



В.Е. Радзинский¹, М.Л. Ханзадян¹, Т.А. Демура², Р. Коннон¹

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ КОЛЛАГЕНОВ I И III ТИПОВ И ЭЛАСТИНА В СВЯЗОЧНОМ АППАРАТЕ МАТКИ ПРИ ПРОЛАПСАХ ГЕНИТАЛИЙ (ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ)

¹Российский университет дружбы народов,
кафедра акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФПК МР.
117198 г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.8. E-mail:khmala@rambler.ru

²Первый МГМУ им. И.М.Сеченова,
кафедра патологической анатомии им. академика А.И.Струкова.
Россия, Москва, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8.

Цель: изучение молекулярных и биохимических изменений, лежащих в основе ПГ, а также иммуногистохимических особенностей накопления коллагенов I и III и эластина в крестцово-маточной и круглой связках матки при ПГ.

Материалы и методы: обследовано 15 пациенток в возрасте от 42 до 65 лет с полным и неполным выпадением матки и стенок влагалища, которым проводилась гистерэктомия влагалищным доступом. Контрольную группу составили 15 женщин в возрасте от 35 до 52 лет без признаков ПГ, которым проводилась гистерэктомия абдоминальным доступом по поводу миомы матки, аденомиоза, патологии эндометрия. Все пациентки были сопоставимы по паритету родов. В группах оценивали результаты морфологического и иммуногистохимического исследования биоптатов крестцово-маточных и круглых связок.

Ключевые слова: пролапс гениталий, дисфункция тазовых органов, эластические волокна, коллаген, связочный аппарат матки.

V. E. Radzinskiy¹, M. L. Khanzadyan¹, T. A. Demura², R. Connon¹

THE PECULIARITIES OF ACCUMULATION OF COLLAGENS I AND III TYPES AND ELASTIN IN THE LIGAMENTS OF THE UTERUS WHEN THE PROLAPSE GENITALI (IMMUNOHISTOCHEMISTRY)

¹Russian peoples friendship University,
Department of obstetrics, gynecology and reproductive medicine FPC MR
8. Miklouho-Maclay st., 117198, Moscow, Russia. E-mail:khmala@rambler.ru.
²GBOU VPO First MG MU them. I. M. Sechenov Moscow medical Academy,
Department of pathological anatomy to them. academician A. I. Strukova, Moscow.
8 Trubetskaya st., 119991, Moscow, Russia.

Purpose: to study the molecular and biochemical changes underlying the PG and immunohistochemical characteristics of accumulation of collagens I and III and elastin in the sacro-uterine and round ligaments of the uterus at PG.

Materials and methods: the examined 15 patients aged from 42 to 65 years with full and partial prolapse of the uterus and vaginal walls, which have had a hysterectomy vaginal access. The control group consisted of 15 women ranging in age from 35 to 52 years with no signs of GHGs, which have had a hysterectomy abdominal access for uterine fibroids, adenomyosis, endometrial pathology. All patients were comparable in parieto birth. In the groups evaluated the results of morphological and immunohistochemical research biopsies of the sacro-uterine and round ligaments.

Key words: prolapse of genital organs, dysfunction of pelvic organs, elastic fibers, collagen, ligaments of the uterus.



Введение

Пролапс гениталий (ПГ) представляет собой серьезную медико-социальную проблему здравоохранения. Распространенность ПГ достаточно велика и варьируется от 8% до 56,3% [1]. В структуре гинекологических заболеваний в России ПГ занимает одно из первых мест, что составляет 28-38,9%. В структуре плановых показаний к оперативному лечению выпадение матки и влагалища занимает третье место после доброкачественных опухолей и эндометриоза.

Лечение ПГ, в основном, хирургическое, связанное с коррекцией анатомических дефектов связочного аппарата малого таза. Каждый год в США 300-400 тыс. женщин требуются хирургическое лечение ПГ, а материальные затраты оцениваются в 1 млрд долларов в год. Ежегодно 200 тыс. женщин в США подвергаются хирургической коррекции пролапса, а, по данным ВОЗ, к 80 годам жизни 11,1% американок будут прооперированы именно в связи с развитием данной патологии, причем в 30% случаев с повторными операциями [2].

