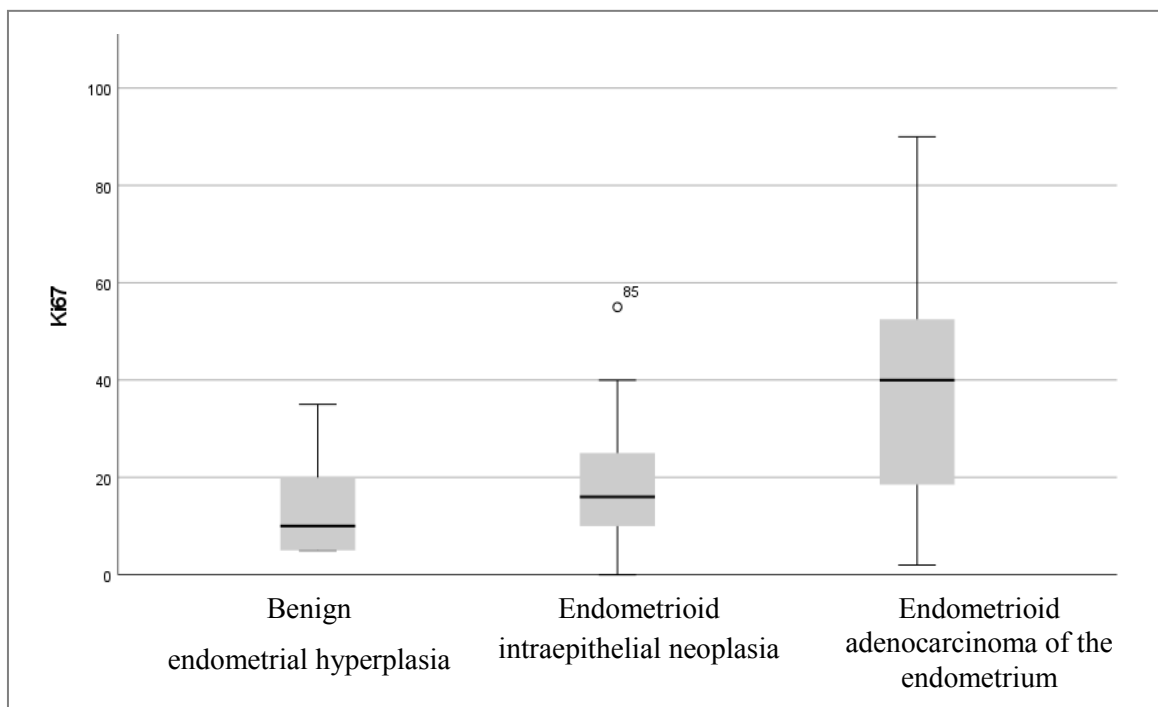


Figure 25 – The value of the Ki-67 proliferation index in the endometrium in various endometrial diseases

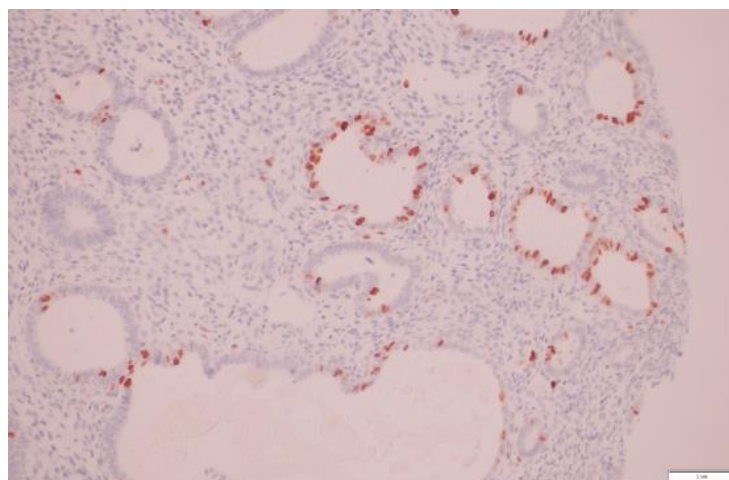


Figure 26 – An example of a high Ki-67 index in a preparation of benign endometrial hyperplasia (Ki-67 – 25%), $\times 200$

Expression of estrogen receptors in the EH, EIN and EC groups

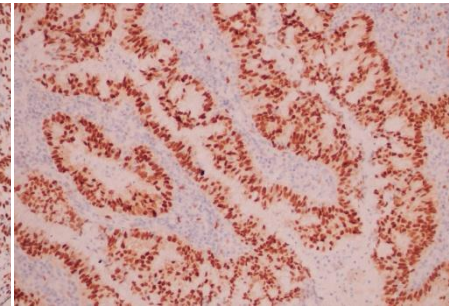
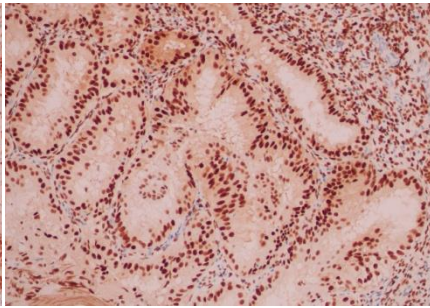
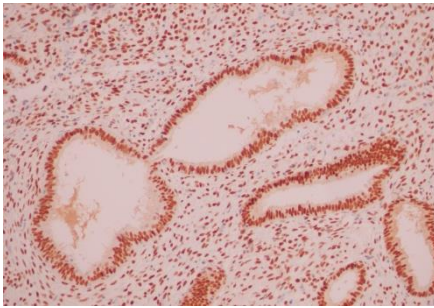
(Figure 27)

There were significant differences in the number of estrogen receptors in the groups. In the EH group the ER value was $95\pm 9\%$, in the EIN group – $93\pm 7\%$, in the EC group – $75\pm 30\%$. The highest rates were in the EH group, the lowest in the EC (Figure 28).

Benign endometrial hyperplasia

Endometrioid intraepithelial
neoplasia

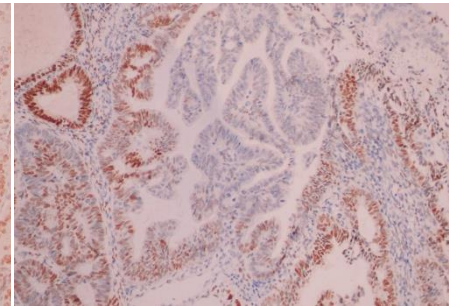
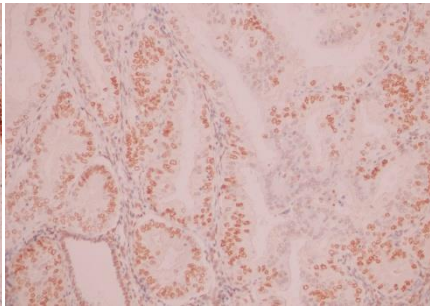
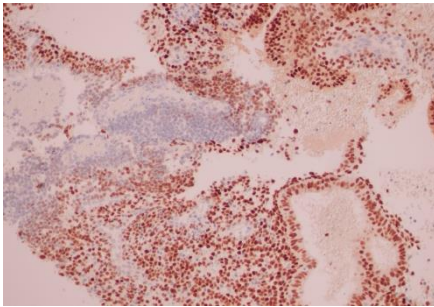
Endometrioid
adenocarcinoma of the
endometrium



high expression of estrogen
receptors (Er 98%), $\times 200$;

high expression of estrogen
receptors (Er 98%), $\times 200$;

high expression of estrogen
receptors (Er 98%), $\times 200$;



low expression of estrogen
receptors (Er 50%), $\times 200$;

low expression of estrogen
receptors (Er 70%), $\times 200$;

low expression of estrogen
receptors (Er 50%), $\times 200$.

Figure 27 – Examples of IHC staining of estrogen receptors

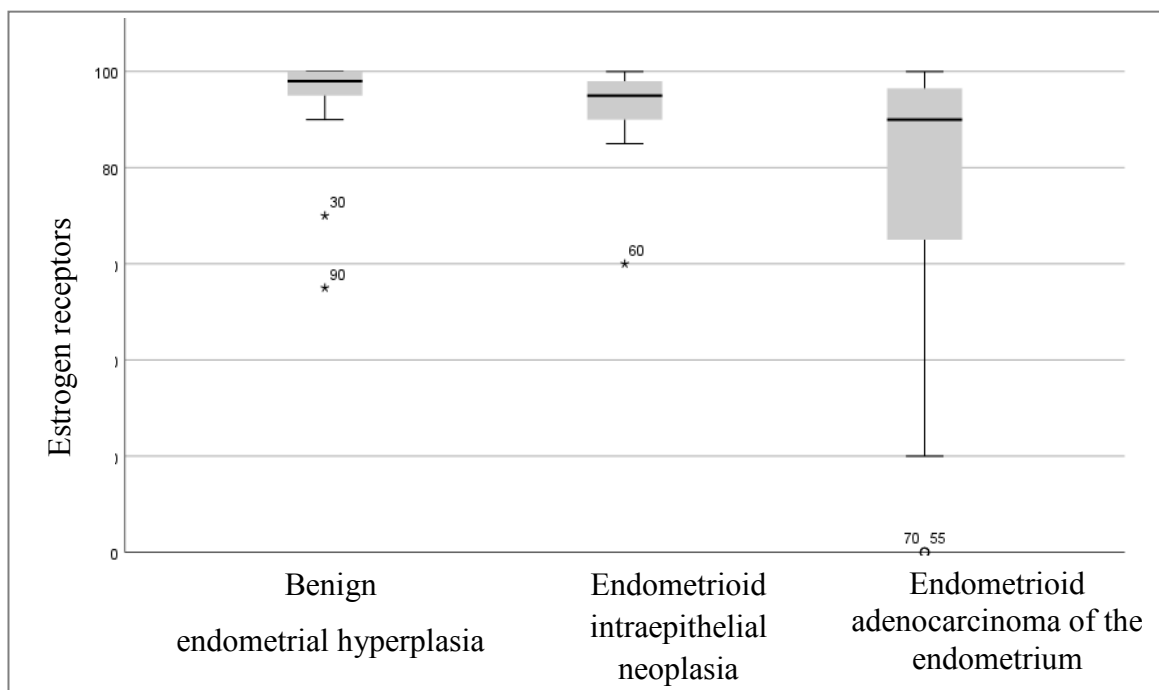


Figure 28 – Expression of estrogen receptors in the endometrium with varying degrees of cells atypia

A pairwise comparison of the groups revealed differences in the EC and EH groups without atypia: the EC group has fewer receptors compared to the EH group without atypia.

It was not possible to set the diagnostic threshold value of estrogen receptors, there is only a tendency to decrease the number of estrogen receptors in the EH-EIN-EC chain. That complicates the use of this indicator for diagnostic purposes.

Expression of progesterone receptors in the EH, EIN and EC groups (Figure 29)

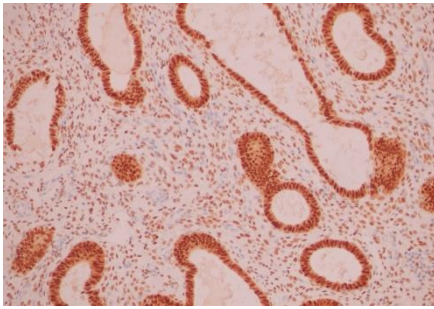
The number of progesterone receptors significantly differed in the groups, decreasing in the EH-EIN-EC chain.

In the EH group the average value of PR was $89 \pm 24\%$, in the cases of EIN the average amount of PR was $73 \pm 25\%$, in the group of EC the indicator was the lowest – $54 \pm 31\%$ (Figure 30).

