

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИОМЫ МАТКИ СРЕДИ ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

© С.М. Сафарова

ГУ «НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии» Министерства здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан

Для цитирования: Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 1. – С. 27–31. doi: 10.17816/JOWD66127-31

Поступила в редакцию: 12.12.2016

Принята к печати: 07.02.2017

■ **Введение.** Современные взгляды на этиопатогенез развития миомы матки и изучение маркеров пролиферации (Ki-67) и апоптоза (Bcl-2) позволят прогнозировать течение заболевания и оптимизировать дальнейшую тактику наблюдения и лечения пациенток. **Цель исследования** — изучить экспрессию маркера пролиферации Ki-67 и ингибитора апоптоза Bcl-2 в миоматозных узлах после консервативной миомэктомии. **Материалы и методы.** Обследовано 15 женщин с миомой матки после консервативной миомэктомии. Критерии включения: репродуктивный возраст, миома матки, размеры которой не превышали 12-недельную беременность. Критерии исключения: размер миоматозных узлов, превышающий 12 недель беременности, острые воспалительные заболевания органов малого таза, тяжелая соматическая патология, злокачественные новообразования репродуктивных органов. Гистологическое исследование миоматозных узлов выполняли по стандартной методике с обзорной окраской гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием моноклональных антител к маркеру пролиферации Ki-67 (Clone MIB-1, 1 : 150, Dako), ингибитору апоптоза Bcl-2 (NCL-bcl-2-486, Novocastra). Оценка экспрессии изучаемых маркеров проведена качественным и количественным методом с использованием системы компьютерного анализа изображений «Морфология 5.0» (ВидеоТест, Россия). Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакетов статистического анализа (STATGRAPHICS v.6.0). **Результаты.** Возраст обследованных женщин составил в среднем $33,4 \pm 4,1$ года. Гистологическое исследование доброкачественных опухолей тела матки показало наличие дистрофических изменений, наличие некрозов и воспалительной инфильтрации в каждом четвертом случае исследуемого материала. **Выводы.** Иммуногистохимическое исследование лейомиомы тела матки выявило достоверное повышение экспрессии ингибитора апоптоза Bcl-2 и снижение экспрессии рецепторов маркера пролиферации Ki-67 во всех исследуемых образцах, что согласуется с данными гистологического исследования об отсутствии митотической активности в лейомиомах.

■ **Ключевые слова:** миома матки; репродуктивный возраст; пролиферация; апоптоз.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF UTERINE FIBROIDS AMONG WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE

© S.M. Safarova

Institute of obstetrics, gynecology and perinatology Ministries of health and social defense of population of Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan

For citation: Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2017;66(1):27-31. doi: 10.17816/JOWD66127-31

Received: 12.12.2016

Accepted: 07.02.2017

■ The article deals with modern views on etiopathogenesis of uterine fibroids. Increased knowledge of the markers of proliferation and their study will help to predict the course of the disease and thus to develop the optimum tactics of the further treatment of the early stages. Much attention is paid to the study of markers that characterize apoptosis. By immunohistochemistry in tissue fibroids 15 patients studied protein expression Ki-67 and Bcl-2. Analyzed values of the correlation expression of the proteins according to the clinical and morphological features of the tumor. It showed a reduction in the proliferation marker Ki-67, and increased expression of apoptotic Bcl-2 inhibitor. **Background.** Presented by changes in the nature of proliferation and apoptotic activity in myoma nodes among women of reproductive age who underwent conservative myomectomy. **The aim** of the research was to study the performance of protein antibody Ki-67 proliferation and apoptosis inhibitor of Bcl-2 in women with uterine myoma. **Material and methods.** Surveyed 15 women with uterine fibroids who underwent conservative myomectomy. Inclusion criteria were: the reproductive age, uterine fibroids the size of which does not exceed the 12-week pregnancy. Exclusion criteria were the size of fibroids greater than 12 weeks of pregnancy, acute inflammatory diseases of the pelvic organs, severe somatic diseases, cancer of the reproductive organs.