Следующей проблемой, связанной с ПГ, являются частые рецидивы (33-61,3%), развивающиеся в первые 3 года после оперативного лечения [3].

Наблюдается тенденция к омолаживанию заболевания. Так, если несколько десятков лет назад опущение и выпадение половых органов рассматривалось как патологический процесс, типичный для пожилых женщин, то современные исследования показали, что пациентки репродуктивного возраста составляют не менее одной трети [4].

Демографические исследования показывают, что у 30-40% женщин в США есть пролапс тазовых органов, который может не проявляться, т.е. протекает бессимптомно. Но чаще пролапс сопровождается дисфункцией тазовых органов, среди которых наиболее часты недержание мочи (70,1%), нарушение дефекации (36,5%), диспареуния (53,3%). Такие симптомы приводят к тяжелым физическим и моральным страданиям, в конечном счете, существенно ухудшая качество жизни у данного контингента населения [5].

До настоящего времени нет четкого представления об этиологии ПГ. Ряд авторов считает, что одним из главных факторов являются роды через естественные родовые пути, количество родов, а также вес новорожденного. К другим факторам риска относятся старший возраст, гистерэктомия или операция по поводу ПГ, а также состояние постменопаузы [2].

Помимо акушерских причин факторами риска ПГ являются любые состояния, приводящие к резкому повышению внутрибрюшного давления: болезни кишечника и легких, сопровождающиеся хроническими запорами и кашлем, тяжелый физический труд, менопауза, гипострогенные состояния, неврогенные дисфункции тазового дна, метаболический синдром, этническая принадлежность [2].

ПГ, вероятно, является мультифакториальным заболеванием, предположительно, с генетическим полигенным типом наследования. Бухсбаум с соавт. (2006) обнаружил сильную конкорданцию признаков различных стадий ПГ у нерожавших и рожавших сестер, что косвенно подтверждает наследственную предрас-

положенность [6]. Более того, на наследственную предрасположенность заболевания указывают результаты исследования экспрессии 33 генов у пациенток с ПГ, в котором выявлено увеличение экспрессии последних [7].

Заболевание отмечается и у нерожавших женщин, а отсутствие состояния было подтверждено у многих неоднократно рожавших женщин. Значительную роль в генезе ПГ у молодых женщин играют нарушения в метаболизме соединительной ткани [5]. Изменения компонентов экстрацеллюлярного матрикса связочного аппарата матки и стенки влагалища могут приводить к развитию ПГ [7]. По данным Смольновой Т. Ю., главным патогенетическим фактором развития ПГ является дисплазия соединительной ткани [5]. Автором подтверждено, что у определенной категории больных роды являются лишь пусковым фактором в развитии ПГ, а ведущей причиной формирования заболевания у женщин репродуктивного возраста после единственных неосложненных родов при адекватном гормональном фоне, которые помимо опущения половых органов страдают варикозной болезнью, спланхноптозом, астеновегетативными проявлениями, склонностью к образованию грыж различной локализации, является дисплазия соединительной ткани [5]. В работах ряда авторов показано, что опущение и полное выпадение внутренних половых органов у женщин является «частным» проявлением дисплазии соединительной ткани (ДСТ), причем как дифференцированной, так и недифференцированной форм. Признаки дисплазии соединительной ткани выявляются у 78,8-98,3% пациенток с ПГ [11].

Большинство исследований патогенеза ПГ сосредоточено на анализе компонентов соединительной ткани и основано на гипотезе, согласно которой аномальные соединительные ткани тазового дна ассоциированы с ПГ в качестве причины или следствия. Коллаген и эластин являются двумя основными белками, входящими в состав экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) соединительной ткани. Коллаген отвечает за прочность на разрыв и целостность, тогда как эластин обеспечивает эластичность и упругость тканей. Основными компонентами соединительной ткани связочного аппарата малого таза являются коллагены I и III типа. Ряд биохимических исследований показывает значимость в ПГ изменения количества и соотношения данных видов коллагенов. Несмотря на противоречивые данные, в целом, у пациентов с ПГ отмечается снижение содержания общего коллагена с более высоким показателем коллагена III типа и незрелого коллагена, более подверженного разрыву.

