УДК: 618.11-006.1-018-097:618.1-002-06

МОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЯЄЧНИКІВ У ЖІНОК З СИНДРОМОМ ПОЛІКІСТОЗНИХ ЯЄЧНИКІВ НА ТЛІ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ОРГАНІВ МАЛОГО ТАЗУ

Н.В. Косей, Т.Д. Задорожна, Г.В. Ветох

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України», КНП «Консультативно-діагностичний центр Дніпровського району м. Києва» (м.Київ, Україна)

Резюме. *Синдром полікістозних яєчників (СПКЯ) є найчастішою ендокринопатією у жінок репродуктивного віку. Ми вивчали морфологічні та імуногістохімічні особливості структури яєчників у пацієнток з нормальною масою тіла при СПКЯ на тлі запальних процесів геніталій.*

Проведені дослідження показали, що запальні захворювання геніталій можуть відігравати важливу роль у формуванні проявів СПКЯ у жінок з нормальною масою тіла. За наявності запального процесу у пацієнток з СПКЯ відбувається лімфо- та плазмоцитарна інфільтрація в стромі яєчників, особливо в корі, на що вказує позитивна експресія в них маркеру плазмоцитів CD-138, а також стаз із розширенням дрібних судин, що призводить до порушення мікроциркуляції в яєчниках, склеротичних змін та фіброзу. Крім того, при поєднанні СПКЯ та запалення в корковому шарі яєчників, у тому числі, в епітелії фолікулів та стромі істотно порушується експресія рецепторів естрогенів і прогестерону, а також проліферативного маркеру Кі-67. Таким чином можна вважати, що зазначені порушення в утворенні комплексів гормон-рецептор в клітинах фолікулу і стромі яєчника є однією зі складових причин порушення процесів фолікулогенезу та продукції гормонів при СПКЯ як причини безпліддя, а також порушення регуляції системи гіпоталамус - яєчники.

З огляду на це, важливим завданням можна вважати своєчасне виявлення запальних процесів у жінок з СПКЯ, особливо за умови відсутності ожиріння, і своєчасне проведення протизапальної терапії, яка спрямована на профілактику розвитку проявів СПКЯ і нормалізацію функції яєчників.

Ключові слова: *синдром полікістозних яєчників, імуногістохімія, рецептори естрогену та прогестерону, маркер плазмоцитів CD-128, проліферативний маркер KI-67.*

Вступ

Синдром полікістозних яєчників (СПКЯ) є найчастішою ендокринопатією у жінок репродуктивного віку як в Україні, так і за кордоном, і становить гетерогенну групу порушень із широкою клінічною та біохімічною варіабельністю. В останні десятиріччя все частіше зустрічаються нетипові (некласичні) фенотипи даного захворювання. На сьогодні СПКЯ нерідко діагностується не лише у пацієнток з ожирінням, але й у жінок з нормальною масою тіла [2]. Так, у популяційних дослідженнях, проведених Katsikis I. (2011) та Balen A. (1995) показано, що від 30% до 70% жінок з СПКЯ мають нормальну масу тіла [3, 4]. Незважаючи на численні дослідження, присвячені пошуку причин розвитку даного синдрому, на жаль, немає чіткого визначення структури його етіологічних чинників та патогенезу в жінок із різними конституціональними фенотипами. Фундаментальними дослідженнями розкрито багато механізмів формування СПКЯ у пацієнток з надлишковою масою тіла, але його патогенез у жінок з нормальною масою тіла на сучасному етапі залишається остаточно нез'ясованим.

Нашими попередніми дослідженнями було виявлено, що СПКЯ у пацієнтів без ожиріння часто супроводжується запальними захворюваннями геніталій (до 84%). Було зроблено припущення, що запальний процес може відігравати роль у механізмі розвитку СПКЯ та його клінічних проявів у пацієнток з нормальною масою тіла. Тому було вирішено вивчити морфологічні та імуногістохімічні особливості структури яєчників у пацієнток з нормальною масою тіла при СПКЯ на тлі запальних процесів геніталій.

Втілення імуногістохімічних методів у морфологічних дослідженнях, у тому числі, дослідження експресії рецепторів, значно розширило можливості вивчення механізмів розвитку патологічних процесів та розкриває нові шляхи до розуміння патогенезу ановуляції.