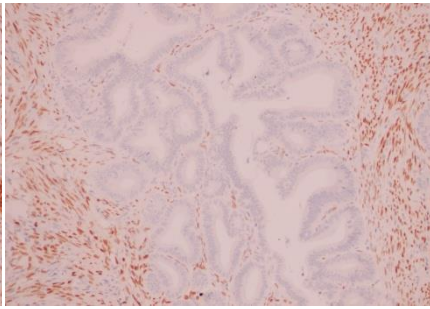
Benign endometrial hyperplasia

Endometrioid intraepithelial neoplasia

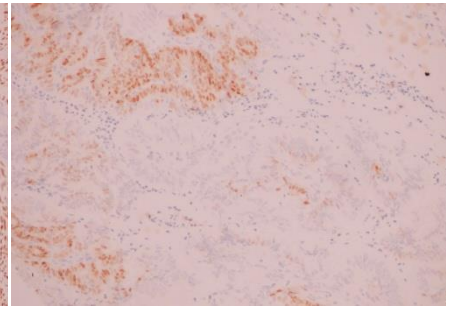
Endometrioid adenocarcinoma of the endometrium



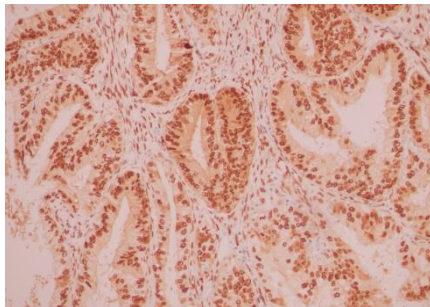
high expression of progesterone receptors (Pr 98%), ×200;



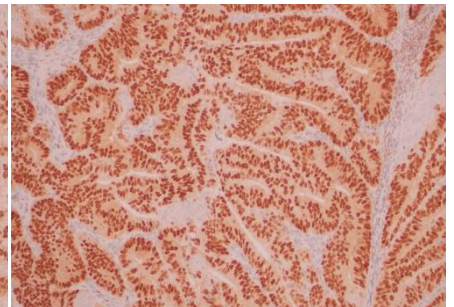
lack of expression of progesterone receptors, ×200;



low expression of progesterone receptors (Pr 30%), ×200;



high expression of receptors to progesterone (Pr 95%), ×200;



high expression of receptors to progesterone (Pr 98%), ×200.

Figure 29 – Examples of IHC staining of progesterone receptors

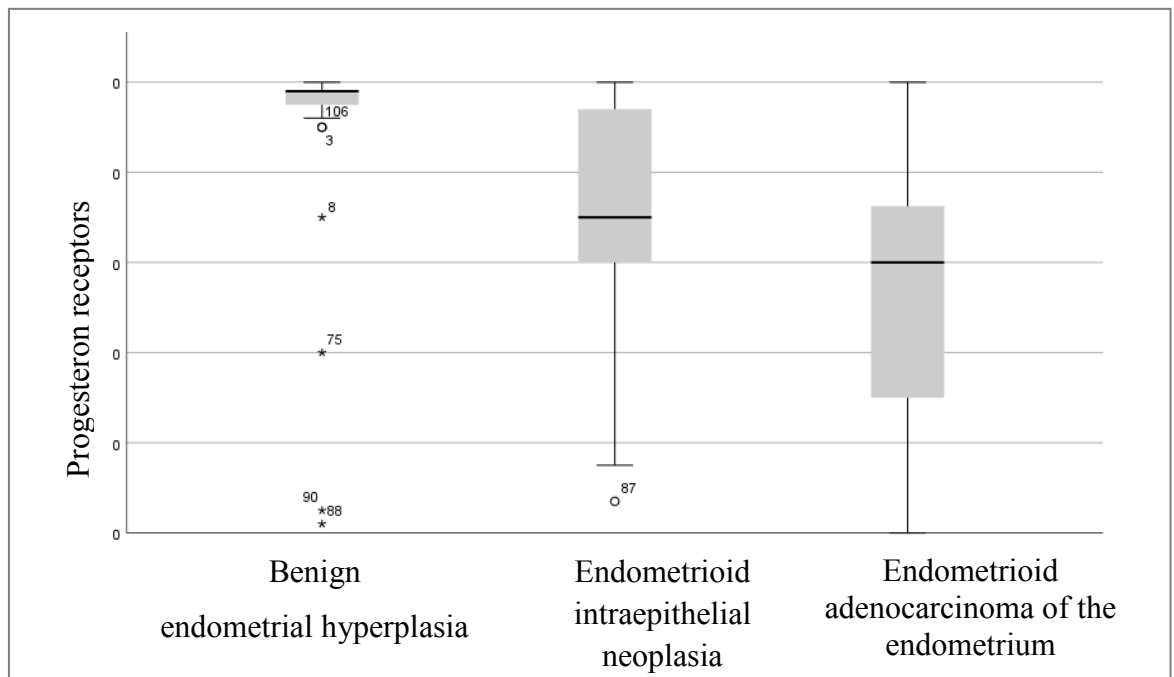


Figure 30 – Expression of progesterone receptors in the endometrium

The pairwise comparison revealed differences in the groups: EC and EH, EIN and EH – the number of receptors was greater in cases of EH than in EC and in cases of EH than in EIN.

At the same time, the diagnostic threshold value of Pr could not be identified. There is also a large spread of data from the average indicator, which indicates that value of PR is not informative enough in the diagnosis of endometrial diseases.

Expression of β -catenin in the EH, EIN and EC groups

(Figure 31)

Significant differences were revealed between the groups in beta-catenin expression according to the KW test ($p=0.014$), the nuclear reaction to β -catenin was higher in the EC group. A pairwise comparison showed differences in beta-catenin values in the EC and EH groups, with a higher indicator in the EC group.

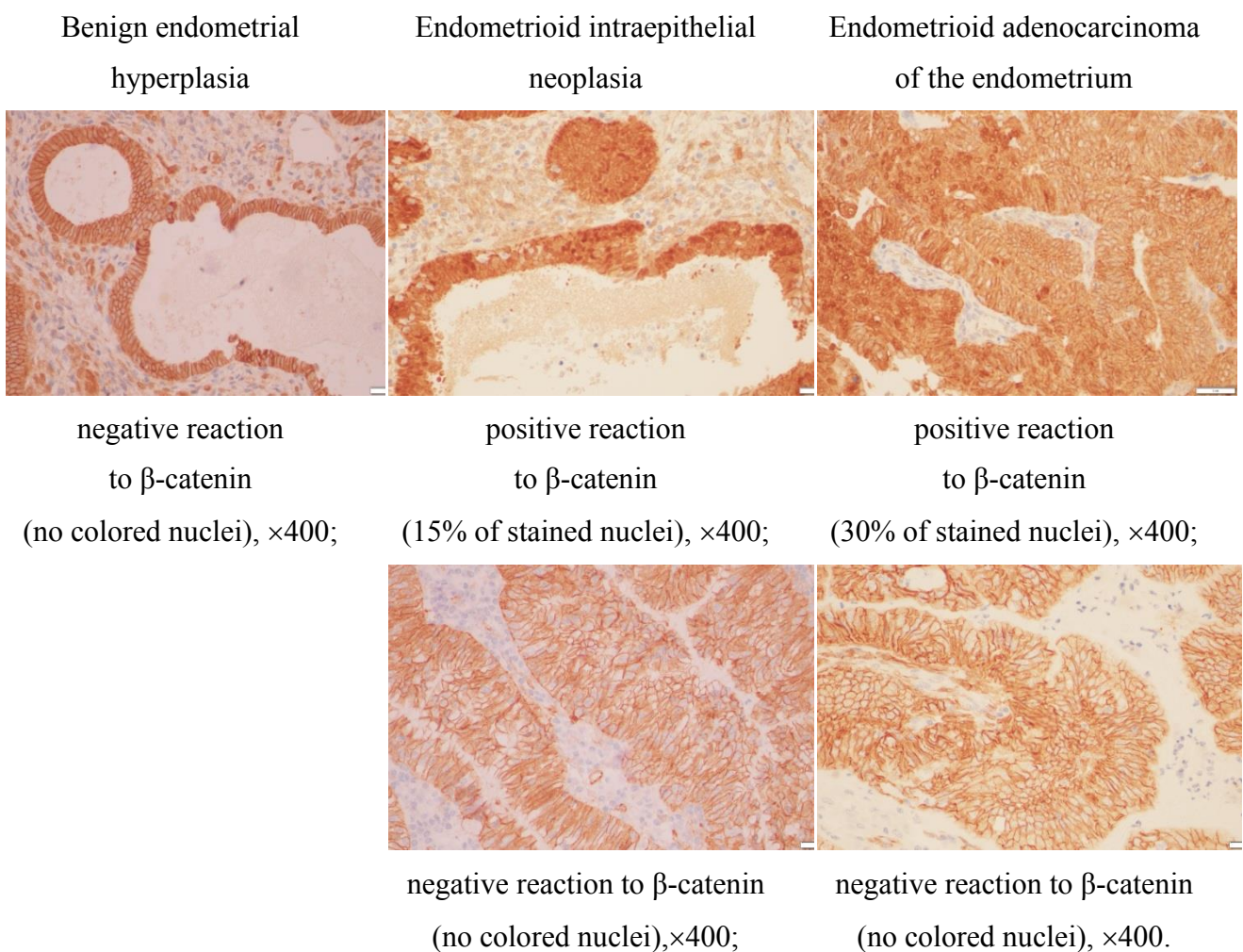


Figure 31 – Beta-catenin expression in endometrial cells

The average value of beta-catenin in the EH group was $2\pm 7\%$, the nuclear expression of beta-catenin in the EIN samples was $10\pm 22\%$, in EC group this indicator was higher $13\pm 25\%$ (Figure 32).

However, the scatter of the data turned out to be large, significant deviations from the mean value were revealed, which did not allow calculating the threshold value of beta-catenin (Figure 32). In this case, we can speak about tendency of increasing the nuclear expression of beta-catenin from hyperplastic to atypical endometrial cells.

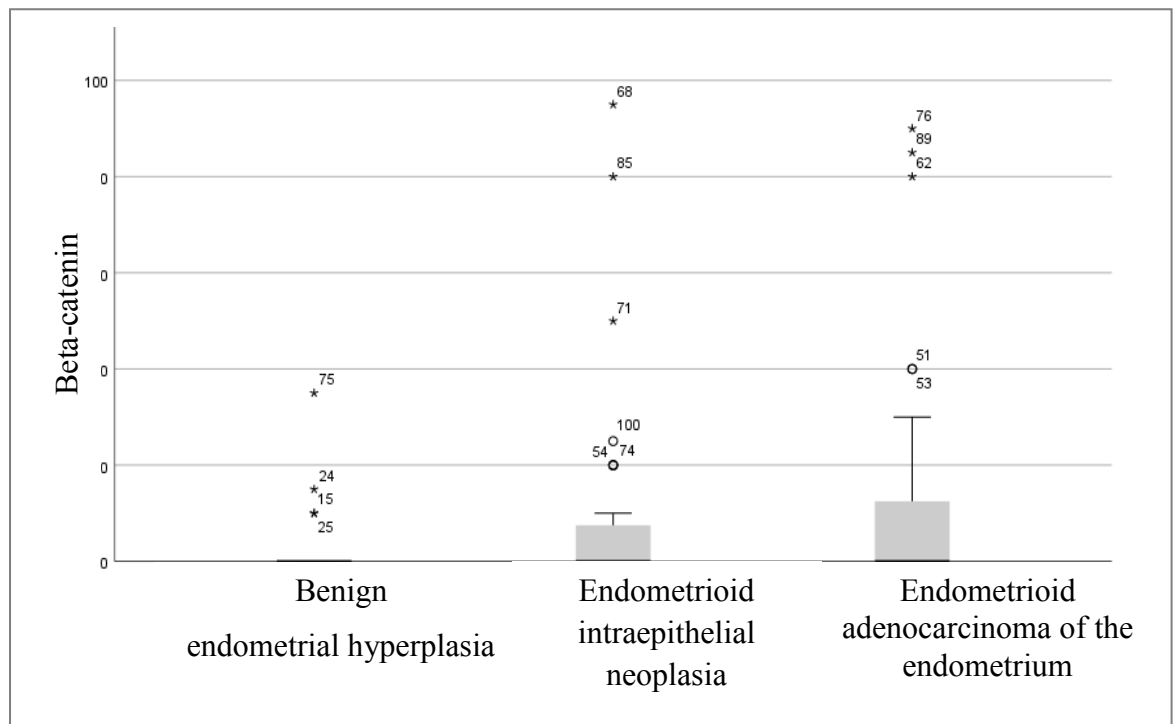


Figure 32 – Expression of beta-catenin in the groups of EH, EIN and EC

Evaluation of PDL 1 expression

(Figure 33)

