

НЕКОТОРЫЕ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МИОМЕТРИИ ЖЕНЩИН С АДЕНОМИОЗОМ, СОПРОВОЖДАЮЩИМСЯ СИНДРОМОМ ХРОНИЧЕСКОЙ ТАЗОВОЙ БОЛИ

М. Р. ОРАЗОВ, О. Н. СУЛАЕВА, Е. Н. НОСЕНКО

*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького
Запорожский национальный медицинский университет
Одесский национальный медицинский университет*

В статье приведены результаты морфологического исследования маток полученных после гистерэктомии от 60 пациенток с диффузным аденомиозом II-III степени, сопровождающимся выраженным синдромом хронической тазовой боли. Общую морфологическую оценку срезов матки проводили при окраске гематоксилином и эозином. Для оценки характера межклеточных коопераций различные линии клеток визуализировали иммуногистохимически. Для изучения кинетики клеток оценивали пролиферацию и апоптоз клеток с помощью моноклональных антител к Ki-67 и p53 соответственно. Чувствительность к эстрогенам определяли с использованием моноклональных антител к эстрогеновым рецепторам. Сделан вывод о том, что при аденомиозе регистрируется нарушение эпителио-мезенхимных отношений, определяющих нарушение морфогенеза ветвлений маточных желез, что сопровождается усилением пролиферации эпителиальных клеток на фоне высокой чувствительности эпителиальных и стромальных клеток к эстрогенам.

Ключевые слова: аденомиоз, эутопический эндометрий, эктопический эндометрий, морфология, Ki-67, p53, рецепторы к эстрогенам.

SOME PATHOLOGICAL CHANGES IN THE MYOMETRIUM OF WOMEN WITH ADENOMYOSIS, ACCOMPANIED BY CHRONIC PELVIC PAIN SYNDROME

M. R. ORAZOV, O. N. SULAYEVA, E. N. NOSENKO

*Donetsk National Medical University named by Maxim Gorky
Zaporizhzhya National Medical University
Odessa National Medical University*

The paper presents the results of morphological studies queens obtained after hysterectomy from 60 patients with diffuse adenomyosis II-III degree, accompanied by severe chronic pelvic pain syndrome. Overall morphological evaluation sections of the uterus was performed at H & E stain. To assess the nature of intercellular cooperation various cell lines was visualized by immunohistochemistry. To study the kinetics of cell the proliferation and apoptosis were assessed cells with monoclonal antibodies Ki-67 and p53, respectively. Sensitivity to estrogens determined using monoclonal antibodies to estrogen receptors. It is concluded that the violation of adenomyosis registered epithelium-mesenchymal relations that determine a violation of branching morphogenesis uterine glands, which is accompanied by increased proliferation of epithelial cells on the background of the high sensitivity of epithelial and stromal cells to estrogens.

Key words: adenomyosis, eutopic endometrium, ectopic endometrium, morphology, Ki-67, p53, estrogen receptors.

Аденомиоз – это патологическое состояние, которое характеризуется наличием эктопических желез эндометрия и стромы в толще миометрия в сочетании с гиперплазией мышечных волокон.

Современная дефиниция аденомиоза – доброкачественное заболевание матки, при котором инвазия желез и стромы эндометрия в миометрий происходит на глубину более 2,5 мм от маточной соединительной зоны (МСЗ) (the Uterine junctional zone (UJZ)). Погружающему росту эндо-

метрия в миометрий благоприятствуют нарушения десмо-литических и десмопластических процессов в миометрии и в эндометрии и деструкция соединительнотканной основы миометрия, а также нарушения гистобиологического барьера между слизистой оболочкой матки и миометрием [1, 2, 10].

Аденомиоз является одной из существенных, а по данным некоторых авторов, основной причиной тазового бо-левого синдрома, дисменореи и гиперменореи [3, 4, 7].

Цель работы – изучить глубокие мезенхимальные отношения в матке женщин с аденомиозом, сопровождающимся синдромом хронической тазовой боли.