Дозрівання яйцеклітини є визначальним у процесі репродукції, а цей процес відбувається під контролем гормонів, що діють через відповідні рецептори. Тому дослідження особливостей розподілу рецепторів в тканині яєчників і безпосередньо в стінці фолікулів є важливим у розкритті патогенетичних механізмів розвитку патології фолікулогенеза при СПКЯ.

Матеріали та методи

З метою виявлення можливих ланок механізмів розвитку СПКЯ у жінок з нормальною масою тіла було вивчено морфологічні та імуногістохімічні особливості яєчників у 61 пацієнтки з СПКЯ та нормальною масою тіла (ІМТ<25). Першу групу склали 34 жінок з СПКЯ на тлі ЗЗОМТ, ІІ групу – 31 пацієнтка з СПКЯ без супутніх запальних процесів, ІІІ групу – 30 жінок із ЗЗОМТ, контрольну (IV) групу – 15 жінок, яким проводились операції з проводу апоплексії яєчників, діагностичні лапароскопії . Середній вік склав у І групі – 25,4± 0,8 року; в ІІ групі - 27,6 ± 1,17 року; в ІІІ групі – 26,4 ± 1,2 року, в IV групі – 27,1 ± 0,9 року (p>0,05). Середній індекс маси тіла у І групі дорівнював 23,4 ± 1,5; в ІІ групі - 23,2 ± 1,0; в ІІІ групі - 24,5 ± 1,1, в IV групі – 24,2 ± 1,3 (p>0,05). Таким чином, групи були порівняні за віком та індексом маси тіла.

Матеріалом для дослідження була тканина яєч-

ників - інтраопераційний біоптат (операційний матеріал). Дослідження проводилось у лабораторії патоморфології Інституту педіатрії, акушерства та гінекології (м. Київ) під керівництвом професора Задорожної Т.Д. Використовували загальногістологічний метод: матеріал обробляли в парафіновій заливці, зрізи фарбували гематоксилін-еозином та пікрофуксином по Ван-Гізон; імуногістохімічний метод: непрямий стрептовідін-пероксидазний метод виявлення рівня експресії рецепторів естрогенів, прогестерона, проліферативного маркера Кі-67, маркера плазмоцитів CD 138.

Розповсюдженість та інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом в балах від 0 до 3 балів: а) розповсюдженість: 1) 0 – немає забарвлення; 2) 1 – менше 10% позитивно забарвлених клітин; 3) 2 – більше 10% і менше 50% позитивно забарвлених клітин; 4) 3 - гомогенне забарвлення більше 50% клітин; б) інтенсивність реакції: 1) 0 – немає видимого забарвлення; 2) 1 – слабке забарвлення; 3) 2 – помірне забарвлення; 4) 3 – виразне забарвлення. Облік даних здійснювався методом Histo-score.

Статистична обробка даних проводилась за допомогою програми Excel. Дані були представлені в вигляді пропорцій та середніх величин. Застосовано критерій Ст´юдента та $\chi 2$. Різниця вважалась достовірною при $p < 0,05$.

Проведені дослідження виявили характерні гістологічні зміни за умов поєднання СПКЯ та ЗЗОМТ, які полягали в наявності запальної інфільтрації лімфоцитами, плазмоцитами, макрофагами, що розповсюджувалась у більшій мірі на корковий шар яєчників, з повнокров'ям судин, гіперплазією та набряком строми (рис. 1).

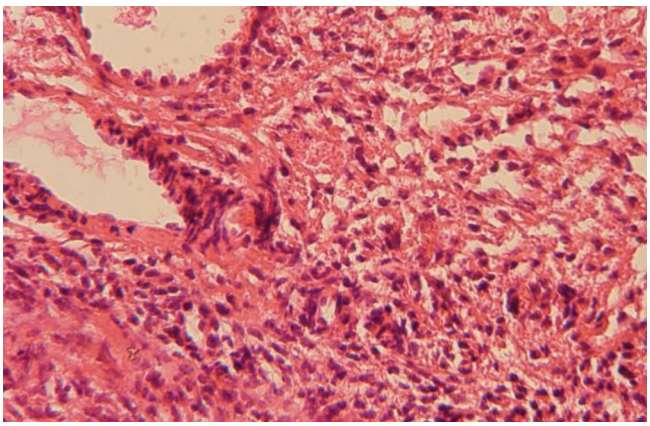

Рис. 1. Мікрофотографія. Кора яєчника жінки І групи дослідження. Інфільтрація лімфоцитами та плазмоцитами. Забарвлення пікрофуксином за Ван-Гізон. Ок.10. Об.10.