Важное значение в патогенезе ПГ имеет содержание коллагена III типа, что подтверждается также и рядом генетических исследований, выявивших наличие полиморфизма гена COL3A1 у пациенток с пролапсом [8]. Изменение в коллагеновом каркасе связочного аппарата матки, по мнению ряда авторов, приводит к ослаблению соединительной ткани и развитию перерастяжения связок и, как следствие, к ПГ.

Подобно коллагену общее содержание эластина, по всей видимости, снижается в тканях тазового дна у



женщин с ПГ. Ямамото и соавт. (2004) считают важным патогенетическим фактором развития ПГ нарушение метаболизма эластина, что подтверждается снижением транскрипции гена эластина и синтеза белка в фибробластах у данной группы пациенток. В экспериментальных работах на крысах с поврежденными генами, ответственными за синтез эластических волокон, - LOXL-1 и fibulin-5 - развивается пролапс именно из-за нарушения эластического каркаса связок [9].

Необходимо подчеркнуть, что методики, используемые для измерения содержания коллагена и эластина, варьируют от исследования к исследованию. Кроме того, изучались различные структуры и места забора биопсийных образцов тазового дна (стенка влагалища, arcus tendineus fascia pelvis, парауретеральные ткани, параметрий и маточно-крестцовые связки), что может объяснять многочисленные расхождения и противоречия в литературе. Понимание патогенетических механизмов пролапса позволит разработать не только таргетную терапию, но и выявлять группы риска по развитию такого важного медико-социального заболевания. Тем не менее, отсутствие представлений о патогенезе, особенностях структурно-метаболических, генетических особенностей ПГ актуализирует проблему пролапса и его рецидивирования как генетически обусловленного процесса, существенно определяемого особенностями структурно-метаболических характеристик соединительнотканых структур, участвующих в формировании ПГ.

Цель исследования - изучение молекулярных и биохимических изменений, лежащих в основе ПГ, а также иммуногистохимических особенностей накопления коллагенов I и III и эластина в крестцово-маточной и круглой связках матки при ПГ.

Материалы и методы

Сравнивали образцы крестцово-маточных и круглых связок женщин с пролапсом гениталий с образцами круглых и крестцово-маточных связок женщин из группы контроля без пролапса гениталий.

Обследовано 30 женщин в возрасте от 35 до 65 лет. Все женщины основной и контрольной группы имели роды в анамнезе. Количество родов в группах было приблизительно одинаково. Всем пациенткам проводилась гистерэктомия. В основной группе 15 пациенток в возрасте от 42 до 65 лет с полным и неполным выпадением матки и стенок влагалища, которым проводилась гистерэктомия влагалищным доступом. Сопутствующая гинекологическая патология у больных с пролапсом гениталий представлена миомой матки, аденомиозом, гиперплазией эндометрия.

Степень выраженности пролапса гениталий оценивалась по классификации POP-Q (pelvic organ prolapse quantification), предложенной Международным обществом по удержанию мочи (ICS) в 1996 году.

Контрольную группу составили 15 женщин в возрасте от 35 до 52 лет без признаков ПГ, которым проводилась гистерэктомия абдоминальным доступом по по-

воду миомы матки, аденомиоза, патологии эндометрия.

Критерием исключения явились злокачественные и аутоиммунные заболевания в анамнезе.