It was carried out histological and immunohistochemical study of remote myoma node. We examined by immunohistochemistry proliferation protein monoclonal antibody Ki-67 (Clone MIB-1, 1 : 150, Dako), inhibitor of apoptosis Bcl-2 (NCL-bcl-2-486). (Novocastra). Evaluation of the expression of markers studied conducted qualitative and quantitative methods in computer image analysis system "Morphology 5.0" (Video Test, Russia). Statistical processing of the results was performed using statistical analysis packages (STATGRAPHICS v. 6.0). **Results.** Age of women surveyed averaged $33,4 \pm 4,1$ years. Histological study of benign tumors of the uterus body showed the presence of degenerative changes, necrosis and inflammatory infiltration in every fourth case of the material. **Conclusions.** Immunohistochemical study of uterine leiomyomas body revealed a significant increase in the expression of apoptosis inhibitor of Bcl-2 and reducing the proliferation marker Ki-receptor expression in all 67 tested samples, which is consistent with a histological study of the absence of mitotic activity in leiomyomas.

■ **Keywords:** uterine fibroids; reproductive age; proliferation; apoptosis.

Введение

Миома матки остается наиболее распространенным доброкачественным опухолевым процессом у женщин репродуктивного возраста. Частота данной патологии варьирует от 20 до 40 % и занимает второе место в структуре гинекологических заболеваний, кроме того, миома матки служит одной из ведущих причин гистерэктомий [1–3]. Миома матки может явиться одним из основных факторов первичного и/или вторичного бесплодия у пациенток репродуктивного возраста. Решающее значение в процессе возникновения и роста миомы матки принадлежит регуляции клеточного цикла, в частности равновесию в процессах апоптоза и пролиферации. Два этих неразделимых процесса находятся в прямой зависимости от фазы менструального цикла. Исследователи показали, что митотическая активность лейомиоматозных клеток выше в секреторную фазу цикла и прогестерон оказывает непосредственное влияние на дисбаланс запрограммированной гибели клеток и избыточной пролиферации [4, 5].

Регуляция апоптоза происходит путем взаимодействия проапоптозных и антиапоптозных генов, одними из которых являются проонкоген Bcl-2 и опухолевый супрессор p53. Повышение экспрессии Bcl-2 в клетке изменяет нормальный ход апоптоза и тем самым увеличивает длительность жизни данной клетки. Рост опухоли может быть связан как с избыточной пролиферацией, так и с низким индексом гибели клеток. Маркер пролиферативной активности Ki-67 и маркер апоптоза Bcl-2 остаются одним из наиболее важных для диагностики гиперпластических процессов эндо- и миометрия [2, 7–12].

Исследователи показывают, что экспрессия Bcl-2 в лейомиоме значительно выше по сравнению с интактным миометрием, при этом экспрессия Ki-67 в 3 раза, а в пролиферирующей

миоме в 70 раз выше, чем в нормальном миометрии. Подобные данные указывают на высокий пролиферативный потенциал растущих миоматозных узлов, несмотря на низкую митотическую активность ядер лейомиоматозных волокон, выявленную при гистологическом исследовании [13–16].

Таким образом, процессы апоптоза и пролиферации в лейомиоме являются основными молекулярными механизмами, отражающими усиленный рост опухоли вследствие дисхронизации клеточного цикла.

Материал и методы

В исследование были включены 15 пациенток от 29 до 45 лет, которым была проведена консервативная миомэктомия в гинекологическом отделении ГУ «НИИ АГ и ПРТ» в 2014–2015 гг. Критерии включения в исследование: миома матки размером до 12-недельной беременности, с субсерозной и субмукозной локализацией. Критерии исключения: острые воспалительные заболевания органов малого таза, тяжелая соматическая патология, злокачественные новообразования репродуктивных органов.

Впервые в Республике Таджикистан было проведено иммуногистохимическое исследование показателей пролиферативной и антиапоптозной активности (Ki-67 и Bcl-2) в лейомиомах матки. Иммуногистохимическое исследование проведено в отделе патоморфологии ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Россия, Санкт-Петербург.

Гистологический метод исследования. После миомэктомии материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального забуференного формалина в течение 24–48 часов. Далее образцы обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (70–95 %), помещали в ксилол и заливали в парафин с помощью автоматической станции Leica TP1020. Для гистологического исследования готовили парафиновые срезы

толщиной 3–7 мкм. Для обзорной окраски использовали гематоксилин и эозин. При световой микроскопии с помощью микроскопа Olympus CX-31 оценивали гладкомышечный и сосудистый компонент лейомиомы, выявляли дистрофические, некротические и воспалительные изменения в опухолях.