Наявність запального процесу в тканині яєчника підтверджувалась імуногістохімічно позитивною реакцією маркеру плазмоцитів CD-138 (рис. 2).

Гістологічна структура яєчників при СПКЯ без приєднання запального процесу характеризувалась потовщеною оболонкою, гіперплазією строми и наявністю кістозних порожнин переважно невеликого діаметру та гіперплазією тека-клітин кістозно-атрезованих фолікулів (рис. 3). Морфологічні зміни яєчників у жінок ІІІ групи відображали наявність запального процесу, а саме візуалізувались розширені капіляри, венули та артеріоли з мікротромбами, ексудацією компонентів плазми, інфільтрацією лімфоцитами, плазмоцитами та макрофагами (рис. 4.).

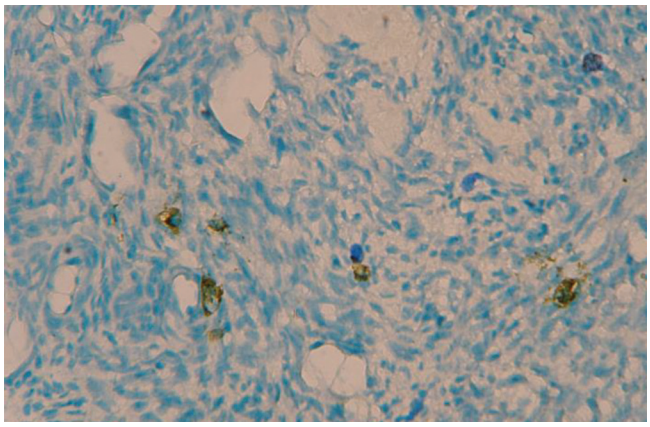

Рис. 2. Мікрофотографія. Кора яєчника жінки І групи дослідження. Позитивна реакція експресії маркера плазмоцитів CD-138. Ок.10. Об.40.

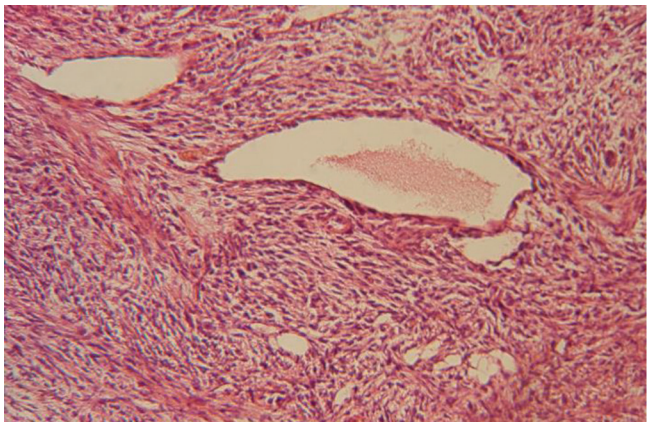

Рис. 3. Мікрофотографія. Кора яєчника жінки І групи дослідження. Інфільтрація лімфоцитами та плазмоцитами. Забарвлення пікрофуксином по Ван-Гізон.Ок.10.

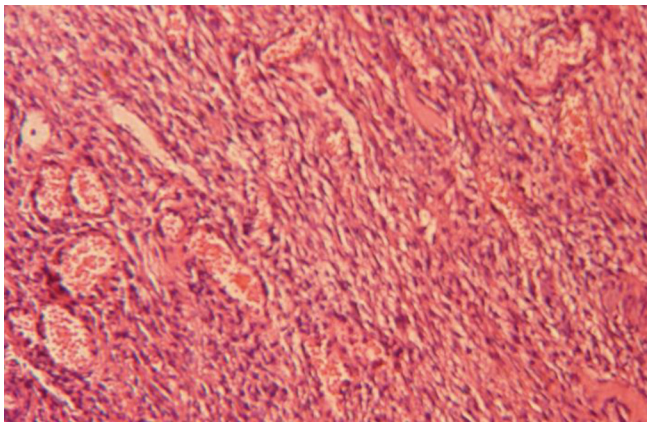

Рис. 4. Мікрофотографія. Кора яєчника жінки ІІІ групи дослідження. Інфільтрація лімфоцитами та плазмоцитами. Забарвлення пікрофуксином по Ван-Гізон. Ок.10. Об.10.

У пацієнтів із синдромом полікістозних яєчників спостерігається порушення стероїдогенезу, що виявляється в збільшенні вироблення андрогенів, порушенні співвідношення естрогенів і прогестерону [15, 17, 20].