От каждой пациентки было получено по 4 образца ткани: правая и левая крестцово-маточная связка и правая и левая круглая связка матки. Биоптаты фиксировались в 10%-ном нейтральном формалине и заливались в парафин, после чего изготавливались парафиновые срезы толщиной 4 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону и фукселином по Вейгерту. Изготавливались дополнительные неокрашенные срезы на полилизинных стеклах и проводились иммуногистохимические реакции по стандартной методике с тепловой демаскировкой антигенов с использованием первичных антител к коллагену I и III (NovusBiologicus, 1:100 и 1:200) и эластину (ThermoScientific, 1:100). Результаты иммуногистохимических реакций оценивали в баллах по проценту окрашенных клеток или окрашенного ЭЦМ.

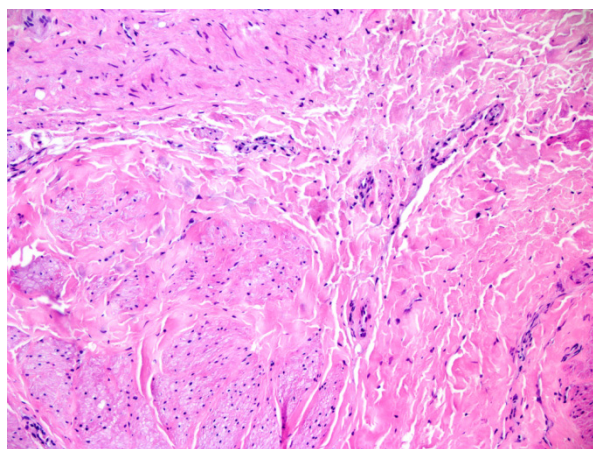
Результаты и обсуждение

В результате клинко-анамнестического и инструментального исследования у пациенток основной группы выявлялись признаки ДСТ в 67% случаев (варикозное расширение вен, пролапс митрального клапана, сколиоз, гипермобильность суставов, миопия, подвывих хрусталика), тогда как в контрольной группе лишь в 4 случаях выявлен пролапс митрального клапана и в 2-х случаях варикозное расширение вен.

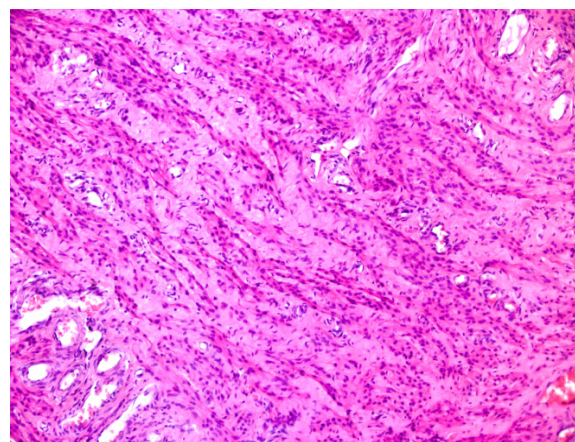
При морфологическом исследовании крестцово-маточных и круглых связок выявлено, что они построены преимущественно из фиброэластической ткани с включениями гладкомышечной и сосудистой. Различий в строении связок между правой и левой стороной выявлено не было, что позволило проводить дальнейшие иммуногистохимические реакции на образцах связок, взятых только с одной стороны.

Выявлены отличия гистологического строения связочного аппарата матки при ПГ и без него. Так при пролапсе отмечается преобладание фиброизирования соединительной ткани, наличие более грубых коллагеновых септ между пучками гладкомышечных волокон, а также дистрофические изменения отдельных гладкомышечных клеток. Кроме того, в 4 случаях было обнаружено развитие отека, набухания соединительной ткани (коллагеновых волокон) по типу дезорганизации, а также выраженный периваскулярный отек. У женщин с пролапсом отмечается менее развитое сосудистое русло в связках (рис. 1 а, б).

При оценке эластических волокон с помощью гистохимической окраски фукселином по Вейгерту выявлено не только уменьшение количества эластических фибрилл в крестцово-маточных и круглых связках матки с обеих сторон (рис. 2), но и появление их фрагментации. В группе контроля отмечалось равномерное распределение эластика в связках вдоль коллагеновых волокон, в стенках сосудов, а также отмечалось отсутствие их фрагментации (рис. 3).



