

УДК: 618.1/.2-06:611-018

**БАЧАДОНГА ҚЎШНИ АЪЗОЛАР ЭНДОМЕТРИОЗИДА
ИММУНОГИСТОКИМЁВИЙ МАРКЕР КІ-67 ЭКСПРЕССИЯЛАНИШ
ДАРАЖАСИ ВА ПРОЛИФЕРАТИВ ИНДЕКСИ**

Жураева Гулбахор Бахшиллаевна,

Зикирова Азиза Ибодиллаевна

Бухоро тиббиёт институти, АҚФА университети

АННОТАЦИЯ

Ушбу тадқиқотда ҳар хил аъзолар эндометриозда иммуногистокимёвий маркер Кі-67нинг экспрессияланиш даражаси ва пролиферация индекси ўрганилди. Материал сифатида жами 28та эндометриоз ҳолати, ундан 8 таси цервикал канал, 6 таси миометрий, 7 таси бачадон найи ва 9 таси тухумдон эндометриози олинди. Иммуногистокимёвий усулда Кі-67 экспрессияланиши ва пролифератив индекси аниқланди. Натижалар кўрсатишича, бу маркернинг пролифератив индекси миометрийнинг ҳам эпителий, ҳам стромасида паст даражада, цервикал каналнинг эпителийсида паст, стромасида ўртача даражада, бачадон найининг эпителийсида ўртача, стромасида паст ва тухумдонинг эпителийсида жуда юқори, стромасида ўртача даражадалиги аниқланди. Морфологик жиҳатдан Кі-67 маркернинг ҳужайралар ядросида ҳар хил даражада ва ядронинг кариоплазма ва ядрочасида жойлашиб намоён бўлиши, бу ҳужайраларнинг ҳар хил пролифератив ва митотик фаоллашув фазаларида, яъни G1, S, G2, M даражаларда эканлигини тасдиқлайди. ҳар хил даражада экспрессияланади. Агар Кі-67 маркер ядрочада бўлса G1 фазада, ҳам ядроча, ҳам кариоплазмада жойлашган бўлса G2 фазадалигини кўрсатади.

Калит сўзлар: эндометриоз, миометрий, цервикал канал, бачадон найи, тухумдон, Кі-67 маркер.

АННОТАЦИЯ

В данном исследовании нами было изучено уровень экспрессии иммуногистохимического маркера Кі-67 и индекс пролиферации при эндометриозе различных органов. Всего было взято 28 случаев эндометриоза, из них 8 случаев цервикального канала, 6 случаев миометрия, 7 случаев фаллопиевых труб и 9 случаев эндометриоза яичников. Экспрессию Кі-67 и пролиферативный индекс определяли иммуногистохимическим методом. По результатам установлено, что пролиферативный индекс этого маркера

низкий в эпителии и строме миометрия, низкий в эпителии цервикального канала, умеренный в строме, умеренный в эпителии маточной трубы, низкий в в строме, очень высокие в эпителии яичника, умеренные в строме. Морфологически экспрессия маркера Ki-67 на разных уровнях в ядре клеток и в кариоплазме и ядре ядра подтверждает, что клетки находятся в разных фазах пролиферативной и митотической активации, т.е. уровни G1, S, G2, M. выражается по-разному. Если маркер Ki-67 находится в ядре, это указывает на фазу G1, а если он расположен и в ядре, и в кариоплазме, это указывает на фазу G2.

Ключевые слова: эндометриоз, миометрий, цервикальный канал, маточная труба, яичник, маркер Ki-67.

ABSTRACT

In this study, the expression level of immunohistochemical marker Ki-67 and the proliferation index were investigated in endometriosis of various organs. A total of 28 cases of endometriosis, 8 cases of cervical canal, 6 cases of myometrium, 7 cases of fallopian tubes and 9 cases of ovarian endometriosis were taken as material. Ki-67 expression and proliferative index were determined by immunohistochemical method. According to the results, the proliferative index of this marker was found to be low in the epithelium and stroma of the myometrium, low in the epithelium of the cervical canal, moderate in the stroma, moderate in the epithelium of the uterine tube, low in the stroma, very high in the epithelium of the ovary, moderate in the stroma. Morphologically, the expression of the Ki-67 marker at different levels in the nucleus of cells and in the karyoplasm and nucleus of the nucleus confirms that the cells are in different phases of proliferative and mitotic activation, i.e. G1, S, G2, M levels. expressed in different ways. If the Ki-67 marker is in the nucleus, it indicates the G1 phase, and if it is located in both the nucleus and the karyoplasm, it indicates the G2 phase.