Гормональні впливи реалізуються через рецепторний комплекс, що знаходиться в гормонально залежному органі. При цьому самі гормони активізують зростання експресії своїх же рецепторів, зокрема естрогени стимулюють експресію як естрогенових, так і прогестеронових рецепторів. Комплекс гормон-рецептор запускає каскад внутрішньоклітинних процесів, що забезпечують фізіологічні відповіді, у тому числі, й стимулюючий сигнал для секреції гонадотропін-рилізинг гормону і відповідної секреції фолікулостимулюючого гормону.

При порушенні гормональної рецепції можна очікувати відсутність відповідної реакції або її інверсію. Тому можна вважати, що змінена рецепторна активність може бути важливим чинником у патології фолікулогенезу або навіть більше того - бути суттєвим етіологічним фактором, що викликає за механізмом зворотного зв'язку порушення інтенсивності та якості гормональної регуляції репродуктивного процесу.

Імуногістохімічно було виявлено різке зниження експресії рецепторів естрогенів як в корковому так і в мозковому шарах яєчників у жінок I, II та III груп у порівнянні з пацієнтками IV групи. Так, середній рівень експресії рецепторів естрогенів у корковому шарі яєчників пацієнток I групи складав 4,8±4,5%, II групи – 5,1±4,7% та достовірно відрізнявся від рівня експресії у жінок III та IV груп, 23,6±9,4% та 74,6±14,3% відповідно (p1-3;1-4;2-3;2-4;3-4<0,05). Середній рівень експресії рецепторів естрогенів мозкового шару яєчників у пацієнток I групи (0,5±1,0%) достовірно був нижче ніж в II та III групах, 10,3±7,5% та 15,6±10,7% відповідно та достовірно нижче при порівнянні показника у пацієнток обстежуваних груп та здорових жінок (p1-2;1-3;1-4;2-4;3-4<0,05) – рис 5, 6, 7.

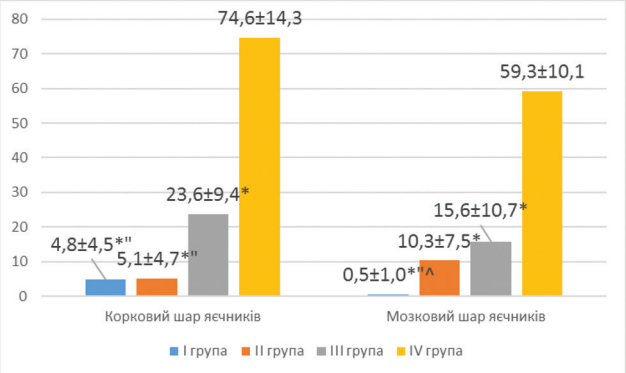

Рис. 5. Рівень експресії рецепторів естрогенів в тканинах яєчників, %

Примітка: ** - різниця достовірна відносно IV групи (p< 0,05);*
" - різниця достовірна відносно III групи (p< 0,05);
^ - різниця достовірна відносно II групи (p< 0,05)

Аналіз отриманих даних показав нерівномірну експресію рецепторів прогестерону як в корковому, так і в мозковому шарах яєчника у жінок з СПКЯ незалежно від наявності запального процесу геніталій.

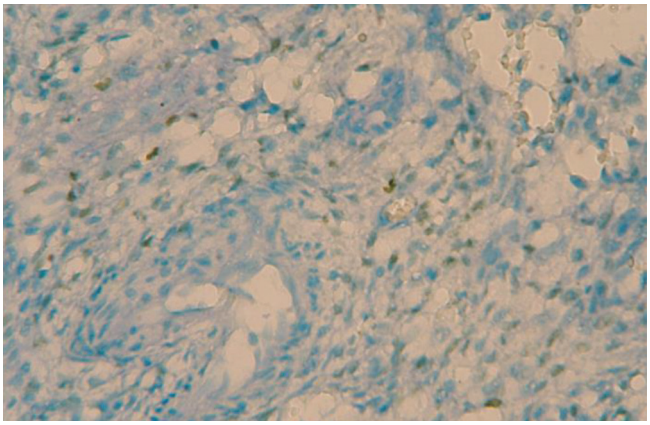

Рис. 6. Мікрофотографія. Кора яєчника жінки I групи дослідження. Негативна реакція рецепторів до естрогену. Імуногістохімічна реакція виявлення експресії рецепторів естрогену непрямим стрептовідинпероксидазним методом. Ок.10. б.40.