Имуногистохимический метод исследования. Для изучения пролиферативной активности клеток использовали моноклональные антитела протеина пролиферации Ki-67 (Clone MIB-1, 1 : 150, Dako), ингибитор апоптоза Bcl-2 (NCL-bcl-2-486) (Novocastra). Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах. Срезы ткани толщиной 5 мкм помещали на предметные стекла, покрытые пленкой из поли-L-лизина (Sigma). В качестве системы визуализации использовали набор Dako Cytomation LSAB2 System-HRP (Dako), в качестве позитивного контроля для Ki-67 — слизистую оболочку толстой кишки. Негативный контроль выполнен с применением блокирующей сыворотки (DAKO LSAB2 kit). Для проведения иммуногистохимической реакции использовали стандартный одноэтапный протокол с демаскировкой антигена (высокотемпературной обработкой ткани) в 0,01 М цитратном буфере pH 7.6. Методика для визуализации иммуногистохимической реакции выполнялась по стандартной методике [18].

Количественная оценка результатов исследования. Для оценки результатов иммуногистохимического окрашивания проводили морфометрическое исследование с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Olympus, цифровой камеры Olympus-BX46 и программного обеспечения CellSens Entry. В каждом случае анализировали 5 полей зрения при увеличении $\times 400$ (Автандилов Г.Г., 2006). Из фотосъемки исключались поля зрения, содержащие дефекты ткани, дефекты окрашивания и артефакты. Дальнейшее количественное исследование проводили с помощью программы компьютерного анализа изображений «Морфология 5.0» (ВидеоТест, Россия). При наличии положительной реакции на антитела было измерено два параметра: оптическая плотность и площадь экспрессии. Оптическая плотность выражалась в усл. ед. Площадь экспрессии рассчитывали как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения и выражали в процентах для маркеров с цитоплаз-

матическим окрашиванием и как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными ядрами, к общей площади ядер в поле зрения для маркеров с ядерной экспрессией.

Результаты гистологического и иммуногистохимического исследования

Из 15 исследованных образцов доброкачественной опухоли гладкомышечной дифференцировки в 13 случаях определялась лейомиома матки, в 1 случае — фибромиома тела матки и в 1 случае — аденомиома тела матки.

Во всех исследуемых 13 случаях лейомиома тела матки имела типичное строение с наличием разнонаправленных пучков веретенообразных клеток с удлинёнными «сигарообразными» ядрами и митотическим индексом 0.

В 4 случаях (30,1 %) в ткани лейомиомы присутствовали очаги разрастания рыхлой соединительной ткани умеренной (3 случая) и выраженной степени (1 случай). Следует отметить, что в 3 случаях, помимо наличия рыхлой соединительной ткани, выявлялся очаговый умеренно выраженный отек и в 1 случае присутствовал очаг некроза опухоли с наличием крупноочаговой экссудативной и смешанно-клеточной инфильтрации.

В 4 случаях (30,1 %) от общего числа исследуемого материала определялись очаги асептического некроза в лейомиоме, в 1 случае были выявлены выраженные некротические изменения ткани.

Во всех исследуемых образцах присутствовала преимущественно умеренная степень васкуляризации лейомиомы с наличием сосудов артериального и венозно-капиллярного типа с умеренным кровенаполнением сосудистого русла. Однако в 3 случаях (23,0 %) отмечалась гипертрофия сосудов ткани опухоли с наличием очагов кровоизлияний и в 1 случае с обилием гемосидерофагов.

Строение аденомиомы характеризовалось наличием желез эндометриоидного типа среди разрастания волокон лейомиомы. Железы имели периферическое и центральное расположение, одиночные без явлений аденоматоза. Железы полиморфного строения: от мелких до крупных с эктазированным просветом. Железы выстланы эпителием эндометриоидного типа со слабыми неравномерно выраженными секреторноподобными изменениями. Перигландулярно отмечались скудная круглоклеточная инфильтрация и единичные очаги кровоизлияний. Строма опухоли с неравно-

Экспрессия Bcl-2 и Ki-67 в лейомиоме

Таблица 1

Expression of Bcl-2 and Ki-67 in leiomyoma

Table 1

Маркер	Площадь экспрессии (%)	Оптическая плотность (усл. ед.)
Экспрессия Ki-67	3,63 ± 0,97	0,15 ± 0,01
Экспрессия Bcl-2	7,63 ± 1,06**	0,09 ± 0,01*

* $p < 0,05$ **; $p < 0,01$ внутри групп

мерно выраженным отеком умеренной степени и единичным крупным очагом скопления эозинофилов.

