

©Р. М. Банахевич, К. Б. Акімова, О. А. Вдовіченко

## РОЛЬ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ В УТОЧНЕННІ ЕТІОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ РЕЦИДИВУ ГЕНІТАЛЬНОГО ПРОЛАПСУ

*Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»*

РОЛЬ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ В УТОЧНЕННІ ЕТІОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ РЕЦИДИВУ ГЕНІТАЛЬНОГО ПРОЛАПСУ. Гіпоестрогенія менопаузі призводить до атрофічних змін в тканинах сечостатевого тракту та знижує еластичність тканин, що сприяє розвитку генітального пролапсу. У пацієнок з рецидивом генітального пролапсу встановлено зниження експресії естрогенових рецепторів в епітелії слизового шару стінки піхви та фасціально-лігаментарному апараті статевих органів. Встановлено зниження експресії естрогенових рецепторів в слизовій піхви на 76,2 %, в стромі - на 31,5%. Встановлено прямий кореляційний зв'язок зниження рівня ER у слизовій піхви із зниженням рівня ER в кардинальній зв'язці матки

РОЛЬ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В УТОЧНЕНИИ ЭТИОЛОГИЧЕСКИМ ФАКТОРОМ РЕЦИДИВА ГЕНИТАЛЬНОГО ПРОЛАПСА. Гипоэстрогения в менопаузе приводит к атрофическим изменениям в тканях мочевого тракта и снижает эластичность тканей, что способствует развитию генитального пролапса. У пациенток с рецидивом генитального пролапса установлено снижение экспрессии эстрогеновых рецепторов в эпителии слизистой слоя стенки влагалища и фасциально-лигаментарном аппарате половых органов. Установлено снижение экспрессии эстрогеновых рецепторов в слизистой влагалища на 76,2 %, в строме - на 31,5 %. Установлена прямая корреляционная связь снижения уровня ER в слизистой влагалища со снижением уровня ER в кардинальной связке матки.

ROLE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES TO CLARIFY THE ETIOLOGICAL FACTORS OF RECURRENCE OF GENITAL PROLAPSE. Decrease in the level of estrogen hormones at menopause leads to atrophic changes in the tissues of the urinary tract and reduces elasticity of tissues, which contributes to the development of genital prolapse. It was found out that patients with recurrent genital prolapse has a reduction in the expression of estrogen receptors in the epithelium of the mucous layer of the wall of the vagina and fascial-ligament apparatus of sexual organs. The decrease of expression of estrogen receptors in the lining of the vagina by 76,2 %, in stroma-31,5 % was established. A direct correlation between the decrease of the level of ER in the lining of the vagina with a reduction in ER after the cardinal ligament of the uterus was established.

**Ключові слова:** генітальний пролапс, рецидив, патогенез, слизова піхви, імуногістохімія.

**Ключевые слова:** генитальный пролапс, рецидив, патогенез, слизистая влагалища, иммуногистохимия.

**Keywords:** genital prolapse, relapse, pathogenesis, the vaginal mucosa, immunohistochemistry.

**ВСТУП.** Генітальний пролапс - за даними різних авторів, спостерігається у 5-48 % жінок, в залежності від віку. За даними ряду авторів, частота рецидивів пролапсу геніталій становить від 33 до 61,3 %. Пролапс геніталій є багато в чому естрогензалежним захворюванням. Гіпоестрогенія у менопаузі призводить до атрофічних змін сечостатевого тракту і зниження еластичності тканин, що сприяє розвитку пролапсу тазових органів [3]. Мета роботи - визначити рівень експресії естрогенових рецепторів (ЕЯ) в слизовій піхви та зв'язковому апараті матки і встановити їх особливості у хворих на рецидивну форму генітального пролапсу (РГП).

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.** Досліджувану групу склали 53 жінки у віці від 47 до 75 років з рецидивом генітального пролапсу (група Р). Група контролю 30 жінок в менопаузі без ознак генітального пролапсу (група К). Середній вік пацієнок досліджуваної групи склав 53,6±0,5 років. Достовірної різниці між віком пацієнок основної та групи контролю не виявлено ( $p > 0,05$ ), що дозволило нам порівнювати ці групи як рівноцінні по віку.

Імуногістохімічні (ІГХ) дослідження проводили після попереднього гістологічного дослідження зразків тканин. В якості первинних антитіл ми використовували спектр антитіл, який включав маркери рецепторів стероїдних гормонів: ЕЯ (клон Ю5 (ЭАКО), клон ЭР1 (BaUvion)). Для кожного маркера виконувалися контрольні дослідження з метою виключення помилково

позитивних або помилково негативних результатів [4]. Ідентифікація реакції проводилась завдяки нанесенню хромогену (DAB (Lab Vision)) під контролем мікроскопа протягом від 20 секунд до 3 хвилин, з проявом у вигляді темно-коричневого забарвлення специфічних структур в залежності від маркера (ядерна, цитоплазматична, мембрана реакція). Для диференціювання структур тканин зрізи додатково забарвлювали гематоксином Маєра протягом 1-3 хвилин. Наступна дегідратація і включення у бальзам здійснювалися згідно розповсюдженим методикам.

Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням пакету програм STATISTICA® for Windows, Release 8.0 компанії StatSoft® Inc., США (2010). Для математичної обробки отриманих результатів використовували методи описової статистики, кореляційний аналіз. При перевірці гіпотез для порівняння вибірок застосовували t-критерій Ст'юдента для парних незалежних вибірок [5]. Для визначення зв'язків між порівнюваними категоріями використовували коефіцієнти кореляції Пірсона (для параметричних варіант).

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** В результаті проведеного дослідження з індицією ER в стінці слизової піхви та зв'язках матки ми встановили, що у жінок (група К) реакція до ER як у незмінному епітелії, так і стромі (при критерії кількості специфічно забарвлених клітин більше, ніж 10%)

## Акушерство та гінекологія

була позитивна у 100 % випадків, що пояснюється відомим фактором естрогенозалежності епітелію стінки слизової піхви. При цьому кількість клітин з інтрануклеарною ІГХ міткою в базальному шарі перевищувала число позитивно забарвлених клітин у пара базальному шарі.

У всіх випадках позитивної реакції з ЕЯ в епітелії, стромальні клітини також були ЕЯ-позитивними, причому інтенсивність реакції в стромі була нижчою, ніж у епітеліальному шарі, яка свідчила про більшу естрогензалежність саме епітеліального шару. Стромальні клітини були ЕЯ-позитивними в 67,9 % випадків, цей показник не залежав від тривалості менопаузи, а

Всі спостереження з позитивною реакцією в епітелії характеризувалися відповідною позитивною реакцією в стромі, причому інтенсивність реакції в підлеглих тканинах була нижчою, ніж у епітеліальному шарі з переважно помірною інтенсивністю реакції. Кількість клітин стромі слизової піхви з ІГХ реакцією до ЕЯ була в межах від 10 до 30 %.

В 43 випадках, які ми віднесли до негативних ІГХ, кількість клітин епітелію з ІГХ реакцією була в межах від 2 до 9 %. Більша половина біоптатів були ЕЯ-негативними в епітелії, проте в стромі цих утворень зустрічалися в достатній кількості клітини зі слабкою та помірною реакцією. Характерно, що стромальні

Таблиця 1. Показники експресії естрогенових рецепторів в слизовій піхви та кардинальній зв'язці пацієнток з рецидивом генітального пролапсу, n (%)

Група	Експресія ЕР		Експресія ЕР		Експресія ЕР	
	в епітелії слизової піхви		у стромі слизової піхви		у кардинальній зв'язці	
	<10%	>10%	<10%	>10%	<10%	>10%
Група Р, n = 53	11 (20,8)	42 (79,2)	17 (32,1)	36 (67,9)	23 (43,4)	30 (56,6)
Група П, n = 30	2 (6,7)*	28 (93,3)	5 (16,7)*	25 (83,3)*	11 (36,7)	19 (63,3)

Примітка. \* Визначено статистично достовірну різницю між показниками групи Р і групи К ( $p < 0,05$ ).

кількість клітин стромі з позитивним забарвленням була на рівні 28-37 %. Парабазальні клітини демонстрували незначну позитивну реакцію з ЕЯ. Проте у більшості випадків реакція з ЕЯ була негативна.

У пацієнток групи Р встановлено певні особливості, які були залежними від діагностики ознак запального процесу в стромі та епітелії слизової піхви. Запальний процес в слизовій піхви, суттєво знижував рівень експресії ЕЯ в епітелії та стромі. Низький рівень експресії ЕЯ (менш ніж 10 %) встановлено у 20,8% і 32,1 % жінок цієї групи відповідно у епітелії і стромі. В кардинальних зв'язках низький рівень ЕЯ встановлено у 43,4 % обстежених жінок групи Р (табл. 1).

Таким чином, рівень експресії ЕЯ в групі з РГП був нижчим, у порівнянні з нормальним епітелієм слизової піхви у жінок групи порівняння. За результатами дослідження встановлено загальне зниження рівня ЕЯ на 79,2 % у пацієнток групи Р. Привертає до себе увагу той факт, що редукція числа клітин з інтрануклеарним забарвленням була особливо помітною при порівнянні рівня експресії ЕЯ в групі Р, і у жінок з постгістеректомічним пролапсом, у яких спостерігався максимально низький рівень позитивно забарвлених клітин. В групі пацієнток з рецидивом в апікальному сегменті рівень експресії був подібним до показників групи порівняння, тобто кількість ЕЯ позитивних клітин коливалася від 10 до 15 %, а інтенсивність реакції була переважно помірною. Всі позитивно забарвлені клітини розташовувалися у базальному та парабазальному шарах слизової піхви. Серед пацієнток групи Р було 14 випадків з негативним статусом експресії ЕЯ, у переважній більшості спостережень встановлено реакцію в окремих клітинах з ЕЯ, інтенсивність їх була слабкою, кількість позитивних клітин не перевищувала 10%, розташовувалися вони також у базальному та парабазальному шарах слизової піхви.