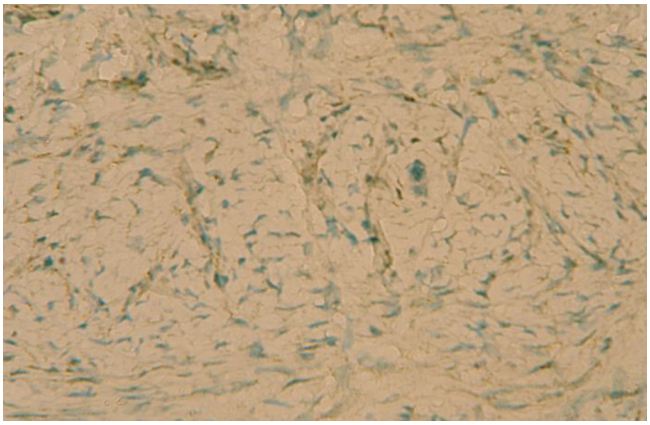

Рис. 7. Мікрофотографія. Кора яєчника жінки II групи дослідження. Слабо позитивна реакція експресії рецепторів до естрогену. Імуногістохімічна реакція виявлення експресії рецепторів естрогену непрямим стрептовідинпероксидазним методом. Ок.10. Об.40.

В основному відмічалось найбільше зниження експресії рецепторів прогестерона в корковому шарі у жінок I групи до 21,1±9,2% проти 29,3±14,3% в II групі, 32,6±12,6% в III групі та 67,3±13,5% в IV групі (p1-4;2-4;3-4<0,05) (рис. 8, 9, 10). У мозковому шарі яєчників пацієнток із СПКЯ та запальними процесами геніталій також виявлене істотне зниження експресії рецепторів прогестерону – 39,1±14,5%, чого не спостерігалось за наявності лише СПКЯ (II група – 61,3±13,5%) та тільки запалення (54,3±12,3%), у здорових жінок (IV група) – 73,4±10,8% (p1-4<0,05). Особливо звертало на себе увагу зниження експресії до статевих гормонів в ядрах клітинних структур строми яєчників пацієнток I групи.

Таким чином, у жінок з СПКЯ та запальними процесами геніталій виявлено суттєве зниження експресії як естрогенних, так і прогестеронових рецепторів у корковому та мозковому шарах яєчників. При цьому, якщо за наявності лише СПКЯ без супутнього запального процесу рецепція до статевих гормонів була порушені лише в корковому шарі, то за наявності супутнього запалення процес зачіпає і мозковий шар, в якому також відбувається

зниження рецепції. Зважаючи на те, що рецептори до естрогенів та прогестерону відіграють важливу роль у процесах фолікулогенезу та овуляції, адже гормональні регуляторні впливи реалізуються саме через цей рецепторний апарат, порушення їх функціонування на тлі запального процесу в жінок з СПКЯ може бути причиною неадекватного фолікулогенезу та розладів процесів овуляції.

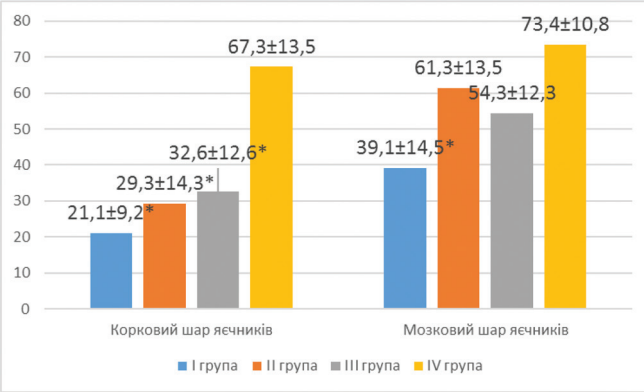

Рис. 8. Рівень експресії рецепторів прогестерона в тканинах яєчників, %
Примітка: ** - різниця достовірна відносно IV групи (p< 0,05)*