а



б

Рис. 1 Микрофотография строения крестцово-маточных связок, гематоксиллин и эозин, основной (а, х200) и контрольной группы (б, х200).

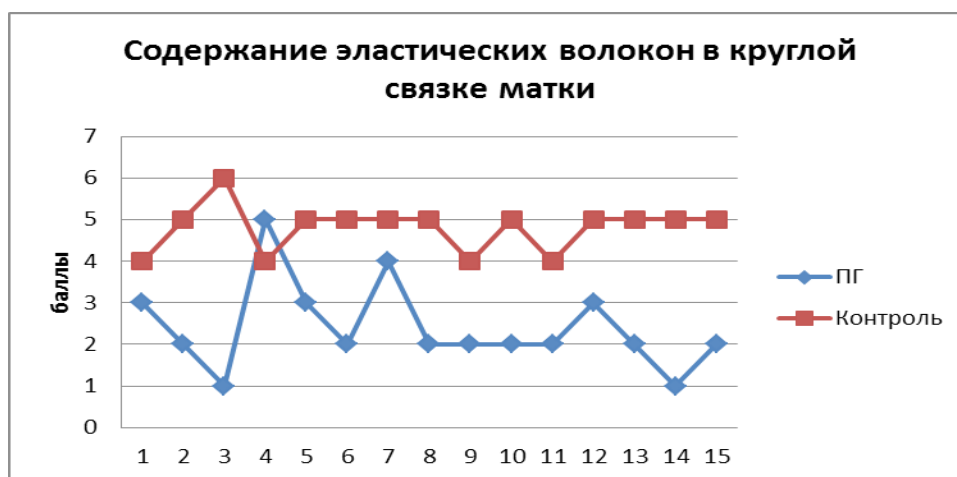


Рис. 2

Соотношение сохранных и фрагментированных эластических волокон в круглой связке матки