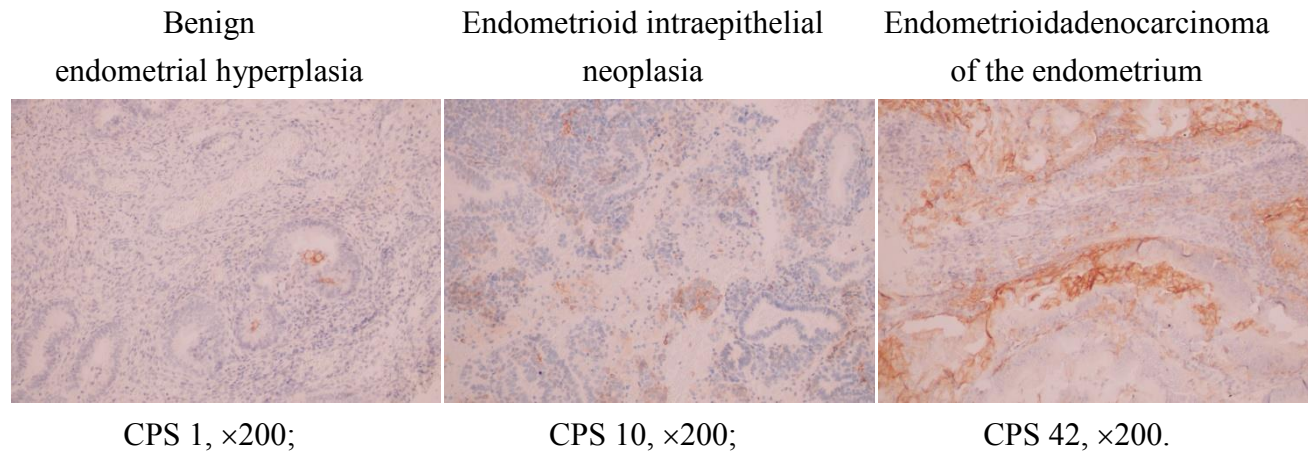


Figure 33 – Representative IHC examples of PDL 1 staining

It was possible to evaluate the expression of PDL 1 in 86 patients (table 8).

Table 8 – Comparative evaluation of PDL 1 expression

ICH marker	Indicator	Benign endometrial hyperplasia (34 cases)	Endometrioid intraepithelial neoplasia (21 cases)	Endometrioid adenocarcinoma of the endometrium (31 cases)
PDL 1 in endometrial cells	Average value	0	0	4
	Standard deviation	1	0	7
	Quartile 25	0	0	0
	Quartile 75	0	0	6
PDL 1 in immune cells	Average value	0	2	9
	Standard deviation	1	4	8
	Quartile 25	0	0	4
	Quartile 75	0	1	15
CPS (Combined positive score)	Average value	1	2	14
	Standard deviation	0	4	11
	Quartile 25	0	0	5
	Quartile 75	1	1	18

PDL expression was assessed in 34 out of 35 cases of benign EH: the average PDL value in endometrial gland cells, immune cells was $0\pm 1\%$, the CPS value was 0 ± 1 .

In total, 21 cases out of 36 were evaluated in preparations of atypical endometrial hyperplasia: the average PDL value in atypical cells was 0, in immune cells – $2\pm 4\%$, the CPS value was 2 ± 4 .

PDL expression was assessed in 31 out of 35 cases of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium: the average value of PDL in tumor cells was $4\pm 7\%$, in immune cells – $9\pm 8\%$, the CPS value was 14 ± 11 .

Comparative evaluation of PDL expression in the three study groups:

There were no differences in the expression of PDL 1 in the groups of patients with EH without atypia and EIN. Significantly different values of PDL 1 in tumor cells, immune cells and CPS in the groups of EIN and EC, and groups of EH without atypia and EC. The highest PDL values were found in the EC group (Figure 34).

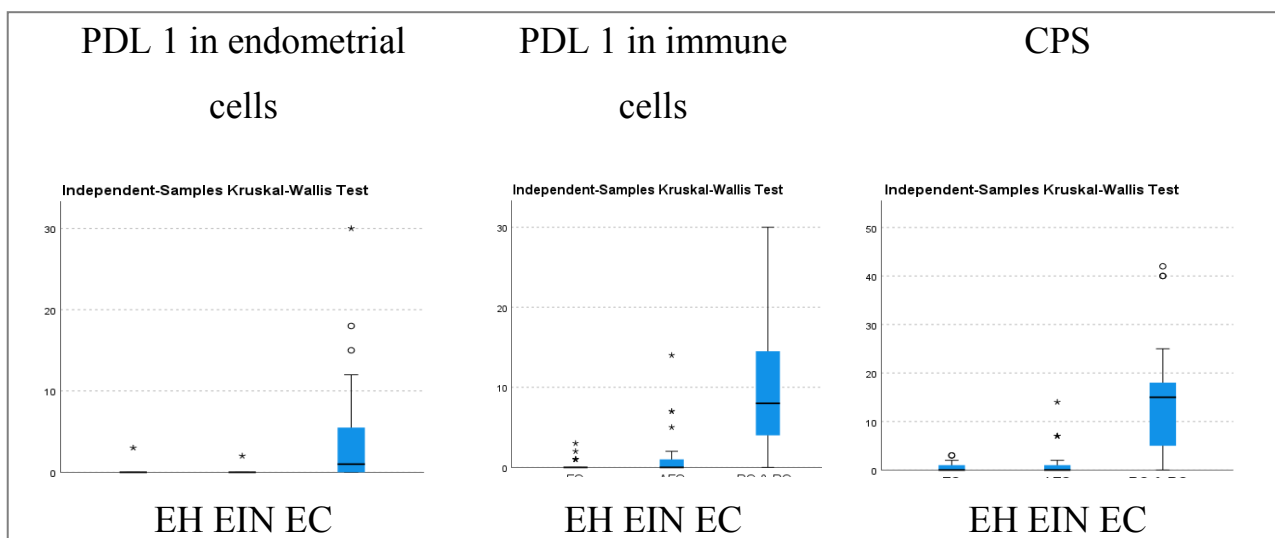


Figure 34 – Expression of PDL 1 with CPS assessment in endometrial cells in endometrial hyperplastic processes and EC

Based on the obtained data ROC curves were constructed, which revealed the threshold values of CPS for predicting the diagnosis:

If the CPS value is equal to or greater than 2.5 with a sensitivity of 84% and a specificity of 6%, it is possible to state the diagnosis of endometrial adenocarcinoma in the differential diagnosis from benign EH.

With a CPS value equal to or greater than 3.5 with a sensitivity of 84% and a specificity of 19%, the diagnosis would be endometrial adenocarcinoma rather than EIN.

Building Classification Regressions

According to those parameters that significantly differed in the studied groups, binomial logistic regressions were constructed in order to derive a diagnostic panel to determine the nature of the pathology of the endometrium in each particular patient.

Binomial logistic regressions were built using the Forward Stepwise (Conditional) method to evaluate the impact of Ki-67, beta-catenin, Arid1a, PTEN, Pax2, PMS, MLH1 on the final diagnosis (Table 9).

Table 9 – Factors predicting the diagnoses of EH, EIN and EC (logistic models) [121]

Outcome	Significance of the logistic model (according to the table Omnibus Tests of Model Coefficients)	Percentage of cases explained by the model (according to the Model Summary/Nagelkerke R Square table)	Classification power of regression	Model sensitivity	Model Specificity	Percentage Positive Predictive Value	Percent negative predictive value	Basis of the classification model
EH – EIN	2(70,2) =66,968, p<0,001	82	92,9%	94%	92%	91	94	PTEN(1), Exp(B)=39,40, p=0,006; Pax2(1), Exp(B)=89,79, p<0,001;
EH – EC	2(71,2) =58,513, p<0,001	75	88,3%	86%	94%	94	86	Ki-67, Exp(B)=1,105, p=0,001; PTEN(1), Exp(B)=81,46, p<0,001;
EIN – EC	2(71,2) =19,192, p<0.001	32	70,4%	68%	74%	77	64	Ki-67, Exp(B)=1,062, p<0,001;

The MSH6 and MSH2 genes were excluded from the construction of all logistic models due to the small amount of loss of their expression. Steroid receptors were also excluded from the analysis due to the fact that their changes are more likely to correlate with age than with histological findings.

For PDL 1 separate classification models were built for 86 cases (Table 10).

Table 10 – Factors predicting the diagnoses of EH, EIN and EC (logistic models)

Outcome	Significance of the logistic model (according to the table Omnibus Tests of Model Coefficients)	Percentage of cases explained by the model (according to the Model Summary/Nagelkerke R Square table)	Classification power of regression	Model sensitivity	Model Specificity	Percentage Positive Predictive Value	Percent negative predictive value	Basis of the classification model
EH – EIN	None of the variables included in the equation were significant in predicting the outcome.							
EIN – EC	2(71,1) =25,157, p<0,001	52	82,7%	77%	87%	81	84	CPS Exp(B)=1,290, p=0,001
EH – EC	2(65,1) =53,669, p<0,001	75	89,2%	86%	93%	94	84	CPS Exp(B)=2,026, p=0,001

Chapter 4

DISSCUTION

The presented study is devoted to the topical issue of malignancy of endometrial hyperplastic processes. The approach to understanding endometrial carcinogenesis and the division of endometrial hyperplastic changes into benign and precancerous conditions has changed. In connection with the emergence of new data on genetic changes in endometrial cancer, 4 molecular subtypes of EC have been identified. These changes require reflection, analysis and output in clinical application. In this paper, an attempt is made to translate scientific data into practical recommendations.

The first part of the study, which included 818 women, showed that in patients with suspected endometrial pathology, benign EH occurs in 30% of cases, EIN is found infrequently – in 4% of cases. Larger modern studies on the assessment of the prevalence of HPE according to the binary classification of HPE are not presented in the Russian literature. We consider that this data is a contribution to the assessment of the prevalence of HPE in the Russian Federation.

The purpose of the second part of the work was to highlight the clinical, morphological and IHC features of endometrial malignancy. Equal groups of patients with different endometrial diseases were analyzed: endometrial hyperplasia without atypia, EIN and EC – which are benign, precancerous and malignant diseases of the endometrium.

Our study identified statistically significant clinical factors associated with the risk of developing endometrial cancer. First of all, this is age: the older the patient, the more likely she will be diagnosed with endometrial adenocarcinoma, rather than its benign changes. Precancerous endometrial disease also develops at an older age than EH. The obtained data confirmed that the threshold age at which EC is more often detected is 55 years. It was also found that in women in the postmenopausal period, more often than in other periods of reproductive aging, EIN and EC are

observed, rather than benign endometrial hyperplasia. Thus, women over the age of 55 and/or postmenopausal who are suspected of having endometrial pathology should be considered, due to their higher risk of having signs of atypia.

A comparative analysis of patients showed that the clinical manifestations of endometrial diseases – abnormal uterine bleeding – are characteristic of both patients with benign EH and precancerous forms of EH and EC. AUB occurs in the majority of patients with these diseases, not significantly differing between groups. And although the pathognomonic sign of postmenopausal EC is vaginal spotting, this fact does not exclude the presence of any type of EH in the patient, and not RE. Based on the above data, it can be said that the presence or absence of complaints of AUB cannot be a criterion for the differential diagnosis of hyperplastic from neoplastic endometrial diseases.

Analysis of the data revealed that somatically aggravated patients who suffer from hypertension and/or type 2 diabetes are more likely to develop EC than EH. However, no differences were found when compared with the EIN group.

Other risk factors (obesity and/or overweight, infertility, lack of pregnancy and childbirth, early menarche, late menopause) did not differ significantly in the study groups. This means that they cannot be used as clinical markers of the risk of malignancy in patients with suspected endometrial pathology.

Thus, based on the analysis of clinical data, patients older than 55 years and/or postmenopausal with suspected endometrial disease should be examined more carefully due to the high risk of having EIN or EC. Patients with suspected endometrial hyperplasia with the presence of diabetes and / or hypertension require the exclusion of the development of a cancerous process.