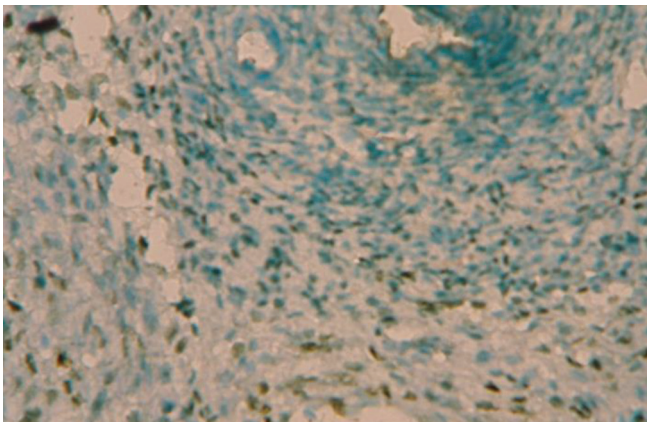

Рис. 9. Мікрофотографія. Кора яєчника жінки I групи дослідження. Позитивна реакція експресії рецепторів прогестерону. Імуногістохімічна реакція виявлення експресії рецепторів прогестерону непрямим стрептовідинпероксидазним методом. Ок.10.

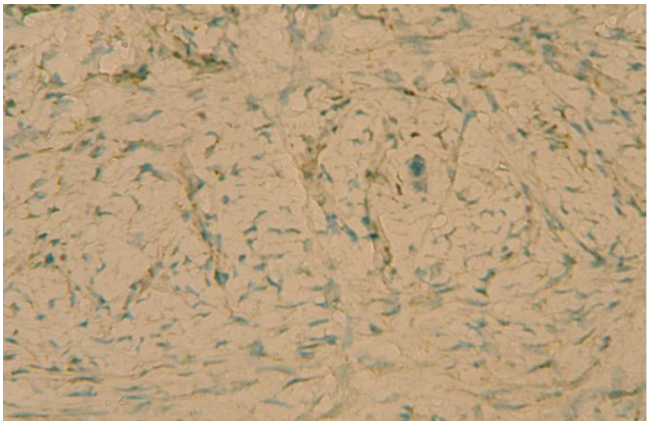

Рис. 10. Мікрофотографія. Кора яєчника жінки II групи дослідження. Позитивна реакція експресії рецепторів прогестерону. Імуногістохімічна реакція виявлення експресії рецепторів прогестерону непрямим стрептовідин-пероксидазним методом. Ок.10. Об.40

Визначення експресії проліферативно-регенеративного маркеру КІ-67 показало зниження або повну її відсутність. Так, і у корковому шарі яєчників, і в ендотелії судин та стромі яєчників жінок I групи експресія маркера КІ-67 була знижена і складала 2,9±3,6% в корковому шарі, 5,4±4,3% – в мозковому шарі, 11,4±4,8% - в ендотелії судин, що було істотно меншим за показники в II групі – 14,5±10,1%, 34,2±12,6% та 27,1±9,4% відповідно, у III групі –11,6±9,7%, 39,6±10,4% та 7,6±7,5% відповідно та в IV групі 47,3±9,5%, 66,6±10,2% та 49,3±8,8% (p1-2;1-3;1-4;2-4;3-2;3-4<0,05),. Наші дослідження виявили досить високий рівень експресії КІ-67 в епітелії фолікулів пацієнток II групи – 45±19,1%, а також IV групи – 69,3±8,8% на відміну від практично повної відсутності експресії у жінок I та III груп (0,4±0,8% та 0,3±0,6% відповідно) (p1-2;1-4;3-2;3-4) (рис. 11, 12).

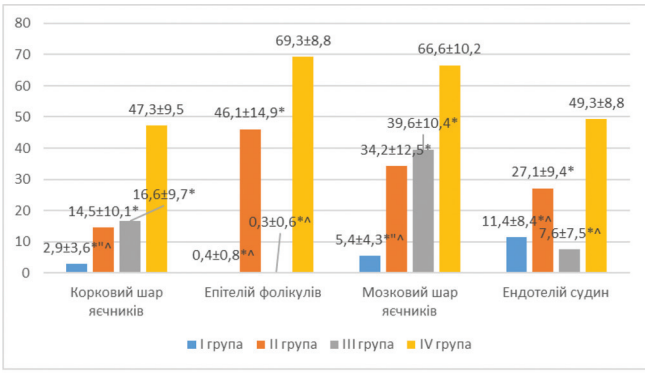

Рис. 11. Рівень експресії проліферативно-регенеративного маркера Кі-67 в тканинах яєчника, %
Примітка: *** - різниця достовірна відносно IV групи (p< 0,05);*
" - різниця достовірна відносно III групи (p< 0,05);
^ - різниця достовірна відносно II групи (p< 0,05).

