

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ PD-ECGF, TGF- β , KI67 В ЭНДОМЕТРИИ ПРИ ЛЕЙОМИОМЕ МАТКИ БОЛЬШИХ РАЗМЕРОВ

Аскольская С.И.¹, Коган Е.А.², Попов Ю.В.¹, Соломахина М.А.², Файзуллина Н.М.³

¹ФНКЦ специализированной медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России

²ГБОУ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

³ФГБУ НЦ АГиП им. В.И. Кулакова МЗ РФ

Эндометрий может быть наиболее удобным объектом исследования в целях прогнозирования развития лейомиомы матки больших размеров, так как является доступным объектом в диагностике заболеваний матки. Изменения его цитокинового профиля взаимосвязаны с ростом лейомиомы. Иммуногистохимическое выявление высокой экспрессией Ki67, TGF- β , PD-ECGF в эндометрии позволяет прогнозировать развитие лейомиом больших размеров.

Ключевые слова: миома матки больших размеров, эндометрий, PD-ECGF, TGF- β , Ki67.

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE CONTENTS OF PD-ECGF, TGF- β , KI67 IN ENDOMETRIUM AT LARGE UTERINE LEIOMYOMA

Askolskaya S.I., Kogan E.A., Popov Yu.V., Solomakhina M.A., Fayzullina N.M.

The endometrium may be the most convenient object of forecasting the development of the large uterine fibroid, as the object is available in the diagnosis of diseases of the uterus, changes in its cytokine profile linked with the growth of uterine fibroid. Immunohistochemically identification of high expression of Ki 67, TGF- β , PD-ECGF in the endometrium allows to predict the development of large uterine fibroids.

Key words: large uterine fibroids, endometrium, PD-ECGF, TGF- β , Ki67.

Введение

Лейомиома матки (ЛММ) больших размеров – доброкачественная опухоль с уницентричным и мультицентричным характером роста, при которой размеры матки достигают 12-недельной беременности и более, что может быть определено пальпаторно. При этом объем матки с узлами ЛММ составляет не менее 450 см³ по данным УЗИ, а при солитарных узлах их диаметр превышает 6 см [1].

Развитие и рост ЛММ обусловлены множеством факторов, в том числе теми, которые продуцируются клетками эндометрия. В генезе ЛММ важную роль играют изменения иммунологической реактивности организма, особенно при наличии хронических очагов инфекции, изменении гормонального фона и цитокиновых воздействий [1]. Рост ЛММ также зависит от уровня гормонов яичников [3]. Кроме того, в росте ЛММ участвуют такие факторы, как цито-

кины и факторы роста, через которые гормоны яичников и эндометрий могут оказывать стимулирующее воздействие на рост ЛММ [5], что может быть установлено по экспрессии в ткани эндометрия биомаркеров, например, таких как Ki67, TGF β , PD-ECGF и других [2]. Эстроген и прогестерон могут регулировать экспрессию генов ряда цитокинов и факторов роста, которые в свою очередь могут изменять транскрипцию других генов. Результатом такой аномальной продукции цитокинов и факторов роста может быть увеличение пролиферации клеток, накопление внеклеточного матрикса, или комбинация этих явлений [4].

Взаимодействие между ЛММ, миометрием и аутологичным эндометрием также осуществляется на основании продукции цитокинов этими тканями, таких как факторы роста, их рецепторы, пролиферация, ангиогенез. По данным литературы, у пациенток с ЛММ обнаруживается гиперплазия эндометрия в 10-15% случаев [2]. При этом, как ЛММ может стимулировать изменение эндометрия, так и эндометрий может влиять на рост и развитие ЛММ [6].

Таким образом, патогенез ЛММ сложен и недостаточно изучен, что не позволяет осуществлять прогнозирование развития ЛММ больших размеров. Эндометрий может быть наиболее удобным объектом такого прогнозирования, так как является доступным объектом в диагностике заболеваний матки, изменений его цитокинового профиля, взаимосвязанного с ростом ЛММ.

Цель исследования: прогнозирование развития ЛММ больших размеров на основании иммуногистохимического исследования Ki67, TGF- β , PD-ECGF в эндометрии.

Материал и методы исследования

В исследование включены 54 пациентки, обратившиеся в ФГБУ «Научный центр акушерства и гинекологии, перинатологии им. В.И. Кулакова» г. Москва в период с 2012 по 2014 год. Средний возраст больных при исследовании колебался от 25 до 57 лет и составил $41,86 \pm 8,1$ год.