Keywords: endometriosis, myometrium, cervical canal, uterine tube, ovary, Ki-67 marker.

КИРИШ

Эндометриоз, бу эндометрий безларининг бачадондан ташқаридаги бошқа тўқима ва аъзоларга ўсиб тарқалиш жараёни ҳисобланади. Эндометриоз репродуктив ёшдаги аёлларнинг 10% учрайди, 35-50% аёлларда клиник жиҳатдан бепуштлиқ ва чанок бўшлиғида оғриқ пайдо бўлиши билан намоён бўлади (1, 2, 3). Бу касалликнинг диагнозини аниқ қўйишда эндометриал без

хужайраларининг пролиферацияланишини аниқ кўрсатадиган иммуногистокимёвий маркер Ki-67ни ўрганиш муҳим ҳисобланади. Эндометриоз жараёни кўпинча эндометрийга туташган ва яқин жойлашган аъзо ва тўқималарда ривожланади. Унинг ривожланиш тезлиги, тарқалиш даражаси, метаплазия ва дисплазияланиш хавфи ҳар хил аъзода турлича амалга ошиши мумкин. Бу жараёнларни ўрганишда хужайралар пролиферацияланиш даражасини кўрсатадиган иммуногистокимёвий маркер Ki-67нинг ҳар хил аъзолар кесимида тезлигини, тарқалиш даражасини, ва дисрегенерацияланишини аниқлашда муҳим асос бўлишини таъкидлаш мумкин (4, 5).

Ki-67 хужайралар пролиферацияланиш маркери бўлиб, хужайранинг барча фаоллашув фазаларида, яъни G1, S, G2, Мда ҳар хил даражада экспрессияланади. Хужайра фаоллашуви дастлабки фазаси G1дан М фазасигача бу маркер кўпайиб боради ва митознинг метафазасига келиб максимумга етади. G1 дастлабки фазасида Ki-67 маркер сателлит ДНКнинг центрамида ва хромосоманинг теломерида жойлашади. Хужайра фаоллашувининг ўрта фазаларида Ki-67 маркер ядрода пайдо бўлади, G2 фазага келиб ҳам ядрода, ҳам кариоплазмада экспрессияланади (6, 7, 8). Хужайра митоздан кейинги G0га ўтганда Ki-67 маркер протеосомалар ёрдамида деградацияланиб, тўлиқ катаболизмга учрайди ва интерфазадаги хужайраларда экспрессияланмайди. Шунинг учун бу иммуногистокимёвий маркер хужайранинг пролиферацияланиш фаоллигини намоён қилганлиги учун нафақат ўсмали жараёнлар, балки хужайралар кўпайиши билан давом этадиган гиперплазия, метаплазия, регенерация, дисплазия ва эндометриозда ҳам аҳамияти катта ҳисобланади.

Ki-67 маркери асосида хужайралар пролиферацияланиш индексини ҳисоблаш мумкин. Ҳисоблашда жами 500 та хужайралар саналиб, улардан нечтасининг ядросида бу маркер мусбат даражада экспрессияланганлиги аниқланиб, барча хужайраларнинг неча фоизида мусбатлиги ҳисобланади (6). 1) 10% - паст даражадаги, 2) 10-20% - ўрта даражадаги, 3) 20% кўп бўлса юқори даражадаги экспрессияланиш деб баҳоланади.

Юқорида келтирилган мунозараларни инобатга олиб, ушбу тадқиқотда қуйидагича **мақсад** қўйилди, яъни ҳар хил аъзолар кесимида эндометриознинг ривожланиш тезлиги, тарқалиш даражаси, метаплазия ва дисплазияланиш хавфини иммуногистокимёвий маркер Ki-67нинг экспрессияланиш даражаси ва пролиферация индексига қараб аниқлаш.

МАТЕРИАЛ ВА УСУЛЛАР.