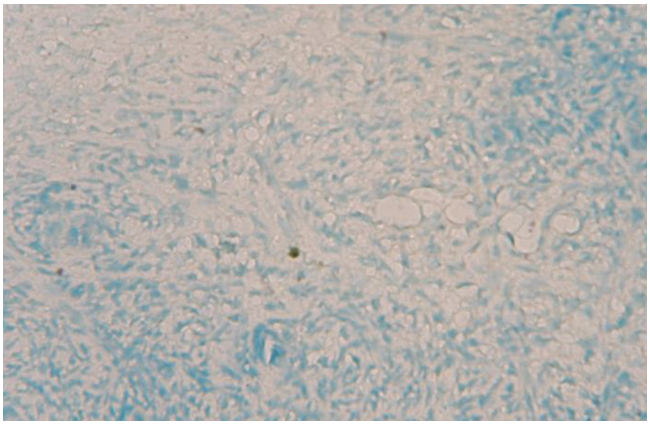

Рис. 10. Мікрофотографія. Кора яєчника жінки I групи дослідження. Слабо позитивна експресія в поодиноких клітинах строми проліферативного маркера Кі-67. Ок.10.Об.40

Виявлені нами особливості експресії маркеру проліферації можуть свідчити про зниження проліферативних процесів в яєчниках обстежених жінок з СПКЯ на тлі запального процесу. Зниження маркеру проліферації на тлі запалення може спричиняти уповільнення росту життєздатних фолікулів, тому зупинка їх росту до преовуляторної стадії відбувається в результаті порушень ауто- паракринної

регуляції фолікулогенезу та стероїдогенезу. Збільшення маркеру проліферації в епітелії яєчників жінок з ізольованим СПКЯ, навпаки, може призводити до росту більшої кількості фолікулів, що має місце при синдромі полікістозних яєчників.

Висновки

Проведені дослідження показали, що запальні захворювання геніталій можуть відігравати важливу роль у формуванні проявів СПКЯ у жінок з нормальною масою тіла. За наявності запального процесу у пацієнток з СПКЯ відбувається лімфо- та плазмоцитарна інфільтрація в стромі яєчників, особливо в корі, на що вказує позитивна експресія маркеру плазмоцитів CD-138, а також стаз з розширенням дрібних судин, що призводить до порушення мікроциркуляції в яєчниках, склеротичних змін та фіброзу. Крім того, при поєднанні СПКЯ та запалення в корковому шарі яєчників, у тому числі, в епітелії фолікулів та стромі істотно порушується експресія рецепторів естрогенів і прогестерону, а також проліферативного маркеру Ki-67. Таким чином можна вважати, що зазначені порушення в утворенні комплексів гормон-рецептор в клітинах фолікула і стромі яєчника є однією зі складових причин порушення процесів фолікулогенезу та продукції гормонів при СПКЯ як причини безпліддя, а також порушення регуляції системи гіпоталамус - яєчники.

З огляду на це, важливим завданням можна вважати своєчасне виявлення запальних процесів у жінок з СПКЯ, особливо за відсутності ожиріння, і своєчасне проведення протизапальної терапії, яка спрямована на профілактику розвитку проявів СПКЯ і нормалізацію функції яєчників.

Література

1. Ehrmann D. Polycystic ovary syndrome / D. Ehrmann // New England Journal of Medicine.− 2005.− Vol.352.

2. Кулагина Н.В. Опыт лечения синдрома поликистозных яичников / Н.В. Кулагина, О.А. Ефименко // Репродуктивная эндокринология. − 2012. − № 2 (4).− С. 74–78.

3. Phenotypic expression, body mass index and insulin resistance in relation to LH levels in women with polycystic ovary syndrome / I. Katsikis, A. Karkanaki, G. Misichronis [et al.] // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.− 2011.− Vol.156.−P.181–185.

4. Balen, A.H. Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients / A.H. Balen, G.S. Conway, G. Kaltsas // Hum Reprod.− 1995.− Vol.10.− P.2107–2111.

5. Li Y. Follicle-stimulating hormone suppressed excessive production of antimullerian hormone caused by abnormally enhanced promoter activity in polycystic ovary syndrome granulosa cells / Y. Li, L.-N. Wei, X.-Y. Liang // Fertil. Steril. Elsevier.− 2011.− Vol. 95(7).− P.2354-8.