При обращении в клинику всем пациентам проводили общеклиническое обследование, ультразвуковое исследование органов малого таза с определением размеров и расположения узлов миомы. Пациенткам был проведен различный объем оперативного лечения в зависимости от возраста, сопутствующей генитальной и экстрагенитальной патологии (экстирпация матки с и

без придатков, миомэктомия различными способами) с последующей морфологической верификацией диагноза, дополненной иммуногистохимическим исследованием маркеров. Полученный в результате оперативных вмешательств материал исследовали в отделении патоморфологии №1 ФБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова», под руководством проф. Е.А. Коган.

Все пациентки были разделены на две группы; основная – с ЛММ больших размеров, миоматозные узлы больше 6 см в диаметре и контрольная – с ЛМ малых размеров, менее 4 см в диаметре. Каждая группа была разделена на две подгруппы по возрасту: женщины моложе 45 лет и пациентки от 46 лет (I а,б, II а,б). Критерием исключения явилось наличие указаний на патологию эндометрия у пациенток (гиперплазия эндометрия, хронический эндометрит и полипы эндометрия). Материал фиксировался в 10% забуференном формалине, заливался в парафин. Серийные парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивались гематоксилином и эозином, а также использовались для иммуногистохимических реакций.

Имуногистохимически определяли экспрессию Ki67 (Dako в разведении 1:100), PD-ECGF (клон P-GF.44C в разведении 1:100, Abcam), TGF- β (клон TB21) в разведении 1:100, Abcam). Демаскировка антигенов проводилась в ретривере с цитратным буфером с pH=6,0, при температуре – 120C⁰ в течение 20 минут. Результаты реакций PD-ECGF и TGF- β были оценены полуколичественным методом от 1 до 6 баллов по общепринятой методике. Оценка экспрессии Ki-67 с расчетом индекса пролиферации (ИП) осуществлялась при подсчете процента позитивных клеток на 3000 клеток данного типа. Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и прикладных программ статистика для Windows v. 7.0. Для сравнения числовых данных использовали метод t-критерий Стьюдента. Парное сравнение осуществляли с помощью критерия Манна-Уитни.

Результаты собственных исследований и обсуждение

Клиническая характеристика ЛММ и эндометрия

В нашем материале узлы ЛММ локализовались следующим образом: субсерозные – 67%

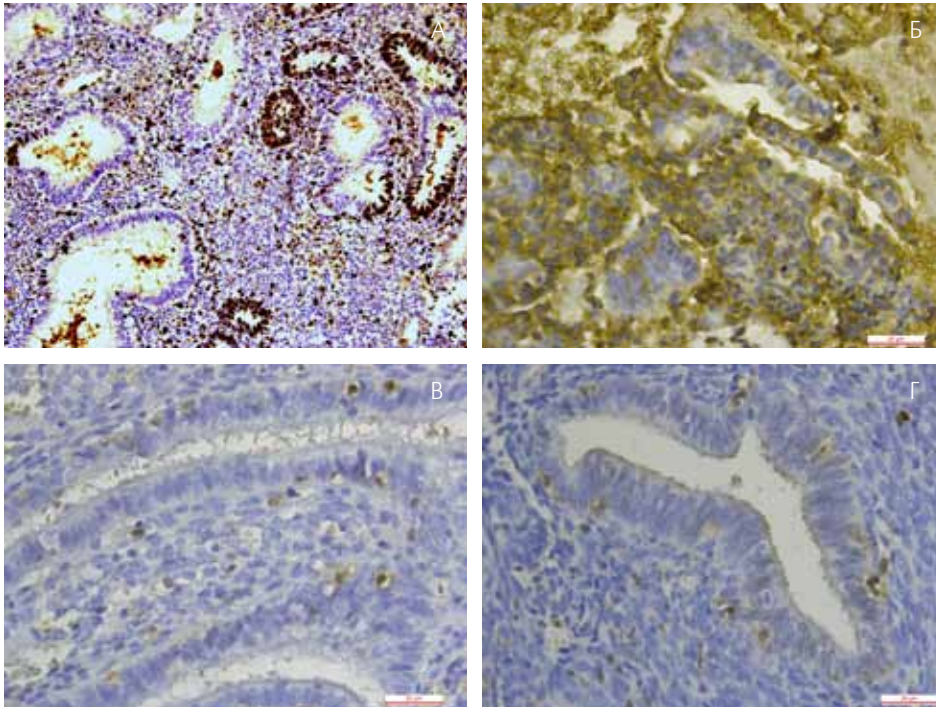


Рис. 1. Экспрессия биомаркеров в эндометрии ЛММ больших размеров у женщин перименопаузального возраста:
А. - Ki67

Б. - TGF-β

В., Г. - PD-ECGF.

