

Дубровина С.О.^{1,2}, Берлим Ю.Д.¹, Гимбут В.С.², Мажугин В.Ю.², Красильникова Л.В.¹, Арешян К.А.², Тикиджиева В.Ю.³

Морфометрический взгляд на первичные и рецидивирующие эндометриомы

1 - ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону, 2 - ФГБУ Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии Минздрава России, Ростов-на-Дону, 3 - МБУЗ Городская больница скорой медицинской помощи города Ростова-на-Дону, Ростов-на-Дону

Dubrovina S.O., Berlim Ju.D., Gimbut V.S., Mazhugin V.Ju., Krasil'nikova L.V., Areshjan K.A., Tikidzhieva V.Ju.

Morphometric look at the primary and recurrent endometriomas

Резюме

Целью данного исследования было изучение морфометрических характеристик эктопических эндометриальных клеток в первичных и рецидивирующих эндометриомах. Образцы были получены от 46 женщин с первичными эндометриомами и 15 с рецидивирующими кистами. Полученные срезы окрашивали обычным способом гематоксилин-эозином и подвергали оптической микроскопии с использованием иммерсионного объектива с общей оптической мощностью 10 x 100. В результате проведенного исследования было выявлено увеличение почти всех морфометрических параметров в первичных кистах, что, возможно, говорит о более высокой пролиферативной активности базальных клеток эктопического эндометрия первичных эндометриом по сравнению с рецидивирующими кистами.

Ключевые слова: эндометриоз, кисты, рецидив, морфометрия

Summary

The aim of this study was to investigate the morphometric characteristics of ectopic endometrial cells in primary and recurrent endometriosis. Samples were obtained from 46 women with endometriosis and 15 primary with recurrent cysts. Slice thickness of 4 mm. These sections were stained in the usual way with hematoxylin-eosin and subjected to optical microscopy using immersion objective with a total capacity of 10 optical x 100. As a result of the study showed an increase in almost all morphometric parameters in primary cysts that may be said about the higher proliferative activity of the basal cells of ectopic endometrium primary endometriomas compared with recurrent cysts.

Key words: endometriosis, cysts, recurrence, morphometry

Введение

В 1860 году Карл Рокитанский впервые описал симптомы эндометриоза, которые упоминаются в медицинских текстах более сотни лет [1]. Это заболевание поражает порядка 10% всех женщин репродуктивного возраста и встречается у 20-50% всех бесплодных женщин. Понимание патогенеза эндометриоза, несмотря на частоту встречаемости и отрицательное воздействие на качество жизни, к сожалению, остается неполным [2]. Средний промежуток между началом симптомов и диагностикой заболевания составляет от 3 до 11 лет [3]. У порядка 25% всех женщин эндометриоз может быть бессимптомным [4]. Отсрочка диагноза обычно приводит к усугублению заболевания. Во время оперативного лечения биопсия традиционно используется для подтверждения диагноза. Но даже после полного удаления очагов эндометриоз обычно рецидивирует, поэтому медикамен-

тозное лечение предпочтительно во избежание рецидива заболевания в будущем [2].

Патогенез и прогноз рецидивирования эндометриоза остаются открытыми. Неизвестны изменения, происходящие на уровне клеток базального слоя в эутопическом и эктопическом эпителии эндометриального типа при эндометриозе. В последнее десятилетие были идентифицированы на базальной мембране эндометрия клеточные популяции, проявляющие маркеры/свойства стволовых клеток, [5], что добавляет новые перспективы в патогенез эндометриоза [6]. В отечественной литературе встречаются лишь единичные исследования, посвященные морфометрическому исследованию клеток очагов эктопического эпителия эндометриального типа [7].

Целью исследования являлась сравнительная оценка морфометрических показателей эктопического эндометрия первичных и рецидивирующих кист.