In the next part of the work, histological preparations were revised with their morphological assessment according to the 2014 WHO criteria. At the same time, in 18 cases (17%), a discrepancy in diagnoses was revealed during the revision. The diagnosis of EIN turned out to be the most difficult to make: almost a third of patients with AEH had discrepancies in the diagnosis. It emphasizes the subjectivity and

complexity of morphological criteria, especially for the diagnosis of EIN. That is why it is possible to use additional IHC markers to improve diagnostics.

To date, there are no clear criteria for the use of IHC testing for suspected HPE (Table 11).

Table 11 – Indications for IHC study in endometrial hyperplasia and endometrial adenocarcinoma according to modern Russian and international recommendations

Recommendations and guidelines	Endometrial hyperplasia without atypia	Endometrioid intraepithelial neoplasia	Endometrial cancer
WHO 2020	No recommendations for the use of IHC	As desirable diagnostic criteria: PTEN, PAX2, MSI	Recommended to determine molecular subtypes
ESMO-ESTRO-ESGO consensus 2016 (renew 2017)	In difficult cases of differential diagnosis of benign changes from EIN, IHC recommended the determination of PTEN, PAX2, MLH1, ARID1a		—
ESGO/ESTRO/ESP guidelines 2020	—	—	To identify patients with Lynch syndrome, an IHC assessment of MSI is indicated in all cases of endometrial carcinoma. The use of IHC (p53, MSH6 and PMS2) is encouraged to establish the molecular subtype of an endometrial tumor.
Ministry of Health of the Russian Federation Clinical recommendations: Endometrial hyperplasia 2021	No recommendations for IHC assessment		

Table 11 continued

Recommendations and guidelines	Endometrial hyperplasia without atypia	Endometrioid intraepithelial neoplasia	Endometrial cancer
Ministry of Health of the Russian Federation Clinical recommendations: Cancer of the body of the uterus 2021	—	—	If morphological verification of the diagnosis is necessary, an IHC study can be used (without specifying specific markers)
Practical recommendations Russco 2021	—	—	IHC assessment of MSI is appropriate in the progression of EC to assess the effectiveness of immunotherapy. The WHO 2020 morphological classification is also given, indicating molecular subtypes, but there are no recommendations for IHC research

The results of our study prove the diagnostic value of IHC markers and define specific indications for their use. The prognostic significance of these markers was also evaluated.

Genes, the loss of expression of which is significantly associated with histological parameters, can be divided into those that allow differentiating between EIN and EH (Pax2, PTEN), and those that are more accurate in the differential diagnosis of EIN and EC (Arid1a). MSI-H has shown great performance in differential search between EIN and EC.

The sensitivity and specificity of determining the loss of PAX2 for the differential diagnosis of EIN from EH is higher than other indicators, including higher PTEN, and is 89% and 94%, respectively, and when EIN and EC are separated, it has

no diagnostic value. The IHC determination of PTEN has a sensitivity of 67%, and a specificity of 97% in relation to the differential diagnosis of EIN from EH without atypia; in relation to EIN and EC, this marker has no significant diagnostic value. It is difficult to talk about the prognostic role of this marker, since two identified cases of loss of PAX 2 expression in patients with EH without atypia and a 5-year follow-up of them did not reveal the development of EIN or EC. But perhaps more time is required for the development of atypical changes and more observations. Also, it was not possible to identify the prognostic significance of the loss of PAX2 expression in patients with EIN, since hysterectomy was performed in 94% of patients. Two PAX2-negative patients were diagnosed with IUD-producing Levonorgestrel in 2019, and no progression of the disease has been detected to date.

When constructing logistic regressions, it turned out that the joint determination of PAX and PTEN has a high significance with a regression power of 93%, with a high sensitivity of 94% and a high specificity of 92% in relation to the differential diagnosis of precancerous condition from benign EH. From a practical point of view, due to the convenience of IHC assessment of PAX2 and its high accuracy, its use can be considered as a predictor of precancerous changes in the endometrium. Evaluation of the prognostic significance of the malignant transformation of benign EH is difficult. Only one patient with EH was PTEN negative, however, during the 5-year follow-up, the development of precancerous and malignant pathology of the endometrium was not detected in her. All patients with EIN with a negative reaction to PTEN according to IHC underwent surgical treatment. No predictive value could be established.

As for ARID1a, its loss is more typical for EC. Loss of expression of this gene was not found in any of the cases of EH and EIN, therefore, from our point of view, it cannot differentiate these conditions. But it was revealed in 33% of cases of endometrial cancer. Thus, if a loss of ARID1a expression is detected, with a high degree of probability, we can exclude EH without atypia and EIN, and we should look for adenocarcinoma foci, however, without finding this fact, we will not be able to reliably draw any conclusion.

Microsatellite instability is a common occurrence in endometrial cancer. Loss of gene expression of the unpaired DNA nucleotide repair system in our work was found in 36% of all studied cases of endometrial cancer, and in most cases due to the loss of MLH1 and PMS2, which does not contradict the literature data. Only in one observation was the expression of MSH2 and MSH6 absent. It was interesting to determine whether the phenomenon of microsatellite instability occurs in EIN, since there are no such studies in the literature. In the atypical form of EH the loss of the MLH1 and PMS2 genes was detected in one case, which accounted for 3% of all observations. In endometrial hyperplasia without atypia no cases of MSI have been identified. Thus, the occurrence of MSI and the loss of MLHI expression in particular cannot be a predictor of endometrial precancerous disease. When MSI is detected in the preparation of endometrial hyperplasia, there is a high probability of the presence of coexisting endometrial cancer. In this case, it is not necessary to determine all the genes of this group; it is sufficient to determine one of the pairwise drop-out gene MLH1 or PMS2.

One of the promising prognostic markers of endometrial malignancy is beta-catenin, or rather the presence of its nuclear expression. In our study, its predictive value could not be confirmed. Since in patients with benign EH and even high nuclear expression of beta-catenin (5-35%), no malignant transformation was detected after 5 years from the moment of diagnosis. Our data revealed a trend towards increased nuclear expression of beta-catenin with increasing degree of cellular atypia. However, significant differences were found only in the EH and EC groups. A higher expression of this marker is characteristic of EC, and not of benign EH.

The expression of receptors for steroid hormones was different in all the studied groups, decreasing in the EH-EIN-EC chain. After analyzing these results, we came to the conclusion that this trend is associated with an increase in the age of patients and a one-dimensional decrease in the number of receptors for sex hormones due to the physiological extinction of the reproductive function. The expediency of determining steroid status as a diagnostic or prognostic marker of endometrial malignancy remains questionable.

Our data confirm the trend of increasing Ki-67 index from benign EH to EIN and endometrial cancer. Ki-67 was significantly higher in the endometrial adenocarcinoma group compared to the EIN and endometrial hyperplasia groups without atypia. However, there were cases that contradicted this trend: in cases of benign EH, a high Ki 67 index (maximum 35%) was revealed, and in cases of adenocarcinoma, a low Ki 67 (minimum 2%). The diagnostic threshold value of Ki 67 could not be identified. The prognostic value for EH and EIN remained unconfirmed, since no malignancy of endometrial hyperplasia was detected even in patients with a high Ki-67 index.

Thus, it is possible to single out the most typical molecular events for each of the studied groups (Table 12).

Table 12 – Molecular events characteristic of EH, EIN, and EC

Indicator	Benign endometrial hyperplasia	Endometrioid intraepithelial neoplasia	Endometrioid endometrial adenocarcinoma
Ki-67	Lowest	Higher	The highest
Nuclear expression of beta catenin	Rare	Less intense	More intense
Er	The highest rate	Lower	The lowest
Pr	The highest rate	Lower	The lowest
Loss expression of PAX2	Occurs extremely rarely	Occurs with the same frequency	
Loss expression of PTEN	Occurs extremely rarely	Occurs with the same frequency	
Loss expression of ARID1a	Not found	Not found	Occurs in about a third of cases
MSI	Not found	Occurs extremely rarely	Occurs in about a third of cases

SUMMARY

This dissertation research has both theoretical and practical significance.

Thanks to the obtained data, for the first time it was possible to identify the most significant clinical and molecular differences between benign, precancerous and malignant endometrial pathologies.

The obtained results made it possible to clarify the sequence of molecular changes in endometrial carcinogenesis and to reveal that the earliest event in malignant transformation is the loss of expression of PAX 2 and PTEN. All other genetic changes more possible occur at later stages of the disease development.

It was proved that endometrioid intraepithelial neoplasia has a similar molecular profile to endometrioid endometrial cancer and is characterized by loss of PAX2 and PTEN expression. Benign endometrial hyperplasia is characterized by an extremely low frequency of molecular changes.

This study determined the diagnostic role and indications for the use of immunohistochemical markers in the diagnosis of benign, precancerous and malignant endometrial diseases. The prognostic role of immunohistochemical markers in endometrial malignancy has not been established.

To continue studying the mechanisms of malignancy and search for its predictors, a larger sample of patients, a longer follow-up period and a wider panel of molecular markers are needed.

CONCLUSION

1. For the first time it was revealed that in a group of 818 women with clinical and ultrasound signs of endometrial hyperplastic processes, benign endometrial hyperplasia is detected in 30% of cases, endometrial atypical hyperplasia – in 4% of cases, and endometrial cancer – in 10% of cases.
2. It has been established that the most significant clinical risk factors for the development of atypical endometrial hyperplasia and endometrial cancer are the age and aging period of the female reproductive system. In patients older than 55 years of age and /or in the postmenopausal period, precancerous and endometrial cancer are more often detected ($p < 0.001$).
3. The greatest risk of developing endometrial cancer has been proven in women suffering from type 2 diabetes mellitus ($p = 0.001$) and /or hypertension ($p = 0.017$).
4. The molecular features of hyperplastic processes and endometrial cancer were determined for the first time. Benign endometrial hyperplasia has a has an intact system for repairing unpaired DNA nucleotides, high expression of steroid hormone receptors, low Ki-67 proliferation index and minimal nuclear expression of beta-catenin. Endometrioid intraepithelial neoplasia and endometrioid endometrial adenocarcinoma have a similar molecular profile and are characterized by loss of PAX2 and PTEN expression. The loss of ARID1a and MSI is more common in endometrial adenocarcinoma and is not characteristic of the precancerous process.
5. It has been proved that immunohistochemical evaluation of PAX2 expression is a reliable diagnostic criterion for differential diagnosis of endometrioid intraepithelial neoplasia and benign endometrial hyperplasia (sensitivity 89%, specificity 94%), and its loss can be considered as an initial sign of malignant transformation of endometrial hyperplasia.

6. Comprehensive assessment of clinical and morphological data and expression of the panel of markers PAX2, PTEN, BAF250a (ARID1A), β -catenin, Ki-67 index, PMS2 and MLH1 increases the reliability of the study for suspected malignancy of endometrial hyperplasia.

PRACTICAL RECOMMENDATIONS

Analyzing all the obtained clinical, morphological and immunohistochemical data, it became possible to identify indications for additional IHC studies in patients with suspected HPE and EC.

1. For additional differential diagnosis of benign endometrial hyperplasia and endometrioid intraepithelial neoplasia, immunohistochemical determination of PAX2 and PTEN is recommended.
2. PAX2 and PTEN should be determined in patients older than 55 years and/or in the postmenopausal period with a morphologically confirmed diagnosis of endometrial hyperplasia due to the high probability of their having endometrioid intraepithelial neoplasia.
3. In patients with significant risk factors for endometrial cancer (age over 55 years, postmenopausal period, presence of hypertension, presence of type 2 diabetes mellitus) with a morphologically verified diagnosis of endometrioid intraepithelial neoplasia, the determination of MMR/MSI, ARID1a will exclude or identify coexisting endometrial cancer.