Ушбу тадқиқотда текширувга жами 28та эндометриоз ҳолати, ундан 8 таси цервикал канал, 6 таси миометрий, 7 таси бачадон найи ва 9 таси тухумдон эндометриози олинди. Дастлаб умумий гистология усулида тайёрланган гистологик препаратларда бу аъзоларнинг эндометриози аниқланиб олинди. Кейин бу аъзолар бўлакчаларидан тайёрланган парафинли ғишчалардан 4-5 мкм қалинликдаги кесмалар тайёрланиб, Ki-67 маркер бўйича иммуногистокимёвий бўяш усуллари амалга оширилди. Микротомда тайёрланган кесмалар шиша тохталарга жойлаштирилиб, иммуногистокимёвий бўяш давом этказилди. Бунда, Ki-67га нисбатан қуён моноклонал антителаси олинди (clone 30-9, VENTANA). Гистологик препаратлар стандарт протоколлар бўйича Ventana Benchmark XT, Roche, Швейцария тизимидаги иммуногистостейнерда тайёрланди. Ki-67 маркер натижалари 500та хужайрани санаб, улардан нечтасида бу маркер экспрессияланганлигига қараб фоизлари аниқланди.

ТАДҚИҚОТ НАТИЖАЛАРИ ВА УЛАРНИНГ МУҲОКАМАСИ.

Текширув натижалари шуни кўрсатдики, хужайралар пролиферацияланиш омилининг экспрессияланиши биз ўрганган аъзоларнинг эпителий хужайраларида, ҳамда интерстиций хужайраларида турлича кўрсаткичларга эгаллиги аниқланди. Цервикал канал эндометриозида без эпителий хужайраларининг иммуногистокимёвий маркери Ki-67нинг пролифератив индекси $7,16 \pm 0,13$ кўрсаткичга тенг бўлди, бу кўрсаткич паст даражада эканлиги тасдиқланди (1-жадвал). Цервикал канал оралик тўқимасининг бириктирувчи тўқима хужайраларининг иммуногистокимёвий маркери Ki-67 пролиферативланиш индекси нисбатан юқорилиги ($18,64 \pm 1,41$) кузатилди ва бу ҳолат морфологик жиҳатдан эндометриоз безлари атрофидаги гистиоцитар хужайралар аксарятининг ядроларида Ki-67 маркер тўқ жигар ранг кўринишида экспрессияланганлиги аниқланди (1-расм). Бунда эпителий хужайралари ядроларининг ҳам кариоплазмасида, ҳам ядрочасида экспрессияланиши хужайралар фаоллашувининг ўрта фазаси, яъни G2 фазасидалигини тасдиқлайди. Демак, цервикал канал тўқимасида ривожланган эндометриоз нисбатан секин ривожланиши, тарқалиш даражаси пастлиги, эпителий хужайралари метаплазия ва дисплазияси деярлик йўқлигидан далолат беради.

Миометрий тўқимаси таркибида эндометриоз аденомиоз кўринишида, яъни силлиқ мушак хужайралар тутамлари орасидаги интерстицийда ҳар хил

катталиқдаги без ячеякалари кўринишида пайдо бўлган. Безни қоплаган бир қаватли призматик эпителий қаторида алоҳида хужайралар ядроларида Ki-67 маркер тўқ жигар ранг кўринишида экспрессияланганлиги аниқланади (2-рамс). Бунда, айрим эпителий хужайралар ядролари ичидаги ядрочаларда ва кариоплазмасида аниқ оч ва тўқ жигар ранг кўринишида экспрессияланганлиги кузатилади. Миометрий стромаси таркибида фақат айрим лимфоид хужайралар ядроларида нисбатан кам даражада экспрессияланганлиги топилади. Миометрий таркибидаги эндометриозли без эпителийси ва стромадаги лимфоид хужайралар ядроларида Ki-67 маркерининг экспрессияланган хужайралар саналганда бу маркернинг пролифератив индекси эпителий хужайраларида $5,26 \pm 0,09\%$, яъни жуда паст даражада, строма хужайраларида ҳам $6,33 \pm 0,15\%$ бу ҳам жуда паст даражада экспрессияланиши (1-жадвал) эндометриоз жараёнининг миометрийда ривожланиш даражасининг пастлигини, пролиферацияланиш жараёнининг сустлигини кўрсатади.