Материалы и методы

В исследование включена 61 пациентка с эндометриозом яичников. I группу составили 46 (75,4%) пациенток с впервые выявленными эндометриодными кистами яичников, во II группу вошли 15 (24,6%) с рецидивами эндометриоза. Под рецидивом эндометриодных образований подразумевалось появление эндометриодных кист в яичнике размером более 4 см в диаметре, сопровождаемых болевым синдромом. Исследуемые в I и II группах были сопоставимы по возрасту (в I группе — $28,3 \pm 5,4$ лет, во II — $31,4 \pm 4,9$ год). Всем пациенткам помимо общеклинического обследования проводили ультразвуковое исследование (УЗИ) на аппарате VOLUSON 730 Expert (Ge Kretz, Zipf, Австрия) по стандартной методике с трансвагинальным датчиком (3,3–10,0 МГц) в I фазу менструального цикла. При ультразвуковом исследовании определяли величину и структуру эндометриодного образования. Оперативное лечение проводили лапароскопическим доступом с помощью инструментария фирм «Karl Storz» (Германия). Морфологическое исследование с морфометрией проводилось с использованием анализатора изображения по программе Leica Qwin, выполнялось измерение толщины удаленной ткани яичника (Т, мкм), толщины стенки эндометриодного образования (Е, мкм) и толщины фиброза стенки (F, мкм). Морфометрическое исследование включило в себя изучение показателей пролиферативной активности базальных клеток эктопического эндометрия первичных и рецидивирующих кист. Оценивались такие параметры, как: толщина желез клетки, толщина секреторной части, площадь ядра, толщина цитоплазматической мембраны, толщина ядерной мембраны, средняя яркость, средняя плотность, радиус ядра. Анализ результатов производился с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения для ПК: Microsoft Excel и Statistica 10.0. Для представления полученных данных использовали методы описательной статистики. Количественные показатели представлены в виде медианы и 95%CI – доверительного интервала. Критический уровень значимости для всех критериев и тестов принимали равным 5 %, т. е. нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Средний возраст наступления менархе у женщин в I группе составил $12 \pm 1,28$ лет, во II группе пациенток – $12,8 \pm 1,4$ лет. Продолжительность менструального цикла в I группе варьировала от 26 до 32 дней ($28,7 \pm 2$), во II группе – от 24 до 30 дней ($27,3 \pm 1,3$). Длительность менструального кровотечения в I группе в среднем была $5,5 \pm 1,2$ дней, во II второй – $5,9 \pm 1,4$ дней. Жалобы были идентичны в обеих подгруппах. Альгодисменорея встречалась в 100% случаев в обеих группах. Бесплодие в I группе наблюдалось у 27 (58,7%) пациенток, первичным страдали 24 (52,17%) пациентки, вторичным – 3 (6,52%). Во II группе бесплодие выявлено у 11 (73,33%) пациенток, из них пер-

вичное – у 9 (60%) пациенток, вторичное – у 2 (13,3%). Все наблюдаемые были прооперированы лапароскопическим доступом в плановом порядке. Основными показаниями для оперативного лечения явились: наличие эндометриодных кист, стойкий болевой синдром, бесплодие. В I группе эндометриозы левого яичника были выявлены у 17 (36,9%) пациенток, правого – у 15 (32,6%), двусторонние эндометриозы яичников были обнаружены у 14 (30,43%) пациенток. Во II группе эндометриодные кисты левого яичника были обнаружены у 7 (46,7%) пациенток, правого яичника – у 5 (33,3%), двустороннее поражение выявлено у 3 (20%) пациенток. Средний размер кист в I группе составил $5,3 \pm 1,8$ см, во II группе – $6,3 \pm 0,9$ см. Рецидив эндометриодной кисты в том же яичнике был выявлен у 7 пациенток (46,7%). Распространенность патологических очагов и спаечного процесса оценивались по классификации Американского общества фертильности [8]. В I группе II степень спаечного процесса обнаружена у 17 (36,96%) пациенток, III степень – у 11 (23,91%) пациенток, IV степень – у 7 (15,22%) пациенток. Во II группе большинство пациенток имели IV степень спаечного процесса 10 (60%), у 5 (40%) отмечена III степень спаечного процесса. В ходе оперативного вмешательства выявлено, что стадии распространенности эндометриоза для пациенток I группы распределились следующим образом: 27 (58,7%) имели III стадию, 19 (41,3%) – IV стадию распространенности эндометриоза. Для II группы эти показатели распределились следующим образом: III стадия была обнаружена у 9 (60%) пациенток, у 6 (40%) – IV стадия (R-AFS, 1996 год). Энуклеация эндометриодных кист была произведена у 61 (100%). У всех пациенток обеих групп при выполнении гистероскопии с выскабливанием полости матки при гистологическом исследовании соскоба выявлена простая гиперплазия без атипии.