Фибромиома характеризовалась перемежающимися участками разрастания гладкомышечных волокон с веретенообразными клетками и волокон фиброзной ткани с участками дистрофических изменений. Дистрофические изменения, некрозы и воспалительная инфильтрация были выявлены в каждом четвертом случае исследуемого материала.

Экспрессия ингибитора апоптоза Bcl-2 и маркера пролиферации Ki-67 была положительная во всех образцах. Результаты иммуногистохимического исследования маркеров представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы, площадь экспрессии ингибитора апоптоза Bcl-2 была достоверно выше ($p < 0,01$), а оптическая плотность достоверно ниже ($p < 0,05$) по сравнению с экспрессией маркера пролиферации Ki-67 в ткани опухоли.

Выводы

Миома матки представляет собой результат гиперпластических процессов в клетках миометрия вследствие эндокринных нарушений и изменения молекулярных взаимодействий в клетке с дисбалансом механизмов апоптоза, пролиферации и ангиогенеза [4]. Этиология развития миомы матки мультифакторная, что и объясняет разнородность опухоли по морфологическим особенностям, локализации и характеру роста. Миома матки служит частой причиной бесплодия, а в случае наступления беременности сопровождается осложнениями течения беременности и родов. Нарушение репродуктивной функции у пациенток обусловлено не только наличием опухолевого образования, но и длительно текущим эстрогензависимым воспалением в эндометрии [8, 17].

Результаты морфологического исследования лейомиомы тела матки выявили наличие дис-

трофических изменений в 25 % исследуемого материала и преобладание процессов апоптоза над процессами пролиферации, что в свою очередь указывает на длительно существующий и доброкачественно протекающий опухолевый процесс в матке. Разнородность процессов апоптоза характеризует разную степень зрелости узлов, вероятность регресса узлов, доброкачественное течение опухолевого процесса, а также вероятность рецидивов [1].

Литература

1. Тихомиров А.Л. Миома, патогенетическое обоснование органосохраняющего лечения. – М., 2013. [Tihomirov AL. Mioma, patogeneticheskoe obosnovanie organosohranjajushhego lechenija. Moscow, 2013. (In Russ.)]
2. Khan AT, Shehmar M, Gupta JK. Uterine fibroids: current perspectives. *Int J Womens Health*. 2014;6:95-114. doi: 10.2147/IJWH.S51083.
3. Engman M, Granberg S, Williams AR, et al. Mifepristone for treatment of uterine leiomyoma. A prospective randomized placebo controlled trial. *Hum Reprod*. 2009;24(8):1870-9. doi: 10.1093/humrep/dep100.
4. Радзинский В.Е., Архипова М.П. Миома матки: проблемы и перспективы начала века // Медицинский совет. – 2014. – № 9. – С. 30–33. [Radzinskij VE, Arhipova MP. Mioma matki: problemy i perspektivy nachala vek. *Medicinskij sovet*. 2014;(9):30-33. (In Russ.)]
5. Сидорова И.С., Коган Е.А., Зайратьянц О.В., и др. Роль процессов апоптоза и пролиферации в патогенезе простой и пролиферирующей миомы матки в сочетании с аденомиозом // Врач. – 2006. – № 14. – С. 8–12. [Sidorova IS, Kogan EA, Zajrat'janc OV, et al. Rol' processov apoptoza i proliferirujushhej miomy matki v sochetanii s adenomiozom. *Vrach*. 2006;(14):8-12. (In Russ.)]
6. Вихляева В.М. Руководство по диагностике и лечению лейомиомы матки. – М.: Медпресс-информ, 2004. [Vihljaeva VM. Rukovodstvo po diagnostike i lecheniju leiomiomy matki. Moscow: Medpress-inform; 2004. (In Russ.)]