Материалы и методы

Для морфологического исследования использовали фрагменты стенок 60 маток, полученных после гистерэктомии у пациенток с диффузным аденомиозом II-III степени, сопровождающимся выраженным болевым синдромом. Пациентки были прооперированы в пролиферативную фазу цикла. Контрольную группу составили матки 5 пациенток без наличия гиперпролиферативных процессов, погибших в автокатастрофе.

После гистерэктомии участки стенки матки, включающие эндометрий и миометрий фиксировали в нейтральном забуференном 10% формалине (рН 7,4) в течение 24 часов. После дегидратации материал заливали в высокоочищенный парафин с полимерными добавками (Richard-Allan Scientific, США) при температуре не выше 60 °С. Срезы толщиной 5×1 мкм получали на ротационном микротоме Microm HM325 с системой переноса срезов STS (Carl Zeiss, Германия). По 2 среза с каждого блока помещали на адгезивное предметное стекло Super Frost Plus (Menzel, Германия). Общую морфологическую оценку срезов проводили при окраске гематоксилином и эозином. При этом оценивали наличие, количество и глубину расположения маточных желез (эктопического эндометрия) в миометрии. Для оценки характера межклеточных коопераций различные линии клеток визуализировали иммуногистохимически (ИГХ).

Для изучения кинетики клеток оценивали пролиферацию и апоптоз клеток с помощью моноклональных антител (МАТ) к Ki-67 (Clone DO-7) и p53 (Clone MM1; DAKO) соответственно. Чувствительность к эстрогенам определяли с использованием МАТ к эстрогеновым рецепторам (ER). Для «демаскировки» антигенов регидратированные срезы подвергали термической обработке в растворе Target Retrieval Solution (DAKO, Дания) с использованием бытовой микроволновой печи Samsung CE118KFR при 450W 3 раза по 3,5 мин. После блокирования эндогенной пероксидазной активности пероксидазным блоком (DAKO) и неспецифического связывания белков протеиновым блоком (DAKO) наносили первичные антитела (RTU). Визуализацию первичных антител проводили с помощью полимерной системы детекции DAKO EnVision+. В качестве субстрата для пероксидазы хрена использовали DAB+ (DAKO). Препараты докрашивали гематоксилином Майера. Далее окрашенные срезы заключали в полусинтетической среде Permanent Mounting Medium (DAKO).

С целью объективизации морфологического исследования использовали комплексный морфометрический анализ, который проводили с помощью специального программного обеспечения ImageTool version 3.0. и графического ре-

дактора Adobe Photoshop CS4 Extended v.11.0.1. Снимки выполнены на микроскопе Olympus BX51 с цифровой камерой DP70 (Olympus, Япония).

В исследованиях с использованием МАТ к Ki-67, p53 оценивали удельную плотность иммунопозитивных клеток (количество окрашенных в коричневый цвет клеток на сотню клеток в поле зрения). Оценку количества клеток проводили в 10 разных полях зрения каждого препарата при увеличении ×200 (окуляр 10, объектив 40), соответствующем 0.785 mm²/поле зрения, с участием двух независимых специалистов.

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка эутопического эндометрия у пациенток с аденомиозом продемонстрировала соответствие структуры фазе пролиферации менструального цикла. Покровный эпителий характеризовался присутствием большого количества пролиферирующих клеток (12,8±2,74%, 95% ДИ: 6,5-20,7%) и признаками незрелости, проявлениями которой были высокое ядерно-цитоплазматическое отношение и отсутствие развитого апикального полюса. Железы формировали до 28,4±3,2% (95% ДИ 23,4-33,2%) объема эндометрия, имели местами извитой ход с формированием локальных расширений преимущественно в глубине эндометрия.

В структуре маточных желез максимальное количество митозов отмечалось в области шейки и дна, где количество Ki-67 иммунопозитивных клеток составляло соответственно 17,3±2,8% и 23,5±3,6%. В отличие от этого, в области тела маточных желез количество пролиферирующих клеток не превышало 6%. При этом высокая скорость пролиферации эпителия эндометрия вела к формированию картины псевдомногорядности (за счет тесного расположения ядер при отсутствии четко выраженного апикального полюса клеток маточных желез).