LIST OF ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

AEH	– atypical endometrial hyperplasia
ARID1A	– tumor suppressor gene involved in chromatin remodeling
AUB	– anomalous uterine bleeding
β -catenin	– protein, gene product CTNNB1
BAF250a	– protein, gene product ARID1A
BRAF	– protein that regulates cell proliferation
CTNNB	– gene-regulator of Wnt/ β -catenin intracellular signaling pathway
DNA	– deoxyribonucleic acid
EH	– endometrial hyperplasia
EIN	– endometrioid intraepithelial neoplasia
ER	– estrogen receptor
FIGO	– International Federation of Gynecology and Obstetrics
HPE	– hyperplastic processes of the endometrium
ICH	– immunohistochemical study
Ki-67	– antigen, marker of cell proliferation
KRAS	– protein that regulates cell proliferation and resistance to apoptosis
MMR	– repair of unpaired DNA nucleotides
MSH6	– DNA mismatch repair gene protein
MSI	– microsatellite instability
OR	– odd ratio
p53	– transcription factor that regulates the cell cycle
PAX2	– paired-domain transcription factor protein
PIK3CA	– phosphoinositide-3-kinase
PMS2	– DNA mismatch repair endonuclease

- PR – progesterone receptors
- PTEN – phosphatase with dual substrate specificity
- WHO – World Health Organization

BIBLIOGRAPHY

1. A national cancerinstitute workshop on microsatellite instability for cancer detection and familialpredisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer / C.R. Boland, S.N. Thibodeau, S.R. Hamilton [et al.] // *Cancer Res.* – 1998. – Vol. 58. – P. 5248-5257.
2. A role for MLH3 in hereditary nonpolyposis colorectal cancer / Y. Wu, M.J.W. Berends, R.H. Sijmons [et al.] // *Nat. Genet.* – 2001. – Vol. 29. – P. 137-138.
3. Aberrant activation of hedgehog signaling pathway contributes to endometrial carcinogenesis through beta-catenin / X. Liao, M.K.Y. Siu, C.W.H. Au [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2009. – Vol. 22. – P. 839-847.
4. Abnormalities of E- and P-cadherin and catenin (beta-, gamma-catenin, and p120^{ctn}) expression in endometrial cancer and endometrial atypical hyperplasia / G. Moreno-Bueno, D. Hardisson, D. Sarrió [et al.] // *J. Pathol.* – 2003. – Vol. 199. – P. 471-478.
5. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers / G.L. Mutter, M.C. Lin, J.T. Fitzgerald [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2000. – Vol. 92, № 11. – P. 924-930. – doi: 10.1093/jnci/92.11.924.
6. Analysis of PTEN, estrogen receptor α and progesterone receptor expression in endometrial hyperplasia using tissue microarray / B. Pieczyńska, S. Wojtylak, A. Zawrocki, W. Biernat // *Pol. J. Pathol.* – 2011. – Vol. 62. – P. 133-138.
7. Antonsen, S.L. Patients with atypical hyperplasia of the endometrium should be treated in oncological centers / S.L. Antonsen, L. Ulrich, C. Høgdall // *Gynecol. Oncol.* – 2012. – Vol. 125. – P. 124-128.
8. ARID1A gene mutation in ovarian and endometrial cancers (Review) / T. Takeda, K. Banno, R. Okawa [et al.] // *Oncol. Rep.* – 2016. – Vol. 35, № 2. – P. 607-613.

9. Atypical endometrial hyperplasia - diagnostic difficulties. Are there any? (Clinical case) / M.S. Sobivchak, A.E. Protasova, G.A. Raskin [et al.] // *Medical Alphabet*. – 2020. – № 26. – P. 46-52. – doi: 10.33667/2078-5631-2020-26-46-52.
10. β -Catenin signaling regulates Foxa2 expression during endometrial hyperplasia formation / M. Villacorte, K. Suzuki, A. Hirasawa [et al.] // *Oncogene*. – 2012. – Vol. 32. – P. 3477-3482.
11. Baak, J.P. EIN and WHO94 / J.P. Baak, G.L. Mutter // *J. Clin. Pathol.* – 2005. – Vol. 58. – P. 1-6.
12. Bantish, B.B. Immunomorphological features of epithelial-stromal relationships in endometrial glandular hyperplasia : dis. ... phd: 14.03.02 / Bantish B.B. – Moscow, 2011. – 95 p.
13. Baudrin, L.G. Molecular and Computational Methods for the Detection of Microsatellite Instability in Cancer / L.G. Baudrin, J.F. Deleuze, A. How-Kit // *Front Oncol.* – 2018. – Vol. 8. – P. 621.
14. Beta-catenin mutations and aberrant nuclear expression during endometrial tumorigenesis / M. Saegusa, M. Hashimura, T. Yoshida, I. Okayasu // *Br. J. Cancer*. – 2001. – Vol. 84. – P. 209-217.
15. Bianchini, F. Overweight, obesity, and cancer risk / F. Bianchini, R. Kaaks, H. Vainio // *Lancet Oncol.* – 2002. – Vol. 3, № 9. – P. 565-574.
16. Biomarkers of progestin therapy resistance and endometrial hyperplasia progression / K. Upson, K.H. Allison, S.D. Reed [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2012. – Vol. 207. – P. 36.e1-36.e8.
17. Biopsy histomorphometry predicts uterine myoinvasion by endometrial carcinoma: a gynecologic oncology group study / G.L. Mutter, J. Kauderer, J.P. Baak [et al.] // *Hum. Pathol.* – 2008. – Vol. 39. – P. 866-874.
18. Bokhman, Ya.V. Guide to oncogynecology / Ya.V. Bohman. – St. Petersburg: Folio, 2002. – 542 p.

19. Breusenko, V.G. Treatment of endometrial hyperplastic processes in peri- and postmenopause / V.G. Breusenko, G.M. Savelyeva, Yu.A. Head // *Obstetrics and Gynecology*. – 2009. – № 4. – P. 19-23.
20. Cancer genome landscapes / B. Vogelstein, N. Papadopoulos, V.E. Velculescu [et al.] // *Science*. – 2013. – Vol. 339, № 6127. – P. 1546-1558.
21. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape / G.P. Dunn, A.T. Bruce, H. Ikeda [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2002. – Vol. 3. – P. 991-998.
22. Cancer Statistics Review, 1975-2015 Bethesda, MD / A.M.H.N. Noone, M. Krapcho, D. Miller [et al.] // National Cancer Institute. – 2018. – https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2017/results_merged/sect_07_corpus_uteri.pdf.
23. Cancer Today / WHO, IARC. 2021. – <https://gco.iarc.fr/today/home>.
24. Clapier, C.R. The biology of chromatin remodeling complexes / C.R. Clapier, B.R. Cairns // *Annu. Rev. Biochem.* – 2009. – Vol. 78. – P. 273-304.
25. Classification and Diagnosis of Endometrial Hyperplasia / R. Giuntoli, H. Zacur, B. Goff [et al.]. – 2014. – URL: <https://www.uptodate.com/contents/endometrial-hyperplasia-clinical-features-diagnosis-and-differential-diagnosis>.
26. Clinical and morphological features of endometrial hyperplastic processes in patients of different age groups / M.S. Sobivchak, A.E. Protasova, G.A. Raskin, A.M. Kavun // *Oncogynecology*. – 2021. – Vol. 40, № 4. – P. 27-34. – doi: 10.52313/22278710_2021_4_27.
27. Clinical impact of endometrial cancer stratified by genetic mutational profiles, POLE mutation, and microsatellite instability / T. Haruma, T. Nagasaka, K. Nakamura [et al.] // *PloS One*. – 2018. – № 13, № 4. – P. e0195655. – doi: 10.1371/journal.pone.0195655.
28. Combined benign tumors and hyperplastic processes of the uterus (myoma, adenomyosis, endometrial hyperplasia) / ed. L.V. Adamyan. – Moscow, 2015. – 92 p.
29. Comparison of endometrial carcinoma coexisting with and without endometrial hyperplasia / S. Ohkawara, T. Jobo, R. Sato, H. Kuramoto // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2000. – Vol. 21. – P. 573-577.

30. Comparison of the efficacy of three progestins in the treatment of simple endometrial hyperplasia without atypia / O. Ozdegirmenci, F. Kayikcioglu, U. Bozkurt [et al.] // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2011. – Vol. 72. – P. 10-14.
31. Comparison of WHO and endometrial intraepithelial neoplasia classifications in predicting the presence of coexistent malignancy in endometrial hyperplasia / M.C. Salman, A. Usubutun, K. Boynukalin [et al.] // *J. Gynecol. Oncol.* – 2010. – Vol. 21. – P. 97-101.
32. Complex hyperplasia of the endometrium. Predictive value of curettage vs. hysterectomy specimens / B. Lambert, D. Muteganya, Y. Lepage, Y. Boivin // *J. Reprod. Med.* – 1994. – Vol. 39, № 8. – P. 639-642.
33. Computerised morphometrical analysis in endometrial hyperplasia for the prediction of cancer development. A long-term retrospective study from northern Norway / A. Orbo, J.P. Baak, I. Kleivan [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2000. – Vol. 53, № 9. – P. 697-703.
34. Concurrent endometrial carcinoma in hysterectomy specimens in patients with histopathological diagnosis of endometrial hyperplasia in curettage specimens / M. Dolanbay, M.S. Kutuk, S. Uludag [et al.] // *Ginekol. Pol.* – 2015. – Vol. 86, № 10. – P. 753-758.
35. Concurrent endometrial carcinoma in patients with a curettage diagnosis of endometrial hyperplasia / Y.L. Chen, W.F. Cheng, M.C. Lin [et al.] // *J. Formos Med. Assoc.* – 2009. – Vol. 108, № 6. – P. 502-507.
36. Congruence Between 1994 WHO Classification of Endometrial Hyperplasia and Endometrial Intraepithelial Neoplasia System / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2019. – Vol. XX. – P. 1-9. – doi: 10.1093/AJCP/AQZ132.
37. Correlation between the DNA global methylation status and progesterone receptor expression in normal endometrium, endometrioid adenocarcinoma and precursors / L. Ghabreau, J.P. Roux, A. Niveleau [et al.] // *Virchows Arch.* – 2004. – Vol. 445. – P. 129-134.

38. Cullen, T.S Cancer of the uterus: its pathology, symptomatology, diagnosis and treatment; also the pathology of diseases of the endometrium / T.S. Cullen. – New York: D. Appleton and C., 1900.
39. Deletion mapping of chromosome 1 in early onset and late onset breast tumors - a comparative study in eastern India / N. Chunder, S. Mandal, D. Basu [et al.] // *Pathol. Res. Pract.* – 2003. – Vol. 199. – P. 313-321.
40. Diagnostic and prognostic value of ARID1A in endometrial hyperplasia: a novel marker of occult cancer / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // *APMIS.* – 2019. – Vol. 127, № 9. – P. 597-606.
41. Distinct sets of gene alterations in endometrial carcinoma implicate alternate modes of tumorigenesis / A. Koul, R. Willen, P.O. Bendahl [et al.] // *Cancer.* – 2002. – Vol. 44. № 94. – P. 2369-2379.
42. Does Preoperative Diagnosis of Endometrial Hyperplasia Necessitate Intraoperative Frozen Section Consultation? / G. Boyraz, D. Başaran, M.C. Salman [et al.] // *Balkan Med. J.* – 2016. – Vol. 33, № 6. – P. 657-661.
43. Endometrial cancer / F. Amant, P. Moerman, P. Neven [et al.] // *Lancet.* – 2005. – Vol. 366. – P. 491-505. – doi: 10.1016/S0140-6736(05)67063-8.
44. Endometrial cancer: modern concepts about screening / A.E. Protasova, M.S. Sobivchak, N.N. Bairamova [et al.] // *Kazan Medical Journal.* – 2019. – Vol. 100, No. 4. – pp. 662-672. – doi: 10.17816/KMJ2019-662.
45. Endometrial carcinoma associated with hyperplasia / T. Kaku, N. Tsukamoto, T. Hachisuga [et al.] // *Gynecologic oncology.* – 1996. – Vol. 60. – P. 22-25.
46. Endometrial carcinoma in women aged 40 years or younger: a Japanese experience / T. Kaku, K. Matsuo, N. Tsukamoto [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 1993. – Vol. 3. – P. 147-153.
47. Endometrial carcinoma in women 40 years of age or younger / J.D. Crissman, R.S. Azoury, A.E. Barnes, H.F. Schellhas // *Obstet. Gynecol.* – 1981. – Vol. 57. – P. 699-704.
48. Endometrial carcinoma risk among women diagnosed with endometrial hyperplasia: the 34-year experience in a large health plan / J.V. Lacey Jr.,

- O.B. Ioffe, B.M. Ronnett [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2008. – Vol. 98, № 1. – P. 45-53.
49. Endometrial hyperplasia and progression to cancer : which classification system stratifies the risk better ? A systematic review and meta-analysis / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2019. – Vol. 299, № 5. – P. 1233-1242. – doi: 10.1007/s00404-019-05103-1.
50. Endometrial hyperplasia and risk of coexistent cancer: WHO vs EIN criteria / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // *Histopathology.* – 2019. – Vol. 74, № 5. – P. 676-687. – doi:10.1111/his.13776.
51. Endometrial hyperplasia: clinical guidelines / L.A. Adamyanyan, U.N. Andreeva, N.V. Artymuk [et al.]. – Ministry of Health of the Russian Federation, 2021. – 45 p.
52. Endometrial hyperplasia – the dilemma of management remains: a retrospective observational study of 280 women / S. Daud, S.S. Jalil, M. Griffin, A.A. Ewies // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2011. – Vol. 159, № 1. – P. 172-175.
53. Endometrial Intraepithelial Neoplasia, Intraepithelial Neoplasia, Supriya Srivastava / N. Abushahin, S. Pang, J. Li [et al.]. – IntechOpen, 2012. – URL: <https://www.intechopen.com/chapters/27767>.
54. Endometrial adenocarcinoma: a multiparameter clinicopathologic analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors / K.R. Geisinger, H.D. Homesley, M.T. Morgan [et al.] // *Cancer.* – 1986. – Vol. 58. – P. 1518-1525.
55. Endometrioid endometrial carcinoma with atrophic endometrium and poor prognosis / Y.P. Geels, J.M. Pijnenborg, S.Y. van den Berg-van Erp [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2012. – Vol. 120. – P. 1124-1131.
56. Endometrioid intraepithelial neoplasia (EIN) / Atypical endometrial hyperplasia / PathologyOutlines.com website. – 2018. – URL: <http://www.pathologyoutlines.com/topic/uterusein.html>.

57. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma / N. Concin, X. Matias-Guiu, I. Vergote [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2021. – Vol. 31, № 1. – P. 12-39.
58. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: diagnosis, treatment and follow-up / N. Colombo, C. Creutzberg, F. Amant [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2016. – Vol 27. – P. 16-41.
59. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1 / PD-L1 expression and tumour mutational burden : a systematic review-based approach / C. Luchini, F. Bibeau, M.J.L. Ligtenberg [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2019. – Vol. 30, № 8. – P. 1232-1243. – doi: 10.1093/annonc/mdz116.
60. Estrogen and progesterone receptors and cyclooxygenase-2 expression in endometrial cancer, endometrial hyperplasia, and normal endometrium / F.J. Orejuela, L.M. Ramondetta, J. Smith [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2005. – Vol. 97. – P. 483-488.
61. Estrogen and progesterone receptors in endometrial cancer and their prognostic relevance / W. Kleine, T. Maier, H. Geyer, A. Pfleiderer // *Gynecol. Oncol.* – 1990. – Vol. 38. – P. 59-65.
62. Estrogen receptor b1 and the b2/bcx isoforms in nonneoplastic endometrium and in endometrioid carcinoma / D. Chakravarty, R. Srinivasan, S. Ghosh [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2007. – Vol. 17. – P. 905-913.
63. Estrogen receptor beta, but not estrogen receptor alpha, is present in the vascular endothelium of the human and nonhuman primate endometrium / H.O.D. Critchley, R.M. Brenner, T.A. Henderson [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – Vol. 86. – P. 1370-1378.
64. Estrogen receptor polymorphisms and the risk of endometrial cancer / K.A. Ashton, A. Proietto, G. Otton [et al.] // *BJOG.* – 2009. – Vol. 116. – P. 1053-1061.
65. Expression of estrogen and progesterone receptors in endometrium and peritoneal endometriosis: an immunohistochemical and in situ hybridization

- study, fertil / A. Fujishita, R.O. Chavez, P.K. Nakane [et al.] // *Steril* – 1997. – Vol. 67. – P. 856-864.
66. Expression of PAX2 in endometrial hyperlasia and carcinomas: immunohistochemical analysis of 136 cases / D.G.A. Cao, R.S. Vang, R.J. Kurman, B.M. Ronnett // *Modern Pathology*. – 2008. – Vol. 20, Suppl. 2. – Abstract № 869.
67. Expression of PAX2 in papillary serous carcinoma of the ovary: immunohistochemical evidence of fallopian tube or secondary Müllerian system origin? / G.-X. Tong, L. Chiriboga, D. Hamele-Bena, A.C. Borczuk // *Mod. Pathol.* – 2007. – Vol. 20. – P. 856-863.
68. Expression of PTTG1 and PTEN in endometrial carcinoma: correlation with tumorigenesis and progression / Z.Z. Feng, J.W. Chen, Z.R. Yang [et al.] // *Med. Oncol.* – 2012. – Vol. 29, № 1. – P. 304-310.
69. Expression of receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells and estrogen receptor subtypes in the normal, hyperplastic, and carcinomatous endometrium / X.H. Zhou, X.D. Teng, W.Y. Song, Y.J. Wu // *Int. J. Gynecol. Cancer*. – 2008. – Vol. 18, № 1. – P. 152-158.
70. Expression of steroid receptor coactivators and corepressors in human endometrial hyperplasia and carcinoma with relevance to steroid receptors and Ki-67 expression / J. Uchikawa, T. Shiozawa, H.C. Shih [et al.] // *Cancer*. – 2003. – Vol. 98. – P. 2207-2213.
71. Features associated with survival and disease-free survival in early endometrial cancer / G.P. Sutton, H.E. Geisler, F.B. Stehman [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1989. – Vol. 160. – P. 1385-1393.
72. Fedyanin, M.Yu. The role of microsatellite instability in colon cancer / M.Yu. Fedyanin, A.A. Tryakin, S.A. Tyulyandin // *Oncological coloproctology*. – 2012. – № 3. – P. 19-26.
73. Frank, G.A. Morphological features of dysplastic changes in the endometrium / G.A. Frank, T.A. Belous, N.V. Sokolova // *Archive of Pathology*. – 1990. – Vol. 52, № 9. – P. 18-24.

74. Gallup, D.G. Adenocarcinoma of the endometrium in women 40 years of age or younger / D.G. Gallup, R.J. Stock // *Obstet. Gynecol.* – 1984. – Vol. 64. – P. 417-420.
75. Guideline № 390 – Classification and Management of Endometrial Hyperplasia / M.-H. Auclair, P.J. Yong, S. Salvador [et al.] // *CJ Obstet. Gynaecol. Can.* – 2019. – Vol. 41, № 12. – P. 1789-1800. – doi: 10.1016/j.jogc.2019.03.025.
76. Guidelines on Clinical Management of Endometrial Hyperplasia // HKCOG GUIDELINES. – 2015. – № 16. – P. 1-14. – URL: https://www.hkcog.org.hk/hkcog/Download/Guidelines_on_Clinical_Management_of_Endometrial_Hyperplasia.pdf.
77. Gurda, G.T. Ki-67 index as an ancillary tool in the differential diagnosis of proliferative endometrial lesions with secretory change / G.T. Gurda, A.S. Baras, R.J. Kurman // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2014. – Vol. 33, № 2. – P. 114-119.
78. Gusberg, S.B. Precursors of corpus cancer. IV. Adenomatous hyperplasia as stage 0 carcinoma of the endometrium / S.B. Gusberg, A.L. Kaplan // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1963. – Vol. 87. – P. 662-678.
79. *Gynecology according to Emil Novak* / ed. J. Bereka, I. Adashi, P. Hillard; translation from English – 12th ed. – Moscow: Practice, 2002. – 892 p.
80. Hannemann, M.M. Endometrial hyperplasia: a clinician's review / M.M. Hannemann, H.M. Alexander, N.J. Cope // *Obstet. Gynecol. Reprod. Med.* – 2010. – Vol. 20, № 4. – P. 116-120.
81. Henderson, B.E. Hormonal carcinogenesis Carcinogenesis / B.E. Henderson // Heather Spencer Feigelson. – 2000. – Vol. 21, Iss. 3. – P. 427-433. – doi: 10.1093/ carcin/21.3.427.
82. Hereditary Cancer Syndromes and Risk Assessment № 634 / ACOG committee opinion // American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice. – 2017. – Vol. 125. – P. 1538-1543.
83. High frequency of PIK3R1 and PIK3R2 mutations in endometrial cancer elucidates a novel mechanism for regulation of PTEN protein stability /

- L.W. Cheung, B.T. Hennessy, J. Li [et al.] // *Cancer Discov.* – 2011. – № 1. – P. 170-185.
84. High PD-L1 expression was associated with poor prognosis in 870 Chinese patients with breast cancer / T. Qin, Y.D. Zeng, G. Qin [et al.] // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6. – P. 33972-33981. – doi: 10.18632/oncotarget.5583.
85. *Histological Typing of Female Genital Tract Tumours* / R.E. Scully, T.A. Bonfiglio, R.J. Kurman [et al.]. – Heidelberg, Berlin, Germany: Springer, 1994. – P. 1-189.
86. Hu, K. Expression of estrogen receptors ERalpha and ERbeta in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma / K. Hu, G. Zhong, F. He // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2008. – Vol. 15. – P. 537-541.
87. IFN- γ from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer / K. Abiko, N. Matsumura, J. Hamanishi [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2015. – Vol. 112. – P. 1501-1509.
88. Immunohistochemical analysis of c-myc, c-jun and estrogen receptor in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium / S. Bircan, A. Ensari, S. Ozturk [et al.] // *Pathol. Oncol. Res.* – 2005. – Vol. 11. – P. 32-39.
89. Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle / B.A. Lessey, A.P. Killam, D.A. Metzger [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1988. – Vol. 67. – P. 334-340.
90. Immunocytochemical analysis of oestrogen receptors and progesterone receptors in the human uterus throughout the menstrual cycle and after menopause / M.P. Snijders, A.F. de Goeij, M.J. Debets-Te Baerts [et al.] // *J. Reprod. Fertil.* – 1992. – Vol. 94. – P. 363-371.
91. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma / J.T. Chamber, M.L. Carcangiu, I.M. Voynick [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1990. – Vol. 94. – P. 247-254.

92. Immunohistochemical expression of PTEN and beta-catenin for endometrial intraepithelial neoplasia in Japanese women / Y. Norimatsu, T. Moriya, T.K. Kobayashi [et al.] // *Ann. Diagn. Pathol.* – 2007. – Vol. 11. – P. 103-108.
93. Immunohistochemical nuclear expression of b-catenin as a surrogate of CTNNB1 Exon 3 mutation in endometrial cancer / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2019. – Vol. 151. – P. 529-538.
94. Impact of Hormone Receptor Status and Ki-67 Expression on Disease-Free Survival in Patients Affected by High-risk Endometrial Cancer / V. Di Donato, V. Iacobelli, M.C. Schiavi [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2018. – Vol. 28, № 3. – P. 505-513.
95. Improvement of molecular genetic diagnostics in the Russian Federation in order to increase the effectiveness of antitumor treatment / Official website of the RUSSCO Program. – URL: <http://www.cancergenome.ru/>.
96. Incidence of endometrial hyperplasia / S.D. Reed, K.M. Newton, W.L. Clinton [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2009. – Vol. 200, № 6. – P. 678.
97. Increased proliferation in atypical hyperplasia/endometrioid intraepithelial neoplasia of the endometrium with concurrent inactivation of ARID1A and PTEN tumour suppressors / A. Ayhan, T.-L. Mao, Y.S. Rahmanto [et al.] // *J. Pathol. Clin. Res.* – 2015. – Vol. 1, № 3. – P. 186-193.
98. Inhibition of survivin reduces cell proliferation and induces apoptosis in human endometrial cancer / Z. Ai, L. Yin, X. Zhou [et al.] // *Cancer.* – 2006. – Vol. 107. – P. 746-756.
99. Jacobsen, B.M. Progesterone receptors, their isoforms and progesterone regulated transcription / B.M. Jacobsen, K.B. Horwitz // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 357, № 1-2. – P. 18-29. – doi: 10.1016/j.mce.2011.09.016.
100. Joiner, A.K. Pax2 expression in simultaneously diagnosed WHO and EIN classification systems / A.K. Joiner, C.M. Quick, S.K. Jeffus // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2015. – Vol. 34. – P. 40-46.

