
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АНГИОАРХИТЕКТониКИ ВЛАГАЛИЩНОЙ СТЕНКИ У ЖЕНЩИН В СОСТОЯНИИ ПОСТОВАРИОЭКТОМИИ

Л.В. Покуль

Краснодарский краевой клинический онкологический диспансер
Димитрова, 46, Краснодар, Россия, 350000

И.Д. Евтушенко

Кафедра акушерства и гинекологии
Сибирский государственный медицинский университет
Московский тракт, 2, Томск, Россия, 634050

О.Ю. Чухрай

Краснодарский краевой клинический онкологический диспансер
Димитрова, 46, Краснодар, Россия, 350000

В статье рассмотрена проблема нарушения кровоснабжения влагалища женщины в состоянии медикаментозной и хирургической менопаузы после проведенного этиопатогенетического лечения, включавшего тотальную гистерэктомию с придатками, сочетанную лучевую терапию и полихимохимиотерапию (СЧЛ, ПХТ) по результатам экспрессии Cd34 и стероидных половых гормонов крови, в частности эстрадиола. Проведено сравнение с группой женщин в состоянии постовариоэктомии, развившейся после хирургического лечения по поводу доброкачественных заболеваний внутренних гениталий. Обосновывается патогенетическая роль хирургических и лучевых воздействий на влагалище женщины.

Ключевые слова: постовариоэктомиический синдром, экспрессия Cd34, эстрадиол.

Согласно современным представлениям, эстрогены являются инициаторами в пятиуровневой системе регуляции менструально-овариального цикла женщины. Одномоментное удаление яичников или их медикаментозная кастрация вызывают неизбежные «поломки» в работе пятиступенчатой системы. Современными отечественными и зарубежными исследователями описаны патогенетические влияния эстрогенного дефицита на развитие полиорганных нарушений в состоянии естественной менопаузы [7; 8]. Выделена их роль в возникновении урогенитальных атрофий у женщин в постменопаузе [6]. Определено, что эстрогеновый дефицит в постменопаузе сопровождается резким снижением кровообращения во влагалище до уровней различной степени ишемий, вплоть до резко выраженной [6; 7; 9; 10]. Однако описанных данных, характеризующих кровообращение влагалища у женщин в состоянии постовариоэктомии, обусловленной проведенными специальными методами лечения рака тела и шейки матки, с позицией иммуногистохимического исследования влагалищной стенки на сегодняшний день нет.

Цель исследования: изучить состояние артериоло-венозного микрососудистого русла влагалищной стенки при помощи клона Cd34 у женщин с постовариоэктомиическим синдромом.

Материалы и методы исследования. В работе представлены результаты клинического наблюдения, лабораторного и инструментального обследования 354 женщин в состоянии постовариоэктомии медикаментозного и хирургического генеза. Критериями включения в исследование явились: информированное согласие женщины, постовариоэктомиический синдром, развившийся после проведен-

ного этиопатогенетического лечения по поводу рака тела и шейки матки, репродуктивный возраст женщины. Критериями исключения расценивались онкозаболевание других локализаций, рецидив или прогрессирование основного заболевания, возраст, превышающий 45 лет. В основную группу I ($n = 85$) вошли пациентки после проведенного хирургического лечения (простая, расширенная экстирпация матки с придатками по Вертгейму, Бохману). В основную II группу ($n = 131$) вошли женщины, пролеченные комбинированными методиками (оперативное лечение в сочетании с лучевой — СЧЛ и полихимиотерапией — ПХТ). Основная группа III ($n = 70$) включала пациенток, находившихся в медикаментозной менопаузе после сочетанной лучевой терапии. В группу IV (группа сравнения; $n = 68$) вошли женщины с доброкачественными заболеваниями внутренних гениталий, получившие хирургическое лечение в объеме простой экстирпации матки с придатками.

Обследование пациенток проведено по плану, включающему сбор клинико-анамнестических данных, комплекс лабораторных, инструментальных методик: иммуноферментное исследование гормонов крови; выполнение биопсии влагалищной стенки в средней ее трети; сбор и статистическая обработка полученных результатов. Иммуногистохимическое исследование биоптатов проводилось в отделении патоморфологии Краснодарского краевого клинического онкологического диспансера. Метод разработан на идентификации и определении в клетке различных структур, имеющих антигенные свойства, посредством маркера (клона) Cd34, являющегося антигеном гемопоэтических клеток предшественников, экспрессирующихся в клетках эндотелия капилляров, нейронах, эмбриональных фибробластах [3].