7. Сидорова И.С. Миома матки: современные аспекты этиологии, патогенеза, классификации и профилактики. – М.: МИА, 2003. [Sidorova IS. Mioma matki: sovremennye aspekty jetiologii, patogeneza, klassifikacii i profilaktiki. Moscow: MIA; 2003. (In Russ.)]
8. Толибова Г.Х. Сравнительная оценка морфологических критериев эндометриальной дисфункции у пациенток с первичным бесплодием, ассоциированным с воспалительными заболеваниями малого таза, наружным генитальным эндометриозом и миомой матки // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – № 6. – С. 45–51. [Tolibova GK. Comparative evaluation of morphological criteria of endometrial dysfunction in patients with infertility associated with pelvic inflammatory disease, external genital endometriosis and uterine myoma. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2016;(6):45-51. (In Russ.)]
9. Чепик О.Ф. Морфогенез гиперпластических процессов эндометрия // Практ. онкол. – 2004. – № 1. – С. 9–15. [Chepik OF. Morfogenez giperplasticheskikh processov jendometrija. *Prakt. onkol.* 2004;(1):9-15. (In Russ.)]
10. Khan KN, Kitajima M, Hiraki K, et al. Changes in tissue inflammation, angiogenesis and apoptosis in endometriosis, adenomyosis and uterine myoma after GnRH agonist therapy. *Hum Reprod*. 2010;25(3):642-53. doi: 10.1093/humrep/dep437.
11. Kim MD, Kim S, Kim NK, et al. Long term results of UAE for symptomatic adenomyosis. *Am J Roentgenol*. 2007;188(1):176-81. doi: 10.2214/AJR.05.1613.
12. Lohle PN, De Vries J, Klazen CA, et al. Uterine artery embolization for symptomatic adenomyosis with or without uterine leiomyomas with the use of calibrated tris-acryl gelatin microspheres: mid-term clinical and MR imaging follow-up. *J Vasc Interv Radiol*. 2007;18(7):835-41. doi: 10.1016/j.jvir.2007.04.024.
13. Бохман Я.В., Рыбин Е.П. Полинеоплазии органов репродуктивной системы. – СПб.: Нева, 2001. [Bohman JaV, Rybin EP. Polineoplazii organov reproduktivnoi sistemy. Saint Petersburg: Neva; 2001. (In Russ.)]
14. Литвинова Н.А. Состояние эндометрия у больных с сочетанной патологией эндо- и миометрия, перенесших эмболизацию маточных артерий в перименопаузальном возрасте: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2009. [Litvinova NA. Sostojanie jendometrija u bol'nyh s sochetannoju patologiej jendometrija i miometrija, perenessih jemboлизацию matochnyh arterij v premenopauzal'nom vozraste [dissertation]. Saint Petersburg; 2009. (In Russ.)]
15. Пасюк О.В. Гиперпластические процессы эндометрия у женщин репродуктивного возраста. Оптимизация диагностики и терапии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Челябинск, 2004. [Pascjuk OV. Giperplasticheskie processy jendometrija u zhenshhin reproduktivnogo vozrasta. Optimizacija diagnostiki i terapii [dissertation]. Cheljabinsk; 2004. (In Russ.)]
16. Plewka A, Plewka D, Madej P, et al. Processes of apoptosis and cell proliferation in uterine myomas originating from reproductive and perimenopausal women. *Folia Histochem Cytobiol*. 2011;49(3):398-404.
17. Штох Е.А., Цхай В.Б. Миома матки. Современное представление о патогенезе и факторах риска // Сибирское медицинское обозрение. – 2015. – № 1. – С. 22–27. [Shtoh EA, Chaj VB. Mioma matki. Sovremennoe predstavlenie o patogeneze i faktorah riska. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie*. 2015;(1):22-27. (In Russ.)]
18. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. – Казань, 2004. – 452 с. [Petrov SV, Rajhlin NT. Rukovodstvo po immunogistohimicheskoj diagnostike opuholej cheloveka. Kazan'; 2004. (In Russ.)]

■ Адрес автора для переписки (*Information about the author*)

Саодат Махмадуллоевна Сафарова — аспирант. ГУ «Таджикский научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и перинатологии». Республика Таджикистан, Душанбе. **E-mail:** mahmadulloevas@gmail.com.

Saodat M. Safarova — graduate student. The Tajik Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Perinatology. Dushanbe, Tajikistan. **E-mail:** mahmadulloevas@gmail.com.