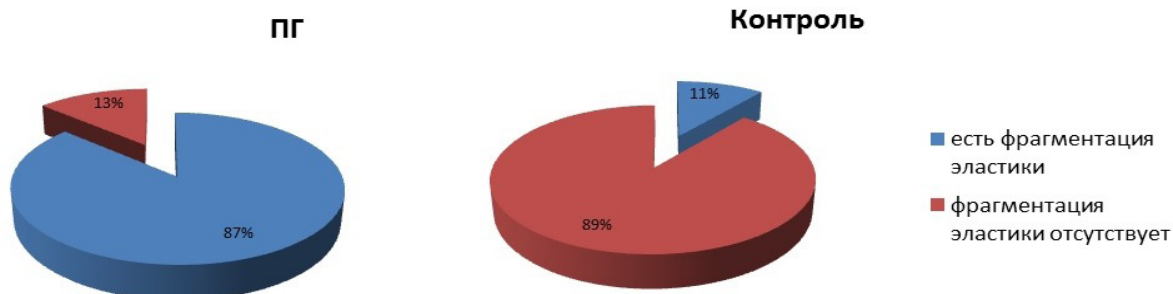


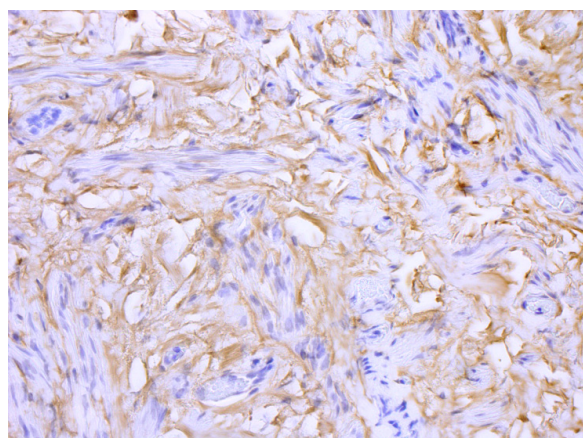
Рис. 2



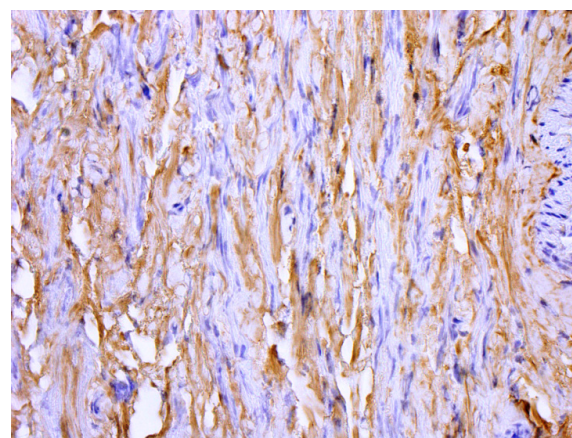
В результате иммуногистохимического исследования экспрессии коллагенов I и III типа выявлено их высокое содержание в крестцово-маточных и круглых связках матки в группе контроля (5 и 5 баллов соответственно) и умеренное в группе с ПГ (3 и 5 баллов соответственно) (рис. 4 а, б). При пролапсе изменяется соотношение коллагенов в сторону преобладания коллагена III типа, что отличается от показателей в контрольной группе.

При изучении накопления эластина выявлена умерен-

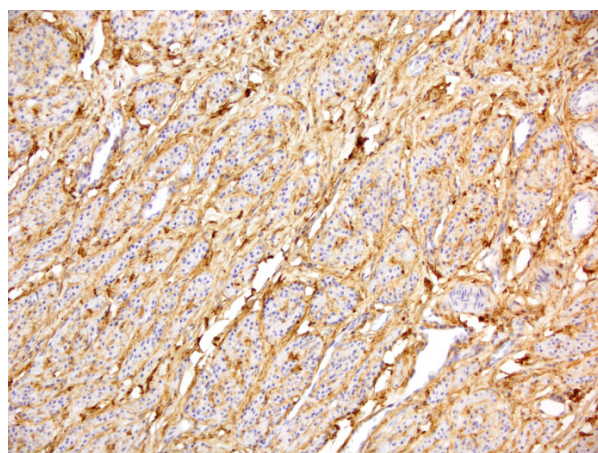
ная экспрессия маркера при ПГ и высокая без него (рис. 4 в). Установлены различия локализации и характера распределения эластина: при ПГ отмечается очаговая локализация маркера в виде глыбок в ЭЦМ и преимущественно вокруг сосудов (рис. 4), в связках женщин контрольной группы маркер выявлялся в виде линейного и равномерного прокрашивания волокон ЭЦМ, а также вдоль стенок сосудов. Полученные различия свидетельствуют о нарушении синтеза эластических волокон при ПГ.