101. Joint loss of PAX2 and PTEN expression in endometrial precancers and cancer / N.M. Monte, K.A. Webster, D. Neuberg [et al.] // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70, № 15. – P. 6225-6232. – doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0149.
102. K-ras mutations appear in the premalignant phase of both microsatellite stable and unstable endometrial carcinogenesis / G.L. Mutter, H. Wada, W.C. Faquin, T. Enomoto // *Mol. Pathol.* – 1999. – Vol. 52, № 5. – P. 257-262. – doi: 10.1136/mp.52.5.257.
103. Kadar, N. Steroid receptor concentrations in endo-metrial carcinoma: effect on survival in surgically staged patients / N. Kadar, J.H. Malfetano, H.D. Homesley // *Gynecol. Oncol.* – 1993. – Vol. 50. – P. 281-286.
104. Ki-67 acts as a biological surfactant to disperse mitotic chromosomes / S. Cuylen, C. Blaukopf, A.Z. Politi, T. Müller-Reichert [et al.] // *Nature.* – 2016. – Vol. 535, № 7611. – P. 308-312.
105. Ki-67 in endometrial cancer: scoring optimization and prognostic relevance for window studies / S. Kitson, V.N. Sivalingam, J. Bolton [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2017. – Vol. 30, № 3. – P. 459-468.
106. Ki-67 is a PP1-interacting protein that organises the mitotic chromosome periphery / D.G. Booth, M. Takagi, L. Sanchez-Pulido [et al.] // *Elife.* – 2014. – Vol. 3. – P. e01641.
107. Kleshchev, M.A. Features of hyperplastic processes in the endometrium in women of different ages: dis. ... phd. Sciences: 14.01.30 / Kleshev M.A. – St. Petersburg, 2011. – 94 p.
108. Kondrikov, N.I. Structural and functional bases of hyperplastic changes in the endometrium of women: author. dis. ... Dr. med. Sciences: 14.01.01 / Kondrikov N.I. – Moscow, 1991. – 51 p.
109. Kurman, R.J. Precursors of endometrial and ovarian carcinoma / R.J. Kurman, T.G. McConnell // *Virchows Arch.* – 2010. – Vol. 456, № 1. – P. 1-12. – doi: 10.1007/s00428-009-0824-9.

110. Kurman, R.J. The behavior of endometrial hyperplasia A long-term study of “untreated” hyperplasia in 170 patients / J.V. Lacey, M.E. Sherman, B.B. Rush // *Cancer*. – 1985. – Vol. 56, № 2. – P. 403-442.
111. Kuznetsova, I.V. Hyperplastic processes of the endometrium / I.V. Kuznetsova. – Moscow, 2009. – 47 p.
112. Lacey, J.V. Absolute Risk of Endometrial Carcinoma During 20-Year Follow-Up Among Women With Endometrial Hyperplasia / J.V. Lacey, M.E. Sherman, B.B. Rush // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28, № 5. – P. 788-792. 5.
113. Lacey, J.V. Endometrial hyperplasia and the risk of progression to carcinoma / J.V. Lacey, V.M. Chia // *Maturitas*. – 2009. – Vol. 63. – P. 39-44.
114. Li, X.C. Endometrial intraepithelial neoplasia (EIN) in endometrial biopsy specimens categorized by the 1994 World Health Organization classification for endometrial hyperplasia / X.C. Li, W.J. Song // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2013. – Vol. 14. – P. 5935-5939.
115. Lokuhetty, D. Internal Agency for Research on Cancer (IARC) / D. Lokuhetty, V.A. White, R.L. Watanabe // *Female genital Tumours / WHO Classification of Tumours Editorial Board*. – 5th ed. – 2020. – ISBN 978-92-832-4504-9.
116. Loss of ARID1A expression correlates with stages of tumor progression in uterine endometrioid carcinoma / T.L. Mao, L. Ardighieri, A. Ayhan [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2013. – Vol. 37. – P. 1342-1348.
117. Loss of BAF250a (ARID1A) is frequent in high-grade endometrial carcinomas / K.C. Wiegand, A.F. Lee, O.M. Al-Agha [et al.] // *J. Pathol.* – 2011. – Vol. 224. – P. 328-333.
118. Loss of progesterone receptor links to highproliferation and increases from primary to metastatic endometrial cancerlesions / I.L. Tangen, H.M.J. Werner, A. Berg [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2014. – Vol. 50. – P. 3003-3010.
119. Loss of PTEN expression as diagnostic marker of endometrial precancer: A systematic review and meta-analysis / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // *Acta Obstet.Gynecol. Scand.* – 2019. – Vol. 98, № 3. – P. 275-286.

120. Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality) / ed. A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. – Moscow: MNIOI im. P.A. Herzen – branch of the Federal State Budgetary Institution "NMITs Radiology" of the Ministry of Health of Russia, 2021. – 252 p.
121. Malignant transformation of endometrial hyperplastic processes: immunohistochemical features / M.S. Sobivchak, A.E. Protasova, G.A. Raskin [et al.] // Tumors of the female reproductive system. – 2022. – Vol. 18, № 3. – P. 89-99. – doi: 10.17650/1994-4098-2022-18-3-89-99.
122. Management and clinical outcomes of endometrial hyperplasia during a 13 -year period in Songklanagarind Hospital / N. Sirimusika, K. Peeyananjarassri, Y. Suphasynth [et al.] // J. Med. Assoc. Thai. – 2014. – Vol. 97, № 3. – P. 260-266.
123. Management of Endometrial Hyperplasia / I.D. Gallos, M. Alazzam, T.J. Clark [et al.] // RCOG/BSGE Green-top Guideline. – 2016. – Vol. 67. – 30 p. – URL: <https://www.rcog.org.uk/en/guidelines-research-services/guidelines/gtg67>.
124. Management of Endometrial Precancers / C.L. Trimble, M. Method, M. Litao [et al.] // Obstet. Gynecol. – 2012. – Vol. 120. – P. 1160-1175.
125. MIB-1 in endometrial carcinoma: prognostic significance with 5-year follow-up / J.P. Geisler, H.E. Geisler, G.A. Miller [et al.] // Gynecol. Oncol – 1999. – Vol. 75. – P. 432-436.
126. Microsatellite instability is a biomarker for immune checkpoint inhibitors in endometrial cancer / H. Yamashita, K. Nakayama, M. Ishikawa [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 9, № 5. – P. 5652-5664.
127. Mills, A.M. Endometrial hyperplasia / A.M. Mills, T.A. Longacre // Sem. Diagn. Pathol. – 2010. – Vol. 27. – P. 199-214.
128. Molecular biomarkers in endometrial hyperplasias predict cancer progression / A. Steinbakk, E. Gudlaugsson, O.G. Aasprong [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2011. – Vol. 204. – P. 357-e1-e12.

129. Molecular identification of latent precancers in histologically normal endometrium / G.L. Mutter, T.A. Ince, J.P. Baak [et al.] // *Cancer Res.* – 2001. – Vol. 61, № 11. – P. 4311-4314.
130. Mutation and loss of expression of ARID1A in uterine low-grade endometrioid carcinoma / B. Guan, T.L. Mao, P.K. Panuganti [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2011. – Vol. 35, № 5. – P. 625-632.
131. Mutation of beta-catenin gene in endometrial cancer but not in associated hyperplasia / K. Ashihara, T. Saito, H. Mizumoto [et al.] // *Med. Electron Microsc.* – 2002. – Vol. 35. – P. 9-15.
132. Mutational profile of endometrial hyperplasia and risk of progression to endometrioid adenocarcinoma / M. Russo, J.M. Newell, L. Budurlean [et al.] // *Cancer.* – 2020. – Vol. 126, № 12. – P. 2775-2783.
133. Mutter, G.L. The Endometrial Collaborative Group. Endometrial intraepithelial neoplasia (EIN) Will it bring order to chaos? / G.L. Mutter // *Gynecol. Oncol.* – 2000. – Vol. 76. – P. 287-290. – doi: 10.1006/gyno.1999.5580.
134. National patterns of care and fertility outcomes for reproductive-aged women with endometrial cancer or atypical hyperplasia / R.F. Harrison, W. He, S. Fu [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2019. – Vol. 221, № 5. – P. 474.e1-474.e11. – doi: 10.1016/j.ajog.2019.05.029.
135. NCCN Guidelines Version 1.2021 Uterine Neoplasms. – URL: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1473>.
136. New concepts for an old problem: the diagnosis of endometrial hyperplasia / P.A. Sanderson, H.O. Critchley, A.R. Williams [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2017. – Vol. 23, № 2. – P. 232-254.
137. Nuclear beta-catenin is a molecular feature of type I endometrial carcinoma / A.N. Scholten, C.L. Creutzberg, L.J.C.M. van den Broek [et al.] // *J. Pathol.* – 2003. – Vol. 201. – P. 460-465.
138. Nuclear expression of β -catenin in endometrial hyperplasia as marker of premalignancy / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // *APMIS.* – 2019. – Vol. 127, № 11. – P. 699-709.

139. Nuclear localization of beta-catenin in normal and carcinogenic endometrium / H. Nei, T. Saito, H. Yamasaki [et al.] // *Mol. Carcinog* – 1999. – Vol. 25. – P. 207-218.
140. Obesity and endometrial hyperplasia and cancer in premenopausal women: A systematic review / M.R. Wise, V. Jordan, A. Lagas [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 214, № 6. – P. 689.e1-689.e17. – doi: 10.1016/j.ajog.2016.01.175.
141. On the pathogenesis of endometrial hyperplasia / A.Kh. Bishtavi, O.A. Gornyxh, V.N. Guliyeva [et al.] // *Tumors of the female reproductive system.* – 2012. – № 3-4. – P. 108-111.
142. Owings, R.A. Endometrial Intraepithelial Neoplasia / R.A. Owings, C.M. Quick // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2014. – Vol. 138. – P. 484-491. – doi: 10.5858/arpa.2012-0709-RA.
143. PAIR-gynaecology: multi/interdisci-plinary for gynecologic cancer research.Problems neededto be resolved / R. Coquard, F. Chauvin, E. Leblanc [et al.] // *Bull. Cancer.* – 2012. – Vol. 99, № 4. – P. 479-498. – doi: 10.1684/bdc.2012.1558.
144. Palmer, J.E. Endometrial hyperplasia / J.E. Palmer, B. Perunovic, J.A. Tidy // *Rev. Obstet. Gynaecologist.* – 2008. – Vol. 10. – P. 211-216.
145. PAX genes: roles in development, pathophysiology, and cancer / D. Lang, S.K. Powell, R.S. Plummer [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 73, № 1. – P. 1-14.
146. PAX2 in endometrial carcinogenesis and in differential diagnosis of endometrial hyperplasia: A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2019. – Vol. 98, № 3. – P. 287-299.
147. PAX2 loss by immunohistochemistry occurs early and often in endometrial hyperplasia / K.H. Allison, K. Upson, S.D. Reed [et al.] // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2012. – Vol. 31, № 2. – P. 151-159.

148. Practical recommendations for drug treatment of uterine cancer and uterine sarcomas / V.M. Nechushkina, L.A. Kolomiets, O.A. Kravets [et al.] // *Malignant tumors*. – 2020. – Vol. 10, № 3s2-1. – P. 242-256. – doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-14.
149. Prediction of coexistent carcinomas risks by subjective EIN diagnosis and comparison with WHO classification in endometrial hyperplasias / Y.F. Yang, Y.Y. Liao, N.F. Peng [et al.] // *Pathol. Res. Pract.* – 2012. – Vol. 208. – P. 708-712.
150. Prediction of concurrent endometrial carcinoma in women with endometrial hyperplasia / K. Matsuo, A.A. Ramzan, M.R. Gualtieri [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2015. – Vol. 139, № 2. – P. 261-267.
151. Prediction of endometrial carcinoma by subjective endometrial intraepithelial neoplasia diagnosis / J.L. Hecht, T.A. Ince, J.P. Baak [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2005. – Vol. 18. – P. 324-330.
152. Prevalence of Coexisting Endometrial Carcinoma in Patients with Preoperative Diagnosis of Endometrial Hyperplasia / P. Kadirogullari, C.R. Atalay, O. Ozdemir, M.E. Sari // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2015. – Vol. 9, № 10. – P. QC10-14.
153. Prognostic impact of histological grade and vascular invasion compared with tumour cell proliferation in endometrial carcinoma of endometrioid type / I.M. Stefansson, H.B. Salvesen, H. Immervoll [et al.] // *Histopathology*. – 2004. – Vol. 44. – P. 472-479.
154. Prognostic markers for detection of coexistent carcinoma in high risk endometrial hyperplasia / A. Ørbo, B.T. Moe, M. Arnes [et al.] // *Anticancer Res.* – 2010. – Vol. 30, № 11. – P. 4649-4655.
155. Prospective multicenter evaluation of the morphometric D -score for prediction of the outcome of endometrial hyperplasias / J.P. Baak, A. Ørbo, P.J. van Diest [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2001. – Vol. 25, № 7. – P. 930-935.