Макроскопически все эндометриозы были тонкостенными, однокамерными образованиями с гладкой внутренней и внешней поверхностью, размерами от 4 до 12 см в диаметре, с «шоколадным» содержанием внутри. При морфометрическом исследовании было выявлено, что у пациенток с первичными эндометриозами базальные клетки внутренней выстилки имели толщину цитоплазматической и ядерной мембран достоверно выше, чем пациентки с рецидивирующими кистами. Средняя яркость ядер клеток эктопического эндометрия оказалась достоверно ниже в рецидивирующих кистах по сравнению с первичными эндометриозами. В результате анализа средней плотности ядер базальных клеток было отмечено ее достоверное увеличение у пациенток с рецидивирующими эндометриозами по сравнению с ядрами клеток первичных кист (таблица 1).

Основные структурные особенности биологической мембраны определяются свойствами билипидного слоя, большинство ее специфических функций осуществляется белками, постоянная толщина от 7,5 до 10 нм [9]. Утолщение цитоплазматической мембраны может быть

Таблица 1. Показатели пролиферативной активности клеток эктопического эндометрия первичных и рецидивирующих кист

Показатели	Пациентки с первичным эндометриозом (n=46)	Пациентки со вторичным эндометриозом (n=15)	p**
	M, 95% CI*		
Площадь ядра, мкм ²	0,00003(0,00002÷0,00003)	0,00004(0,00003÷0,00004)	0,0001
Толщина секреторной части клетки, мкм	0,005(0,004÷0,01)	0,002(0,002÷0,003)	0,0001
Радиус ядра, мкм	0,00075 (0,0007÷0,0009)	0,0007 (0,0006÷0,00077)	0,14
Толщина железы, мкм	0,02(0,01÷0,02)	0,01(0,0099÷0,01)	0,004
Толщина цитоплазматической мембраны, мкм	0,0006(0,0006÷0,0007)	0,0005(0,0005÷0,0006)	0,003
Толщина ядерной мембраны, мкм	0,0006(0,0005÷0,0006)	0,0005 (0,0004÷0,0005)	0,035
Средняя яркость	37,44 (35,81÷38,27)	26,02 (25,62÷27,58)	0,0001
Средняя плотность	0,44 (0,44÷0,47)	0,61 (0,57÷0,62)	0,0001

* M – медиана, 95% CI – доверительный интервал

** - различия между группами достоверны при p<0,05

следствием увеличения белковых молекул–рецепторов, контролирующих функции клетки [10]. В нашем исследовании толщина цитоплазматических мембран оказалась достоверно выше в клетках эктопического эндометрия у пациенток с первичными эндометриозами (p=0,001). Возможно, утолщение клеточных мембран произошло за счет увеличения именно числа белковых молекул–рецепторов.

Яркость ядер базальных клеток отмечена достоверно выше в эктопическом эндометрии пациенток с первичными эндометриозами (p=0,0001). Этот параметр отражает содержание ДНК в ядрах клеток. Известно, что увеличение ДНК приводит к возрастанию коэффициента пролиферативной активности клеток [11]. Следовательно, в первичных кистах клетки базального слоя склонны к большей пролиферативной активности.

Плотность ядер оказалась выше в клетках эктопического эндометрия рецидивирующих кист (p=0,0001). Плотность ядра свидетельствует о состоянии хроматина в клетке. Чем она выше, тем менее активна клетка, так как хроматин находится в состоянии плотно упакованного гетерохроматина, являющегося транскрипционно неактивным, конденсированным хроматином, визуализирующимся под микроскопом [11]. В нашем исследовании неактивные участки ДНК в виде гетерохроматина встречались в меньшем количестве в ядрах клеток эктопического эндометрия первичных эндометриозом.

Заключение

Таким образом, пролиферативная активность базальных клеток эктопического эндометрия первичных эндометриозом выше по сравнению с рецидивирующими кистами. Снижение активности пролиферации при рецидиве кисты возможно объясняет тот факт, что рецидив развивается не более, чем в 50% случаев [12]. Он значительно выше в течение первых 30 месяцев после операции, а затем снижается, через 5 лет риск рецидива составляет 0% [13].