Бачадон найи эндометриозда гистологик текширув шуни кўрсатдики, асосий эндометриозли гиперплазия найнинг шиллиқ пардаси сўргичлари таркибида ривожланганлиги аниқланди. Бунда, шиллиқ парда сўргичлари ҳар хил даражада гиперплазияланиб, ҳам бўйи узунлашиб, ҳам эни ҳар хил даражада йўғонлашганлиги кузатилади. Сўргичлар таркибида эндометриозли без эпителийси гиперплазияланиб, айрим жойларида сўргичлар пайдо қилган, бошқа соҳаларида ноаниқ формадаги без ячеякаларини пайдо қилганлиги аниқланади. Ki-67 маркери бўйича иммуногистокимёвий текширув шуни кўрсатдики, гиперплазияланиб, бетартиб жойлашган эндометриозли безлар эпителий хужайралари таркибида сезиларли миқдордаги хужайралар ядросида тўқ жигар ранг кўринишида экспрессияланганлиги аниқланади. Бунда, айрим ядролар йириклашиб, ҳам кариоплазмасида, ҳам ядрочасида ушбу маркернинг экспрессияланганлиги кузатилади (3-расм). Бшқа хужайралар ядролари ҳажми нисбатан кичик ва унда нисбатан оч жигар рангли кўринишида намоён бўлганлиги аниқланади. Бундай ҳар хил даражада Ki-67 маркернинг экспрессияланиши бу хужайраларнинг митотик ва пролифератив ҳар хил даражада фаоллашганлигидан далолат беради. Бачадон найи шиллиқ пардаси таркибидаги эндометриозли без эпителийси ва стромадаги лимфоид хужайралар ядроларида Ki-67 маркерининг экспрессияланган хужайралар саналганда бу маркернинг пролифератив индекси эпителий хужайраларида $11,37 \pm 1,06\%$ яъни ўртача фаоллик даражада, строма хужайраларида $4,86 \pm 0,07\%$ жуда паст даражада экспрессияланиши (1-жадвал) эндометриоз жараёнининг

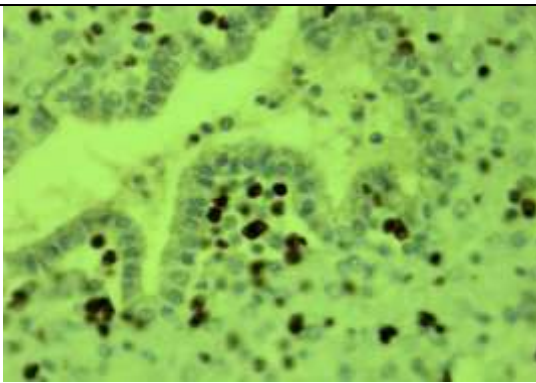
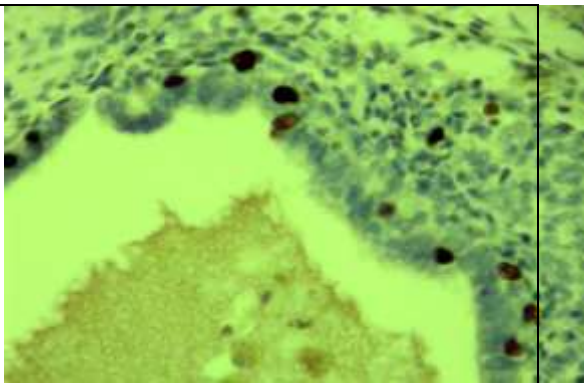
бачадон найи эпителийсида нисбатан юқори стромасида паст даражадалиги, шунга яраша пролифератив индекси ҳам ҳар хил даражадалиги аниқланади.

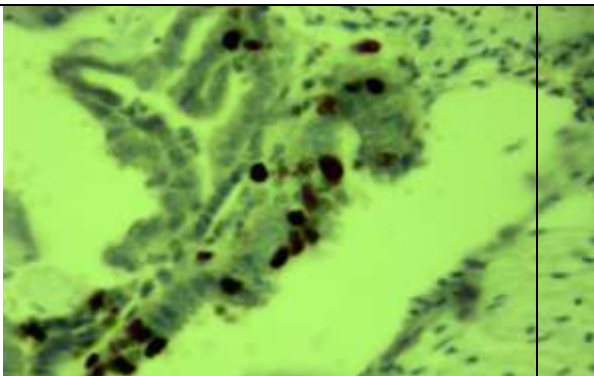
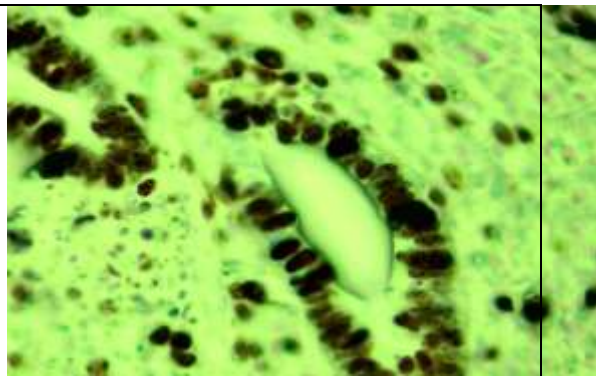
1-жадвал

Эндометриозга учраган аъзолар бўйича эпителий ва строма ҳужайралар иммуногистохимёвий маркери Ki-67нинг пролифератив индекси, (%).