Характерно, что в строме эутопического эндометрия также отмечалась пролиферация клеток, однако, численность пролиферирующих клеток была ниже, чем в эпителиальных структурах эндометрия, и составляла 8,8±4,2% (95% ДИ 5,3-11,8%). Хотя при этом строма характеризовалась высокой плотностью расположения клеток. Последнее было связано с наличием лимфоцитарной инфильтрации. Характерно, что при этом количество клеток, экспрессирующих маркер апоптоза, p53, было крайне низким – и не превышало 2% у всех обследованных пациенток с аденомиозом. Важно также отметить, что формирующийся функциональный слой эндометрия был богат кровеносными сосудами, часть которых была дилатирована и заполнена эритроцитами.

В ряде участков стенки матки отмечалась инвазия маточных желез вглубь эндометрия. Форма и размер желез при этом варьировал. В отдельных случаях отмечалась инвазия единичных трубчатых неразветвленных желез в миометрий. Однако в большинстве случаев имело место гроз-

девидное вращение маточных желез вглубь миометрия. Последнее было ассоциировано с нарушением морфогенеза желез и усилением их ветвлений.

Такая картина, по сути, отражает нарушение эпителио-мезенхимных взаимодействий, лежащих в основе не только эмбрионального роста, но также физиологического и патологического ремоделирования тканей и органов. С нарушением межтканевых отношений при эндометриозе связывают также развитие эпителио-мезенхимной трансформации, сопровождающейся изменением локального микроокружения и концентрации факторов роста [11]. Не удивительно, что гроздевидные очаги эктопических маточных желез, в отличие от очагов единичной инвазии, были окружены большим объемом стромы.

Характерно, что количество делящихся клеток в кистозно расширенных участках была ниже, чем железах, сохраняющих трубчатую структуру. Интересно, что даже в участках десквамации клеток в просвет расширенных желез, определялись Ki-67 позитивные клетки. Кроме того, обращала на себя внимание относительно низкая экспрессия Ki-67 в миометрии, несмотря на наличие признаков гиперплазии, предопределяющих, по сути, увеличение размеров матки. Визуализация данного маркера вовлечения клеток в клеточный цикл определялась лишь в незначительном (до 1%) количестве гладких миоцитов при диффузном распределении иммунопозитивных клеток в миометрии. Несмотря на высокую скорость пролиферации эпителиальных клеток эндометрия, в них оказалась чрезвычайно низкой экспрессия p53, что отражает снижение апоптоза. Данный феномен может быть обусловлен высокой экспрессией рецепторов к эстрогенам и эффектами данных гормонов, для которых характерен выраженный антиапоптогенный эффект. Иммуногистохимическое исследование продемонстрировало максимальную экспрессию эстрогеновых рецепторов в эпителиальных клетках как эутопического, так и эктопического эндометрия, которая охватывала 99-100% клеток, что вполне закономерно в фазу пролиферации менструального цикла и согласуется с данными литературы о выраженной зависимости эндометриоза от эстрогенов [12].

Высокой оказалась чувствительность и стромальных клеток эндометрия к эстрогенам. Интересно, что при этом интенсивность и пространственные характеристики экспрессии ER в строме эндометрия не была связана с пролиферативными процессами. Кроме того, данный вид рецепторов визуализировался как в ядрах фибробластоподобных клеток эндометрия, так и в мигрирующем пуле, за исключением незначительного количества лимфоцитов.

Характерно, что в миометрии выраженность экспрессии ER оказалась существенно ниже по сравнению с эндометрием. Более того, часть гладких миоцитов оказались иммунонегативными – до 20 % клеток миометрия не экспрессировали рецепторы к эстрогенам, что отражает мозаичное

выпадение экспрессии рецепторов к половым стероидам в миометрии. При этом многочисленные тонкие пучки гладких миоцитов были дезорганизованы (разно направлены) и разделены прослойками стромы с многочисленными кровеносными сосудами во всех слоях эндометрия. Интересно, что в строме между пучками гладких миоцитов была выявлена также низкая экспрессия эстрогеновых рецепторов, что вероятно связано с инфильтрацией стромы лимфоцитами.