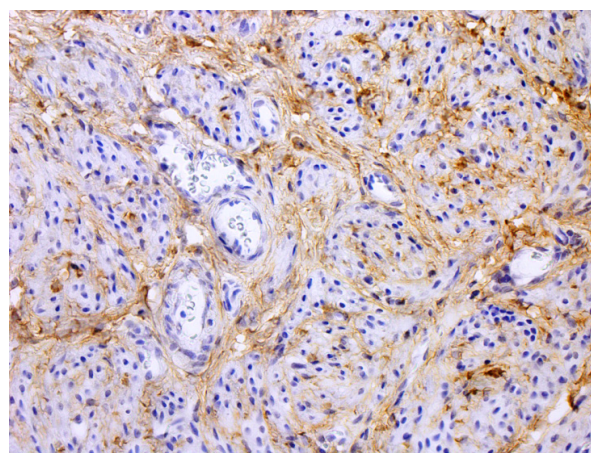
а



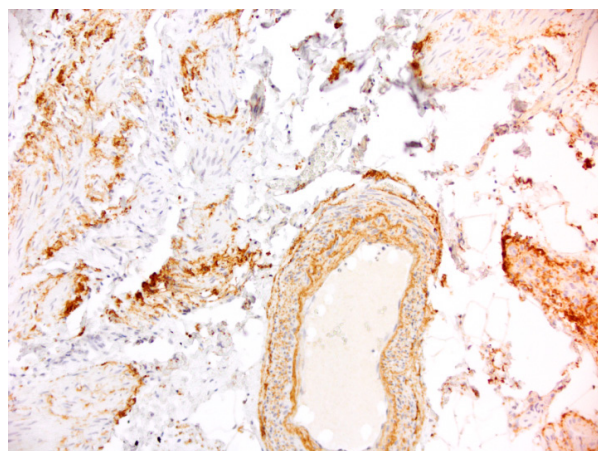
б



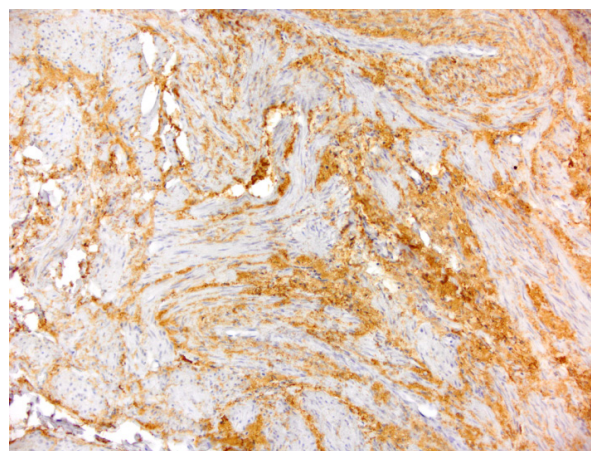
в



г



д



е

Рис.4. Коллаген I и III типа и эластин в крестцово-маточных связках основной и контрольно группы: а - коллаген I в основной группе, x200; б - коллаген I в контрольной группе, x200; в - коллаген III, в основной группе, x200; г - коллаген III в контрольной группе, x200; д - эластин в основной группе, x400; е - эластин в контрольной группе, x200.



Таким образом, при ПГ отмечается изменение, по сравнению с контрольной группой, морфологического строения связочного аппарата матки проявляющееся в развитии фиброобразования и отека в ЭЦМ, в дистрофических изменениях гладкомышечных клеток, а также снижении количества сосудов. Кроме того, в связочном аппарате матки развивается разрыхление соединительной ткани, проявляющееся ее дезорганизацией, характерной для дисплазии соединительной ткани [10]. Обнаружение морфологических признаков недифференцированной дисплазии соединительной ткани у пациенток основной группы подтверждается и результатами клинического исследования.

Развитие ПГ является следствием изменения компонентов ЭЦМ связочного аппарата. У пациенток с ПГ выявлено нарушение соотношения коллагенов I и III типа в сторону преобладания последнего, относящегося к группе эмбриональных белков. Наши данные совпали с исследованиями ряда авторов, обнаруживших снижение коллагена I типа при ПГ, а также изменение их соотношения [5].

Особая роль в патогенезе ПГ отводится снижению количества и изменению качества эластических волокон с развитием их фрагментации, что также подтверждается данными гистохимического исследования с окрашиванием материала фукселином, иммуногистохимического исследования с эластином. В основной группе эластин выявляется в виде небольших глыбок в ЭЦМ, тогда как в контроле отмечается его накопление по ходу коллагеновых волокон. Ослабление эластического каркаса обу-

словливает чрезмерную растяжимость круглых и крестцово-маточных связок, что приводит к развитию ПГ [11]. Кроме того, нарушение в распределении и строении эластических волокон отрицательно сказывается на развитии сосудистого русла, что приводит к ухудшению микроциркуляции, развитию ишемии в ткани, и как следствие, к дезорганизации соединительной ткани.

В исследовании Ящук А. Г. установлено, что постгистерэктомический ПГ зачастую сочетается с признаками дисплазии соединительной ткани, а важную патогенетическую роль в развитии пролапса играют гены коллагена Col3A1, VDR, полиморфизм которых выявлен при ПГ и также сочетается с высоким риском рецидивов [12].