Утолщение всех клеточных мембран, выявленное нами в базальных клетках эктопического эндометрия первичных кист, возможно связано с увеличением количества специфических и неспецифических рецепторов, расположенных в мембранах. Более подробное изучение этих рецепторов, расположенных в ядерных и цитоплазматических мембранах, можно надеяться, позволит в дальнейшем углубить наше представление о патогенезе эндометриоза и его рецидивов. ■

Дубровина Светлана Олеговна - профессор, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии №1 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, главный научный сотрудник ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Берлим Юлия Дмитриевна – к.м.н., врач гинекологического отделения клиники ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону, Гимбут Виталий Станиславович - к.м.н., ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Мажугин Владимир Юрьевич - заведующий патоморфологическим отделением ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Красильникова Лилия Викторовна – аспирант ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону, Тикиджиева Виктория Юрьевна – врач гинекологического отделения МБУЗ «Городская больница скорой медицинской помощи города Ростова-на-Дону», Ростов-на-Дону, Автор, ответственный за переписку - Дубровина Светлана Олеговна, 344012, Россия, Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, д. 43. Телефон: 8(863)250-42-00. E-mail: s.dubrovina@gmail.com.

Литература:

1. *Nezhat C., Nezhat F., Nezhat C. Endometriosis: ancient disease, ancient treatments. Fertil. Steril. 2012; 98(6, Suppl.): S1–62. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.08.001.*
2. *Hufnagel D., Li F., Cosar E., Krikun G., Taylor H.S. The Role of Stem Cells in the Etiology and Pathophysiology of Endometriosis. Semin. Reprod. Med. 2015; 33(5): 333–40. doi: 10.1055/s-0035-1564609.*
3. *Sherwood S. Endometriosis Fact Sheet. ENDOmetriosis Worldwide, March 13, 2014.*
4. *Bulletti C., Coccia M.E., Battistoni S., Borini A. Endometriosis and infertility. J Assist. Reprod. Genet. 2010; 27(8): 441 – 47. doi: 10.1007/s10815-010-9436-1.*
5. *Cervelló I., Mas A., Gil-Sanchis C., Peris L., Faus A., Saunders P.T., et al. Reconstruction of endometrium from human endometrial side population cell lines. PLoS One. 2011; 6(6): e21221. doi: 10.1371/journal.pone.0021221.*
6. *Oliveira F.R., Dela Cruz C., Del Puerto H.L., Vilamil Q.T., Reis F.M., Camargos A.F. Stem cells: are they the answer to the puzzling etiology of endometriosis? Histol Histopathol. 2012; 27(1): 23–9. doi: 10.1111/jog.12164.*
7. *Александрова Е.М. Роль недифференцированной дисплазии соединительной ткани в формировании эндометриозных кист яичников: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2016. [Aleksanova E.M. Rol' nedifferencirovannoj displazii soedinitel'noj tkani v formirovanii jendometrioidnyh kist jaichnikov: Avtoref. diss. ... kand. med. nauk. – М., 2016. (in Russian)].*
8. *Adamson G.D. Endometriosis classification: an update. Curr. Opin. Obstet. Gynec. 2011; 23(4): 213 – 20. doi: 10.1097/GCO.0b013e328348a3ba.*
9. *Ржевская Р. А. Медицинская биология. Конспект лекций. М.: Приор-издат, 2005. 209с. [Rzhevskaja R. A. Medicinskaja biologija. Konspekt lekcij. M.: Prior-izdat., 2005. 209 s. (in Russian)].*
10. *Фролов В.А., Дроздова Г.А., Казанская Т.А., Билибин Д.П., Демуров Е.А. Патологическая физиология. – М.: Экономика, 1999. 616 с. [Frolov V.A., Drozdova G.A., Kazanskaja T.A., Bilibin D.P., Demurov E.A. Patologicheskaja fiziologija. – М.: Jekonomika, 1999. 616 s. (in Russian)].*
11. *Автандилов Г.Г. Компьютерная микротелефотометрия в диагностической гистопатологии. М.: Медицина; 1996. 256 с. [Avtandilov G.G. Komp'juternaja mikrotelefotometrija v diagnosticheskoj gistocitopatologii / G.G. Avtandilov. – М.: Medicina; 1996. 256 s. (in Russian)].*
12. *Ouchi N., Akira S., Mine K., Ichikawa M., Takeshita T. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision: risk factors and prevention. J. Obstet. Gynaecol. Res. 2014; 40(1): 230–36. doi: 10.1111/jog.12164.*
13. *Liu X., Yuan L., Shen F., Zhu Z., Jiang H., Guo S.W. Patterns of and risk factors for recurrence in women with ovarian endometriomas. Obstet. Gynecol. 2007; 109(6): 1411–20.*