№	Эндометриозга учраган аъзолар	Ki-67		
		эпителий	строма	p
1	Цервикал канал	7,16±0,13	18,64±1,41	0,044
2	Миометрий	5,26±0,09	6,33±0,15	0,309
3	Бачадон найи	11,37±1,06	4,86±0,07	0,287
4	Тухумдон	76,24±2,37	13,36±1,04	0,056

Илова: кўрсаткичларнинг бир-биридан фарқини баҳолаш Манна-Уитни тести бўйича олиб борилди, бунда ишончлилиқ даражаси $p \leq 0,05$

	
1-расм. Цервикал канал, эпителий тарки-бида яккам-дукам, стромада гистиоцитар ва лимфоид ҳужайраларнинг аксариятида Ki-67 мусбат экспрессия-ланган. Бўёқ: иммуногистохимия. Кат: 10x40.	2-расм. Миометрий, аденомиоз безлар эпителийсида айрим ҳужайраларда, стро-масида лимфоид ҳужайраларда Ki-67 маркерининг паст даражада экспрессияла-ниши. Бўёқ: иммуногистохимия. Кат: 10x40.

	
3-расм. Бачадон найи, эндометриозли гиперплазияланган без ячейкаларида нисбатан кўпроқ эпителий ядроларида Ki-67 маркерининг экспрессияланиши. Бўёк: иммуногистохимия. Кат: 10x40.	4-расм. Тухумдон эндометриози, Ki-67 маркерини иммуногистокимёвий усулида бўяш. Кат: 10x40.

Биз ўрганган аъзо ва тўқималардан эндометриоз жараёни тухумдонда кучли даражада ривожланганлиги, яъни ташқи юзасини қоплаган призматик эпителийсининг эндометриозли эпителийга метаплазияланиши, тухумдон пўстлоқ ва баъзи ҳолларда мағиз қаватида ҳам эндометриозли безлар пайдо бўлиши аниқланди. Хужайраларнинг пролифератив фаоллигини кўрсатадиган Ki-67 маркерни иммуногистокимёвий усулда бўяш шуни кўрсатдики, биз ўрганган бошқа аъзоларга нисбатан тухумдонда ривожланган эндометриозли без эпителийсида бу иммунологик маркернинг кўп ва юқори даражада экспрессияланиши аниқланди (4-расм). Бунда, эндометриозли безлар таркибидаги деярлик барча эпителий хужайралар ядроларида бу маркернинг аксариятларида тўқ жигар рангли, айримларида оч ва донатор жигар рангли кўринишда бўялгани кузатилди. Эндометриозли без эпителийсидан 500 тасини санаб, улардан қанчасида мусбат экспрессияланганлигини аниқлаб, пролифератив индекси ҳисобланганда, эпителий хужайраларда бу индекс юқори даражада, яъни $76,24 \pm 2,37\%$, строма хужайраларида эса $13,36 \pm 1,04\%$ кўрсаткични ташкил қилганлиги тасдиқланди (1-жадвал).

Хулосада шуни таъкидлаш жоизки, биз ўрганган барча аъзолар орасида тухумдонда эндометриоз кўринишида гиперплазияланган эпителий хужайраларида пролифератив фаоллигини тасдиқловчи Ki-67 маркер юқори даражада экспрессияланганлиги ва пролифератив индекси ҳам шунга яраша юқори кўрсаткич фоизини ташкил қилганлиги, строма хужайраларидаги бу маркернинг пролифератив индекси ҳам ўртача даражада эканлиги, тухумдонда эндометриознинг ривожланиш тезлиги баланд, тарқалиш даражаси юқори, метаплазия ва дисплазиланиш хавфи мавжудлигини тасдиқлайди.

ХУЛОСА

Эндометриоз жараёни бачадонга ёндош қуйидаги аъзолар ҳужайралар пролифератив фаоллигини кўрсатадиган Ki-67 маркерини иммуногистокимёвий усулда ўрганиш шуни кўрсатдики, бу маркернинг пролифератив индекси миометрийнинг ҳам эпителий, ҳам стромасида паст даражада, цервикал каналнинг эпителийсида паст, стромасида ўртача даражада, бачадон найининг эпителийсида ўртача, стромасида паст ва тухумдонинг эпителийсида жуда юқори, стромасида ўртача даражадалиги аниқланди.