(36 случаев); интрамуральные – 20% (11 случаев); субмукозные – 11% (6 случаев) и их различное сочетание в 2% (1 случай). Жалобы больных на нарушение менструальной функции – маточные кровотечения в виде мено- и метроррагий отмечали 48 пациенток (89%), из них сопровождалась анемией в 7 случаях (12%). Наряду с маточными кровотечениями, миомы матки сопровождалась болевым синдромом у 30 больных (57%). Как правило, боли локализовались в нижних отделах живота и пояснице. Нарушения функции смежных органов (мочевого пузыря, прямой кишки), чаще наблюдались при межсвязочном, подбрюшинном и шеечном расположении узлов.

Морфологическая характеристика ЛММ и эндометрия

При морфологическом исследовании эндометрия у пациенток ЛММ больших размеров слизистая соответствовала преимущественно стадии пролиферации (85%), и лишь в 15% - стадии секреции (Рис. 1). ЛММ больших размеров в диаметре больше 6 см на разрезе имеют волокнистое или мелкодольчатое строение, в центре часто с более мягкой консистенцией, а нередко с участками некроза и всегда с четкими границами. При микроскопическом исследовании простая лейомиома выявлена у 44 женщин (81% случаев), из них 26 пациенток (49%) входили в основную группу и 28 (51%) - в контрольную. В ткани про-

стых ЛММ отмечались вторичные изменения опухоли в виде дистрофии лейомиоцитов, очагов гиалиноза, некроза и отека стромы. Эндометрий у 90% женщин был в фазе пролиферации и у 10% - секреции. Различий при морфологическом исследовании эндометрия I группы по подгруппам а и б отмечено не было.

ЛММ малых размеров составляли в диаметре менее 4 см. Нередко ЛММ малых размеров были множественные (узлы от 2 до 5), волокнистого строения, серого цвета. Консистенция в центре узла и на периферии практически не отличалась, лишь в одном случае в центре узла диаметром 3 см определялся очаг дистрофического обызвествления. При микроскопическом исследовании в ткани малых ЛММ обнаруживались дистрофические изменения, гиалиноз и отек стромы.

Иммуногистохимическая характеристика ЛММ и эндометрия

При ИГХ исследовании экспрессии Ki67 в эндометрии у пациенток с ЛММ выявлялась ядерная окраска как в железах, так и в строме эндометрия (Рис.1а). ИП по Ki67 был самым высоким в основной группе пациенток с ЛММ больших размеров моложе 45 лет (1а) и составил 25-30%, а также в группе больных с ЛММ больших размеров старше 46 лет (1б) и составил 20-25%. В эндометрии у пациенток с ЛММ малых размеров ИП составил 3%-15% (Табл.1).

Таблица 1

**Экспрессия Ki 67(ИП)
в исследованных группах**

| группа | эндомет- рий | ЛММ лейомиоциты | окружающий миометрий |
|-----------|-----------------|--------------------|-------------------------|
| ЛММ (Ia) | 25-30% | 1,38% | 0,38% |
| ЛММ (Iб) | 20-25% | 0,00% | 0,00% |
| ЛММ (IIa) | 5-15% | 0,63% | 0,25% |
| ЛММ (IIб) | 3-15% | 0,13% | 0,00% |

При ИГХ исследовании TGFβ выявлялся в виде коричневого окрашивания цитоплазмы клеток покровного эпителия и желез, а также макрофагальных и фибробластических элементов стромы эндометрия (Рис.1б). У женщин с ЛММ больших размеров экспрессия белка TGF-β в эндометрии в среднем составила -3 балла, а в эндометрии у пациенток с ЛММ малых размеров от 0,86 и 1,38 балла в обеих возрастных подгруппах (Табл. 2).

При ИГХ исследовании PD-ECGF выявлялась цитоплазматическим окрашиванием эпителиальных клеток эндометрия и фибробластических элементов стромы эндометрия (Рис.1в,г). Уровень экспрессии PD-ECGF был самым высоким в основной группе ЛММ больших размеров в обеих возрастных подгруппах и составил соответственно 3,67 балла и 3,29 балла. В эндометрии у пациенток с ЛММ малых размеров уровень экспрессии PD-ECGF составил 1,5 и 1,6 баллов (Табл. 3).

Резюмируя полученные нами данные, следует отметить, что между ЛММ больших размеров и эндометрием может существовать взаимосвязь на уровне цитокиновых взаимодействий. Так, нами установлено, что ЛММ больших размеров отличаются особенностями молекулярного профиля эндометрия, который характеризуется более высоким уровнем экспрессии Ki67, TGF-β и PD-ECGF, что может быть использовано в прогнозировании их развития. Из литературы известно, что эндометрий и миометрий матки находятся не только в тесном анатомическом взаимодействии, но и оказывают влияние друг на друга и на молекулярном уровне [7]. Кроме того, данные о влиянии эндометрия на рост ЛММ посредством факторов роста описаны и другими авторами [2, 5]. Описанные взаимодействия на молекулярном уровне, вероятнее всего, и лежат в основе развития сочетанной патологии эндо- и миометрия [8].