156. PTEN expression in endometrial hyperplasia and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis / A. Raffone, A. Travaglino, G. Saccone [et al.] // Arch. Gynecol. Obstet. – 2019. – Vol. 299, № 6. – P. 1511-1524.
157. PTEN immunohistochemistry in endometrial hyperplasia: which are the optimal criteria for the diagnosis of precancer? / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.] // APMIS. – 2019. – Vol. 127, № 4. – P. 161-169.
158. PTEN-loss and nuclear atypia of EIN in endometrial biopsies can predict the existence of a concurrent endometrial carcinoma / K. Pavlakis, I. Messini, T. Vrekoussis [et al.] // Gynecol. Oncol. – 2010. – Vol. 119, № 3. – P. 516-519.
159. Rajaram, R.D. Paracrine signaling by progesterone / R.D. Rajaram, C. Brisken // Mol. Cell. Endocrinol. – 2012. – Vol. 357, № 1-2. – P. 80-90.
160. Risk factor analysis of coexisting endometrial carcinoma in patients with endometrial hyperplasia: a retrospective observational study of Taiwanese Gynecologic Oncology Group / Y.L. Chen, K.L. Wang, M.Y. Chen [et al.] // J. Gynecol. Oncol. – 2013. – Vol. 24, № 1. – P. 14-20.
161. Risk of subsequent endometrial carcinoma associated with endometrial intraepithelial neoplasia classification of endometrial biopsies / J.V. Lacey Jr, G.L. Mutter, M.R. Nucci [et al.] // Cancer. – 2008. – Vol. 113. – P. 2073-2081.
162. Rižner, T.L. The Importance of Steroid Uptake and Intracrine Action in Endometrial and Ovarian Cancers / T.L. Rižner, T. Thalhammer, C. Özvegy-Laczka // Front Pharmacol. – 2017. – Vol. 8. – P. 346. – doi: 10.3389/fphar.2017.00346.
163. Salov, I.A. Modern ideas about the etiological factors and risk factors for the development of endometrial hyperplastic processes. Message 1. Assessment of the epidemiological situation. Classification of endometrial hyperplastic processes. Pathological characteristics, relationship with oncogynecological diseases / I.A. Salov, N.P. Chesnokova, V.V. Kournikova // Successes of modern natural science. – 2004. – № 1. – P. 37-40.

164. Salvesen, H.B. Prognostic significance of angiogenesis and Ki-67, p53, and p21 expression: a population-based endometrial carcinoma study / H.B. Salvesen, O.E. Iversen, L.A. Akslen // *J. Clin. Oncol* – 1999. – Vol. 17. – P. 1382-1390.
165. Schreiber, R.D. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion / R.D. Schreiber, L.J. Old, M.J. Smyth // *Science*. – 2011. – Vol. 331. – P. 1565-1570.
166. Sharma, A. Endometrial hyperplasia / endometrioid intraepithelial neoplasia (EIN) / A. Sharma, R.R. Lastra // *PathologyOutlines.com* website. – 2020. – URL: <http://www.pathologyoutlines.com/topic/uterusendometrialhyperplasia-general.html> .
167. Shevra, C.R. Cyclin D1 and Ki-67 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium / C.R. Shevra, A. Ghosh, M. Kumar // *J. Postgrad. Med.* – 2015. – Vol. 61, № 1. – P. 15-20.
168. Significance of hormone receptor status and tumor vessels in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium / O. Nunobiki, E. Taniguchi, A. Ishii [et al.] // *Pathol. Int.* – 2003. – Vol. 53. – P. 846-852.
169. Sivridis, E. Endometrial carcinoma: two or three entities? / E. Sivridis, H. Fox, C.H. Buckley // *Int. J. Gynecol. Cancer* – 1988. – Vol. 8. – P. 183-188.
170. Small endometrial carcinoma 10 mm or less in diameter: clinicopathologic and histogenetic study of 131 cases for early detection and treatment / K. Hasumi, Y. Sugiyama, K. Sakamoto, F. Akiyama // *Cancer Med.* – 2013. – Vol. 2. – P. 872-880.
171. Sobivchak, M.S. The significance of immunohistochemical evaluation of PAX2 and PTEN expression for predicting the risk of malignancy of endometrial hyperplasia / M.S. Sobivchak, A.E. Protasova, G.A. Raskin // *Questions of oncology*. – 2022. – Vol. 68, № S3. – P. 123.
172. Sporadic microsatellite instability is specific to neoplastic and preneoplastic endometrial tissues / W.C. Faquin, J.T. Fitzgerald, M.C. Lin [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2000. – Vol. 113, № 4. – P. 576-582. – doi: 10.1309/4mgm-fmrc-6awk-yqy2.

173. Strong correlation between molecular changes in endometrial carcinomas and concomitant hyperplasia / P. Zauber, T.R. Denehy, R.R. Taylor [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2015. – Vol. 25, № 5. – P. 863-868.
174. Suarez, A.A. Bokhman Redux: Endometrial cancer "types" in the 21st century / A.A. Suarez, A.S. Felix, D.E. Cohn // *Gynecol. Oncol.* – 2017. – Vol. 144. – P. 243-249.
175. The Association Between PD-L1 Expression and the Clinical Outcomes to Vascular Endothelial Growth Factor Targeted Therapy in Patients With Metastatic Clear Cell Renal Cell Carcinoma / S.J. Shin, Y.K. Jeon, Y.M. Cho [et al.] // *Oncologist.* – 2015. – Vol. 20. – P. 1253-1260.
176. The β -catenin/TCF complex as a novel target of resveratrol in the Wnt/ β -catenin signaling pathway / H.J. Chen, L.S. Hsu, Y.T. Shia [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 84, № 9. – P. 1143-1153.
177. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma / C. Kandoth, N. Schultz, A.D. Cherniack [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 497, № 7447. – P. 67-73.
178. The community of immunohistochemical indicators of atypical endometrial hyperplasia and endometrial cancer / M.S. Sobivchak, A.E. Protasova, G.A. Raskin [et al.] // *Oncogynecology.* – 2020. – Vol. 33, № 1. – P. 31-39. – doi: 10.52313/22278710_2020_1_31.
179. The expression ratios of estrogenreceptor α (ER α) to estrogen receptor β 1(ER β 1) and ER α to ER β 2 identify poor clinical outcome in endometrioid endometrial cancer / G.F. Zannoni, G. Monterossi, I. De Stefano [et al.] // *Hum. Pathol.* – 2013. – Vol. 44. – P. 1047-1054.
180. The human protein atlas. – URL: <https://www.proteinatlas.org>.
181. The molecular genetics and morphometry-based endometrial intraepithelial neoplasia classification system predicts disease progression in endometrial hyperplasia more accurately than the 1994 World Health Organization classification system / J.P. Baak, G.L. Mutter, S. Robboy [et al.] // *Cancer.* – 2005. – Vol. 103, № 11. – P. 2304-2312. – doi:10.1002/cncr.21058.

182. The prognostic and therapeutic implications of cytologic atypia in patients with endometrial hyperplasia / J.E. Hunter, D.E. Tritz, M.G. Howell [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 1994. – Vol. 55, № 1. – P. 66-71.
183. The Role of ARID1A in Endometrial Cancer and the Molecular Pathways Associated With Pathogenesis and Cancer Progression / C. Toumpeki, A. Liberis, I. Tsirkas [et al.] // *In Vivo.* – 2019. – Vol. 33, № 3. – P. 659-667.
184. The two FIGO systems for normal and abnormal uterine bleeding symptoms and classification of causes of abnormal uterine bleeding in the reproductive years: 2018 revisions / M.G. Munro, H.O.D. Critchley, I.S. Fraser // *Int. Federation Gynecol. Obstet.* – 2018. – Vol. 143. – P. 393-408. – doi: 10.1002/ijgo.12666.
185. The value of curettage in diagnosis of endometrial hyperplasia / X. Xie, W.G. Lu, D.F. Ye [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2002. – Vol. 84, № 1. – P. 135-139.
186. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia / V. Chandra, J.J. Kim, D.M. Benbrook, A. Dwivedi, R. Rai // *J. Gynecol. Oncol.* – 2016. – Vol. 27, № 1. – P. 712-749. – doi:10.3802/jgo.2016.27.e8.
187. Trabzonlu, L. BCL-2 and PAX2 expressions in EIN which had been previously diagnosed as non-atypical hyperplasia / L. Trabzonlu, B. Muezzinoglu, A. Corakci // *Pathol. Oncol. Res.* – 2019. – Vol. 25. – P. 471-476.
188. Two distinct tumorigenic processes in endometrial endometrioid adenocarcinoma / Y. Sugiyama, O. Gotoh, N. Fukui [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2020. – Vol. 190, № 1. – P. 234-251. – doi: 10.1016/j.ajpath.2019.09.022.
189. Upregulation of PD-L1 and APE1 is associated with tumorigenesis and poor prognosis of gastric cancer / Y. Qing, Q. Li, T. Ren [et al.] // *Drug Des Devel. Ther.* – 2015. – Vol. 9. – P. 901-909.
190. Use of computerized morphometric analyses of endometrial hyperplasias in the prediction of coexistent cancer / C.J. Dunton, J.P. Baak, J.P. Palazzo [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1996. – Vol. 174, № 5. – P. 1518-1521.

191. Using gene expression in patients with endometrial intraepithelial neoplasia to assess the risk of cancer / K. Vierkoetter, J. Wong, H.J. Ahn [et al.] // *Gynecol. Oncol. Rep.* – 2018. – Vol. 24. – P. 24-26.
192. Xiong, Y. Expression and significance of beta-catenin, Glut-1 and PTEN in proliferative endometrium, endometrial intraepithelial neoplasia and endometrioid adenocarcinoma / Y. Xiong, Y.Y. Xiong, Y.F. Zhou // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2010. – Vol. 31, № 2. – P. 160-164.
193. Which surgical procedure for patients with atypical endometrial hyperplasia? / B.S. Karamursel, S. Guven, G. Tulunay [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2005. – Vol. 15, № 1. – P. 127-131.
194. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs / R.J. Kurman, M.L. Carcangiu, C.S. Herrington, R.H. Young // *WHO Classification of Tumours.* – 4th ed. – 2014. – ISBN 978-92-832-2435-8.
195. Wnt/Bcatenin and sex hormone signaling in endometrial homeostasis and cancer / Y. Wang, M. van der Zee, R. Fodde, L.J. Blok // *Oncotarget.* – 2010. – Vol. 1. – P. 674-684.
196. Yang, G. Correlations between microsatellite instability and the biological behaviour of tumours / G. Yang, Z. Zai // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2019. – Vol. 145, № 12. – P. 2891-2899.
197. Zadonskaya, Yu. N. Hyperplastic processes of the endometrium in perimenopause: modern aspects of pathogenesis and treatment: author. dis. ... phd. Sciences: 14.00.01 / Zadonskaya Yu.N. – Moscow, 2009. – 20 p.
198. Zhang, S. PI(3)kin apart PTEN's role in cancer / S. Zhang, D. Yu // *Clin. Cancer Res.* – 2010. – Vol. 16, № 17. – P. 4325-4330.
199. Zheleznov, B.I. To the problem of endometrial precancer / B.I. Zheleznov // *IV Congress of Obstetricians and Gynecologists of the RSFSR: works.* – Moscow, 1977. – P. 188-196.
200. Zhu, X. PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer / X. Zhu, J. Lang // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 57. – P. 97671-97682. – doi: 10.18632/oncotarget.18311.