Биз ўрганган барча аъзолар орасида тухумдонда эндометриоз кўринишида гиперплазияланган эпителий ҳужайраларида пролифератив фаоллигини тасдиқловчи Ki-67 маркер юқори даражада экспрессияланганлиги ва пролифератив индекси ҳам шунга яраша юқори кўрсаткич фоизини ташкил қилганлиги, строма ҳужайраларидаги бу маркернинг пролифератив индекси ўртача даражада эканлиги, тухумдонда эндометриознинг ривожланиш тезлиги баланд, тарқалиш даражаси юқори, метаплазия ва дисплазияланиш хавфи мавжудлигини тасдиқлайди.

Морфологик жиҳатдан Ki-67 маркернинг ҳужайралар ядросида ҳар хил даражада ва ядронинг кариоплазма ва ядрочасида жойлашиб намоён бўлиши, бу ҳужайраларнинг ҳар хил пролифератив ва митотик фаоллашув фазаларида, яъни G1, S, G2, M даражаларда эканлигини тасдиқлайди. ҳар хил даражада экспрессияланади. Агар Ki-67 маркер ядрочада бўлса G1 фазада, ҳам ядроча, ҳам кариоплазмада жойлашган бўлса G2 фазадалигини кўрсатади.

REFERENCES

1. Адамян Л. В., Кулаков В. И., Андреева Е. Н. Эндометриозы: руководство для врачей. — 2-е изд. — М.: Медицина, 2006. — 416 с.
2. Баскаков В. П., Цвелев Ю. В., Кира Е. Ф. Эндометриоидная болезнь. — СПб., 2002. — 452 с.
3. Juraeva G.B. Study of clinical and morfological features of differentforms of endomtriosis// Nat.Volatiles @ Essent.Oils.2021, Vol 4. – P. 10901–10907.
4. Жураева, Г. Б. (2022). Гистопатология миометрия при внутреннем эндометриозе. Scientific progress, 3(2), 169-174.
5. Juraeva, G. B., & Zikirova, A. I. (2021, July). Pathomorphological Changes Of Endometriosis In Women Of Bukhara Region. In *Euro-Asia Conferences* (pp. 134-136).

6. Bakhshillaevna, Z. G. (2020). Pathomorphological Characteristics Of Glandular Hyperplasia Endometry In Women According To The Data Of The Bukhara Regional Pathological Bureau. *The American Journal of Interdisciplinary Innovations and Research*, 2(11), 142-149.
7. Juraeva, G. (2022, June). Competent factors for developing students' creative abilities in higher educational institutions. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2432, No. 1, p. 060028). AIP Publishing LLC.
8. Красильникова Л.В. Эндометриоз: морфологические аспекты, диагностика, современная терапевтическая тактика // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=22517> (дата обращения: 16.07.2022).
9. Gerdes J., Schwab U., Lemke H., Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer*. 1983;31(1):13-20.
10. Sun X., Kaufman P.D. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*. 2018;127(2):175–186.
11. Matheson T.D., Kaufman P.D. The p150N domain of chromatin assembly factor-1 regulates Ki-67 accumulation on the mitotic perichromosomal layer. *Mol Biol Cell*. 2017;28(1):21–29.
12. Kreipe H. [Ki67: biological intertumor variance versus variance of assay]. *Pathologe*. 2018;39(Suppl 2):272-277.
13. Cidado J. et al. Ki-67 is required for maintenance of cancer stem cells but not cell proliferation. *Oncotarget*. 2016;7(5):6281–6293.
14. Storey D.J. et al. Endometrioid epithelial ovarian cancer: 20 years of prospectively collected data from a single center // *Cancer*. 2008. Vol. 112, № 10. P. 2211-2220.
15. Rambau P.F. et al. Significant frequency of MSH2 / MSH6 abnormality in ovarian endometrioid carcinoma supports histotype-specific Lynch syndrome screening in ovarian carcinomas // *Histopathology*. 2016. Vol. 69, № 2. P. 288-297.
16. Fox C, Lessey BA. Signaling between embryo and endometrium: Normal implantation. In: *Recurrent Implantation Failure: Etiologies and Clinical Management*, pp1-19, 2018.
17. Young SL. Oestrogen and progesterone action on endometrium: A translational approach to understanding endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online*. 2013;27:497–505