Выводы

Таким образом, при тазовом болевом синдроме обусловленной аденомиозом регистрируется нарушение эпителио-мезенхимных отношений, определяющих нарушение морфогенеза ветвлений маточных желез, что сопровождается усилением пролиферации эпителиальных клеток на фоне высокой чувствительности эпителиальных и стромальных клеток к эстрогенам.

Список литературы

1. **Дамиров М.М.** Генитальный эндометриоз: взгляд практикующего врача : монография / Дамиров М.М., Олейникова О.Н., Майорова О.В. – М.: Издательство БИНОМ, 2013. – 152 с.
2. **Носенко О.М.** Клініко-морфологічна діагностика внутрішнього ендометріозу матки [Текст] : Автореф. дис... к. мед. наук: 14.01.01 «Акушерство та гінекологія» / О.М. Носенко; Інститут педіатрії, акушерства та гінекології АМН України. – Київ: Б.в., 1999. – 21 с.
3. **Роль** пролиферации и апоптоза в патогенезе генитального эндометриоза / [Адамян Л.В., Зайратьянц О.В., Осипова А.А. и др.] // Спец. выпуск. 3-й Междунар. науч. конгр. «Новые технологии в акушерстве и гинекологии». – 2007. – С. 123-124. 6
4. **Сонова М.М.** Клинико-морфологические, молекулярно-биологические и лечебные факторы генитального эндометриоза [Текст] : автореферат дис. ... к-та мед. наук : 14.00.01 / М.М. Сонова ; ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет Росздрава». – Москва: Б.и., 2009. – 22 с.
5. **Сорокина А. В.** Патогенез, прогнозирование и постгеномная диагностика аденомиоза [Текст] : автореферат дис. ... кандидата медицинских наук: 14.01.01, 14.03.03 / А. В. Сорокина; Российский университет дружбы народов. – Москва: Б.и., 2011. – 39 с.
6. **Эзимова А.С.** Критерии диагностики и прогнозирования неоплазии органов репродуктивной системы женщин / А.С. Эзимова, С.А. Плескановская // Аллергология и иммунология. – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 83.
7. **Clinical** characteristics indicating adenomyosis at the time of hysterectomy: a retrospective study in 291 patients / [Taran F.A., Wallwiener M., Kabashi D. et al.] // Arch. Gynecol. Obstet. – 2012. – Vol. 285, № 6. – P. 1571-1576. doi: 10.1007/s00404-011-2180-7.
8. **Cockerham A. Z.** Adenomyosis: a challenge in clinical gynecology / Cockerham A. Z. // J. Midwifery Womens Health. – 2012. – Vol. 57, № 3. – P. 212-220.
9. **Fusi L.** The uterine junctional zone / Fusi L., Cloke B., Brosens J.J. // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2006. – Vol. 20, № 4. – С. 479-491.

10. **Garcia L.** Adenomyosis: review of the literature / Garcia L., Isaacson K. // J. Minim. Invasive. Gynecol. – 2011. – Vol. 18, № 4. – P. 428-437. doi: 10.1016/j.jmig.2011.04.004.

11. **Leyendecker G.** The pathophysiology of endometriosis and adenomyosis: tissue injury and repair / Leyendecker G., Wildt L., Mall G. // Arch. Gynecol. Obstet. – 2009. – Vol. 280, № 4. – P. 529-538. doi: 10.1007/s00404-009-1191-0.

Сведения об авторе:

Оразов Мекан Рахимбердыевич – к.м.н., докторант Научно-исследовательского института медицинских проблем семьи Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, отрасль специализации – акушерство и гинекология, 83114, г. Донецк, пр. Панфилова, 3