клітини решти спостережень, які віднесено до групи з негативним статусом, були позитивно забарвлені, інтенсивність реакції була слабкою та помірною, кількість клітин з реакцією коливалася від 10 до 20 %.

Всі спостереження з позитивною реакцією в епітелії та стромі характеризувалися відповідною позитивною реакцією в кардинальній зв'язці, причому інтенсивність реакції в останній була нижчою, ніж у епітеліальному шарі та стромі слизової піхви з переважно слабкою інтенсивністю реакції. Кількість клітин кардинальної зв'язки з ІГХ реакцією до ЕЯ була в межах до 10%.

Отримані результати статистичних розрахунків можливо трактувати наступним чином: коефіцієнт кореляції ( $r = 0,68$ ) свідчить про наявність прямого сильного зв'язку між експресією ЕЯ в епітелії, стромі слизової піхви та кардинальній зв'язці. Обчислення похибки коефіцієнта кореляції ( $t_r = 0,07$ ) та достовірності коефіцієнта кореляції ( $i = 13,23$ ), дає нам можливість з впевненістю безпомилкового прогнозу ( $P = 95\%$ ) стверджувати, що у пацієнток групи Р спостерігається зниження експресії ЕЯ в більшій мірі в епітелії слизової піхви, ніж експресія ЕЯ в стромі слизової піхви та кардинальній зв'язці.

Проведене нами ІГХ дослідження показало, що у пацієнток з генітальним пролапсом визначення рівня експресії ЕЯ дасть можливість прогнозувати розвиток рецидиву при застосуванні традиційних технологій хірургічної корекції встановленої патології із застосуванням власних тканин. Результат ІГХ дослідження може бути використаний як критерій для вибору методу оперативного втручання та прогнозування результатів операції. Вивчення цих змін дуже важливо для розуміння етіології та патогенезу пролапсу геніталій. Отримані результати дають можливість обґрунтувати призначення місцевих естрогенвмісних пре-

паратів як у період підготовки до оперативного втручання так і на тривалий термін застосування у період реабілітації після операції.

**ВИСНОВКИ.** 1. Однією з ланок патогенезу РГП будь-якого ступеня і локалізації є зниження експресії ЕЯ в слизовій піхви та зв'язковому апараті матки.

2. У пацієнток з РГП спостерігається зменшення експресії ЕЯ в епітелії слизової піхви на 76,2 %, в стромі - на 31,5%.

3. Встановлено прямий кореляційний зв'язок ( $r = 0,68$ ) зниження рівня ЕЯ у слизовій піхви із зниженням рівня ЕЯ в кардинальній зв'язці матки.

### **ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.**

Подальші дослідження можуть бути направлені на вивчення ефективності застосування естрогенвмісних

препаратів місцевої дії та визначення доцільності призначення цих препаратів на різних етапах лікування генітального пролапсу, дозволить здійснювати диференційований підбір тактики лікування та підвищити ефективність лікування з урахуванням інших патогенетичних та етіологічних аспектів розвитку даної патології. А саме:

1. Дослідження експресії РДЯ в слизовій піхви жінок з РГП.

2. Експресія рецепторів маркерів проліферації KI-67 та маркера ангиогенезу УЕСР в кардинальних зв'язках матки.

3. Аналіз експресії маркера колагену IV типу в кардинальних зв'язках у жінок з рецидивом генітального пролапсу.

### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Шалаев О. Н. Хирургическое лечение доброкачественных заболеваний матки и генитального пролапса с использованием влагалищного оперативного доступа: автореф. ... д-ра мед.наук: спец. 14.00.01 «Акушерство и гинекология»/О. Н. Шалаев. - М., 2004. - 41 с.

2. Гістеректомія: вибір доступу / В. М. Запорожан, І. З. Гладчук, Н. М. Рожковська, В. Г. Дубініна [та ін.] // Вісник наукових досліджень. - 2003. - №1(30). - С. 107-108.

3. Процепко А. А. Предотвратим ли постгистеректомический пролапс? / А. А. Процепко, И. З. Гладчук, В. Г. Каюк //

Репродуктивное здоровье женщины. - 2004. - № 2 (18). - С. 91-95.

4. Shan-Rong Shi. Standardization of Immunohistochemistry for Formalin-fixed, Paraffin-embedded Tissue Sections Based on the Antigen-retrieval Technique: From Experiments to Hypothesis / Shan-Rong Shi, Cheng Liu, Clive R. Taylor // Journal of Histochemistry & Cytochemistry. - 2007. - Vol. 55, № 2. - P. 105-109.

5. Реброва О. В. Статистический анализ медицинских данных с помощью пакета программ «Статистика» / О. В. Реброва. - М.: Медиа Сфера, 2002. - 380 с.

Отримано 18.02.14