Выводы

При ПГ у пациенток обнаруживаются морфологические признаки недифференцированной дисплазии соединительной ткани в круглых и крестцово-маточных связках, тогда как клинические признаки выявляются только лишь в 67% случаев. Изменение соотношения коллагенов I и III типа, снижение экспрессии эластина также являются косвенными признаками системной патологии соединительной ткани. Таким образом, для прогнозирования развития и рецидивирования ПГ пациенток следует обследовать на наличие недифференцированной дисплазии соединительной ткани, а пациентки с измененным соотношением коллагенов I и III типа, сниженной экспрессией эластина попадают в группу риска развития такого серьезного медико-социального заболевания, как ПГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Buchsbaum G.M. Pelvic organ prolapse in nulliparous women and their parous sisters / G.M.Buchsbaum, E.E. Duecy, L.A. Kerr et al. // *Obstetrics and gynecology*.- 2006.- V.108, № 6.- P. 1388-1393.
2. Chow D. Epidemiology and prevalence of pelvic organ prolapse / D. Chow, L.V. Rodriguez // *Current opinion in urology*.- 2013.- V.23(4).- P. 293-298.
3. Dal Moro F. Incidence of de novo stress incontinence after vaginal repair for pelvic organ prolapse / F. Dal Moro, L. Frazza, L. Angelini, F. Zattoni // *European J. Obstetr. Gynec. reproductive biology*.- 2103.- V. 171(1).- P. 189-190.
4. Liu X. Elastic fiber homeostasis requires lysyl oxidase-like 1 protein / X. Liu, Y. Zhao, J. Gao J. et al. // *Nature genetics*.- 2004.- V. 36(2).- P. 178-182.
5. Myung J.J., Sue M.C., R.C. J. The Relationship Between COL3A1 Exon 31 Polymorphism and Pelvic Organ Prolapse. *The Journal of urology*. 2009;181:1213-1216.
6. Tseng L.H. Genome-based expression profiles study for the pathogenesis of pelvic organ prolapse: an array of 33 genes model / L.H. Tseng, I. Chen, Y.H. Lin et al. // *International urogynecology journal*. Jan 2010;21(1): P.79-84.
7. Zhao B.H. Decreased expression of elastin, fibulin-5 and lysyl oxidase-like 1 in the uterosacral ligaments of postmenopausal women with pelvic organ prolapse / Zhao B.H., Zhou J.H. // *J. Obstetr. Gynaec. Res.*- 2012.- V. 38(6).- P. 925-931.
8. Демур Т.А. Клинико – морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика миометрия при несостоятельности рубца матки после КС у женщин с признаками недифференцированной формы дисплазии соединительной ткани / Т.А. Демур, Е.А. Коган, А.Е. Донников и др. // *Архив патологии*.- 2012.- № 4.- С. 18-21.
9. Радзинский В.Е. Перинеология / В.Е. Радзинский.- М.: МИА, 2010.- 372 с.
10. Салимова Л.Я. Диагностическая значимость дополнительных инструментальных методов обследования пациенток с пролапсом гениталий / Л.Я. Салимова, О.Н. Шалаев, С.А. Парсаян, Р.З. Омарова // *Вестник РУДН, серия Медицина*.- 2013.- № 5.- С. 164-169.
11. Смольнова Т.Ю. Клинико-патогенетические аспекты опущения и выпадения внутренних половых органов и патологии структур тазового комплекса у женщин при дисплазии соединительной ткани. Тактика ведения: дисс. ... докт.мед. наук / Т.Ю. Смольнова.- М., 2009.- 221 с.
12. Ящук А.Г. Медико-генетическое прогнозирование десценции тазового дна у женщин Уральского региона / А.Г. Ящук // *Казанский мед. журнал*.- 2008.- Т.89, № 2.- С. 169-173.

ПОСТУПИЛА 15.05.2014