Таблица 2

**Средние значения TGFβ
в изучаемых группах**

| группа | эндомет- рий | ЛММ лейомио- циты | окружаю- щий миоме- трий |
|-----------|-----------------|-------------------------|--------------------------------|
| ЛММ (Ia) | 3,00 балла | 0,90 балла | 0,90 балла |
| ЛММ (Iб) | 3,00 балла | 0,78 балла | 0,78 балла |
| ЛММ (IIa) | 0,86 балла | 0,50 балла | 0,80 балла |
| ЛММ (IIб) | 1,38 балла | 0,88 балла | 1,50 балла |

Таблица 3

**Экспрессия PD-ECGF
в исследованных группах**

| группа | эндомет- рий | ЛММ лейомио- циты | прилежащий миометрий |
|-----------|-----------------|-------------------------|-------------------------|
| ЛММ (Ia) | 3,67 балла | 1,33 балла | 0,25 балла |
| ЛММ (Iб) | 3,29 балла | 2,75 балла | 1,33 балла |
| ЛММ (IIa) | 1,50 балла | 5,00 балла | 2,00 балла |
| ЛММ (IIб) | 1,60 балла | 2,00 балла | 1,75 балла |

Развитие ЛММ больших размеров может вызывать патологию эндометрия или, напротив, молекулярные изменения в эндометрии могут носить первичный характер и инициировать развитие ЛММ больших размеров.

Заключение

Эндометрий может быть наиболее удобным объектом исследования в целях прогнозирования развития ЛММ, так как является доступным объектом в диагностике заболеваний матки. ИП Ki-67 в эндометрий пациенток с ЛММ больших размеров выше, чем у пациенток с ЛММ малых размеров и составляет 25-30%. Экспрессия TGFβ и PD-ECGF в эндометрии у пациенток с большими ЛММ составила в среднем 3,5 балла, по сравнению с контрольной группой, состоящей из 1,5 балла. Иммуногистохимическое выявление высокой экспрессии Ki67, TGFβ, PD-ECGF в эндометрии позволяет прогнозировать развитие лейомиом больших размеров. Исходя из вышеизложенного, следует подчеркнуть, что ИГХ определение высокой экспрессии Ki-67, TGFβ, PD-ECGF позволяет прогнозировать развитие ЛММ больших размеров.

Литература:

1. Ибрагимова Д.М., Доброхотова Ю.Э. Спорные вопросы патогенеза миомы матки и лечения больных с этим заболеванием. Российский вестник акушера-гинеколога, 2011. № 2. С. 37-43.
2. Коган Е.А., Унанян А.Л., Сидорова И.С. Клинико-морфологические параллели и молекулярные механизмы стромально-паренхиматозных взаимоотношений при миоме матки. Молекулярная медицина, 2009, №1. С. 9-15.
3. Радзинский В.Е., Тотчиев Г.Ф. Миома матки: курс на органосохранение. Информационный бюллетень М., 2014, Status Praesens. С. 24.
4. Sozen I. and A. Arici. Cellular Biology of Myomas. Interaction of Sex Steroids with Cytokines and Growth Factors. Obstetrics and Gynecology Clinics of North America 2006, 33(1):P. 41-58.
5. Ткаченко К.В. Энциклопедия клинической гинекологии. М: изд. ООО «ЛитРес» 2015, С. 62.
6. Шиляев А.Ю. Лейомиома матки (в помощь начинающему врачу). Гинекология, 2005, т.7.№ 1.С.65-70.
7. Сидорова И.С., Коган Е.А., Унанян А.Л. Клинико-морфологические параллели и молекулярные механизмы стромально-паренхиматозных взаимоотношений при миоме матки. Мол Мед. 2009;1:9-15.
8. Сидорова И.С., Шешукова Н.А., Закаблуква С.В. Патология эндометрия при наличии миомы матки. Гинекология. 2000; 8(4): 6 -10.

Информация об авторах:

Коган Евгения Александровна – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии ГБОУ Первый медицинский университет им. И.М.Сеченова.
Тел.: 8-926-533-12-71. E-mail: koganevg@gmail.com

Аскольская Светлана Ивановна – д.м.н., руководитель центра акушерства и гинекологии ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.
Тел.: 8-925-006-06-11. E-mail: askolskayas@mail.ru

Попов Юрий Вячеславович – врач отделения гинекологии ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.
Тел.: 8-910-441-64-00. E-mail: yury.popoff@gmail.com

Соломахина Марина Александровна – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии им А.И. Струкова Первого МГМУ им И.М. Сеченова.
Тел.: 8-926-492-70-66. E-mail: masolomahina@yandex.ru

Файзулина Нафиса Мануваровна – к.х.м., ст.н.с. ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова Минздрав России.