6. Quezada S. Evaluation of steroid receptors, coregulators, and molecules associated with uterine receptivity in secretory endometria from untreated women with polycystic ovary syndrome / S. Quezada // Fertil. Steril. Elsevier.− 2006.− Vol. 85(4).− P.1017-1026.

7. Lessey B.A. Estrogen receptor-alpha (ER-alpha) and defects in uterine receptivity in women / B.A. Lessey // Reprod. Biol. Endocrinol.− 2006.− №4.− P.59.

8. Смирнова С.Н. Функциональная морфология яичников в условиях измененного гомеостаза на разных стадиях онтогенеза у белых крыс при СПКЯ / С.Н. Смирнова // Таврический медико-биологический вестник. − 2013. − Т. 16, № 1. − С. 228-231.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ НА ФОНЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ МАЛОГО ТАЗА

Н.В. Косей, Т.Д. Задорожна, Г.В. Ветох

ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», КНП «Консультативно-диагностический центр Днепровского района г.Киев» (г.Киев, Украина)

Резюме. Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) является наиболее частой эндокринопатией у женщин репродуктивного возраста.

Мы изучали морфологические и иммуногистохимические особенности структуры яичников у пациенток с нормальной массой тела при СПКЯ на фоне воспалительных процессов гениталий.

Проведенные исследования показали, что воспалительные заболевания гениталий могут играть важную роль в формировании проявлений

MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY FEATURES OF OVARIES FOR WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME ON THE BACKGROUND OF PELVIC INFLAMMATORY DISEASE

N.V. Cossey, T.D. Zadorozhna, G.V. Vetoh

SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology NAMS Ukraine» CNR «Advisory Diagnostic Center Dnieper area, Kiev» (Kiev, Ukraine)

Summary. Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrinopathies for women of reproductive age.

We studied the morphological and immunohistochemistry features of the structure of the ovaries for women with normal-weight PCOS on the background of inflammatory processes of the genitals.

Studies have shown that pelvic inflammatory diseases can play an important role in the manifestation of PCOS for women with normal

СПКЯ у женщин с нормальной массой тела. При наличии воспалительного процесса у пациенток с СПКЯ происходит лимфо- и плазмоцитарная инфильтрация в строме яичников, особенно в коре, на что указывает положительная экспрессия маркера плазмоцитов CD-138, а также стаз с расширением мелких сосудов, что приводит к нарушению микроциркуляции в яичниках, склеротическим изменениям и фиброзу. Кроме того, при сочетании СПКЯ и воспаления в пробковом слое яичников, в том числе, в эпителии фолликулов и строме существенно нарушается экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона, а также пролиферативного маркера К и-67. Таким образом можно считать, что указанные нарушения в образовании комплексов гормон-рецептор в клетках фолликула и строме яичника являются одной из составляющих причин нарушения процессов фолликулогенеза и продукции гормонов при СПКЯ как причины бесплодия, а также нарушения регуляции системы гипоталамус - яичники.

Учитывая это, важной задачей можно считать своевременное выявление воспалительных процессов у женщин с СПКЯ, особенно при отсутствии ожирения, и своевременное проведение противовоспалительной терапии, направленной на профилактику развития проявлений СПКЯ и нормализации функции яичников.

Ключевые слова: синдром поликистозных яичников, иммуногистохимия, рецепторы эстрогена и прогестерона, маркер плазмоцитов CD-128, пролиферативный маркер КИ-67.

body weight. Provided that there is inflammation in patients with PCOS occurs lymphocytic and plasma cells infiltration ovarian stroma, particularly in the cortex, as indicated by positive expression of these markers in plasma cells CD-138 and stasis with expansion of small vessels, which leads to disruption of the microcirculation in ovaries, sclerotic changes and fibrosis. Additionally, when coupled PCOS and inflammation in a pith layer ovaries, including follicular epithelium and stroma significantly impaired expression of estrogen and progesterone receptors, as well as a proliferative marker Ki-67. Thus we can assume that the violations in the formation of hormone-receptor complexes in cells and stromal ovarian follicle is a component of the causes of the processes of folliculogenesis and hormone production in PCOS as a cause of infertility, as well as dysregulation of the hypothalamic - ovaries.

Given this important task can be regarded as timely detection of inflammatory processes in women with PCOS, especially in the absence of obesity and timely anti-inflammatory therapy aimed at preventing the development of PCOS symptoms and normalization of ovarian function.

Key words: polycystic ovary syndrome, immunohistochemistry, estrogen and progesterone receptors, plasma cells marker CD-128, the proliferative marker Ki-67.