Для получения статистических данных о количественном соотношении тех или иных компонентов в структуре ткани использовался метод визуального подсчета объектов по Г.Г. Автандилову. При этом в окуляр светового микроскопа помещалась специальная тестовая система [1]. Для иммунного окрашивания использовали двухэтапный непрямой пероксидазный метод с демаскировкой антигена и визуализации реакции при помощи En Vision системы фирмы «Dako» (Дания) [5]. Размер биоптата соответствовал 0,5 мм.

Изучение уровня эстрадиола в плазме крови проведено с помощью твердофазного (гетерогенного) иммуноферментного анализа с использованием наборов «Ebot», США и «Labsystem» (Финляндия). Материалом для исследования служила сыворотка венозной крови пациенток.

Статистическая обработка производилась с применением программы Statistica 6,0 и Excel.

Результаты исследования. С помощью параметрического дисперсионного анализа проведено сравнение средних величин изучаемых признаков во всех 4 группах пациенток на этапе включения в исследование. Различия наблюдались в группах женщин по возрастам. Средний возраст пациенток группы I составил $39,2 \pm 0,59$ ($\sigma = 5,45$); во II группе $38,17 \pm 0,54$ ($\sigma = 6,14$), в III группе $37,09 \pm 0,71$ ($\sigma = 5,94$) с высокой степенью достоверности ($p < 0,001$) ниже, чем пациенток группы IV $42,8 \pm 0,32$ ($\sigma = 2,64$). Статистически значимых различий в группах пациентов по анамнестическим данным: перенесенным детским и вирусным инфек-

циям, травмам, операциям на органах брюшной полости и малого таза, на щитовидной железе — не обнаружено. Сравнение показателей репродуктивной и генеративной функций, включающих отягощенные гинекологический и акушерский анамнез, также не обнаружили значимых различий между группами. В целом по всем группам исследуемых женщин у 18 чел. (5,1%) имелось бесплодие различного генеза. У остальной части пациенток установлено в анамнезе 532 беременности, окончившихся родами. При этом у 13 чел. (3,7%) беременность и роды протекали с различными осложнениями. Отличия между основными группами и группой сравнения наблюдались по двум нозологическим формам сопутствующей патологии: эндокринным заболеваниям (при $\varphi^* = 1,95$ $p \leq 0,02$) и заболеваниям сосудов (при $\varphi^* = 2,0$ $p \leq 0,02$). По нашему мнению, это обусловлено наличием в группе I женщин с ИМТ выше 30,0. Достоверно более высокая частота встречаемости сосудистой патологии в группе сравнения (группа IV) связана с наличием в данной выборке пациенток в возрасте более 40 лет.

Таким образом, проведенный сравнительный анализ между группами по клиническим, анамнестическим данным выявил достоверные различия в возрастных характеристиках, в силу специально организованного формирования групп, однако при этом в целом возраст всех обследуемых женщин находился в диапазоне репродуктивного: $38,8 \pm 0,133$ ($\sigma = 5,94$). По показателям детской заболеваемости, уровню инфекционных и вирусных заболеваний, перенесенных оперативных вмешательств различного генеза, травматизму не обнаружено достоверных различий между наблюдаемыми группами пациенток.

Анализ уровня экспрессии маркера по диаметру сосудистой капиллярной сети стенки влагилица обнаружил достоверные различия между группами (табл. 1).

Таблица 1

Показатели уровня экспрессии Cd 34 в обследованных группах ($M \pm m$)

| Группа | Частота встречаемости маркера | | |
|--------------|-------------------------------|-------------------------|------------------------|
| | сосуды крупного калибра | сосуды среднего калибра | сосуды мелкого калибра |
| I (n = 85) | $6,09 \pm 0,33$ | $4,54 \pm 0,2$ | $8,34 \pm 0,46$ |
| II (n = 131) | $1,02 \pm 0,18^{**}$ | $2,02 \pm 0,24^{***}$ | $8,01 \pm 0,45^*$ |
| III (n = 70) | $0,14 \pm 0,05^{**}$ | $0,79 \pm 0,205^{***}$ | $7,94 \pm 0,509^*$ |
| IV (n = 68) | $4,09 \pm 0,252^{**}$ | $4,03 \pm 0,345^{***}$ | $9,10 \pm 0,304^*$ |

Примечание: * в сравнениях группы IV и групп II и III $t = 2,01$ и $1,96$ соответственно $p < 0,05$;
 ** в сравнениях группы IV и групп II и III $t = 10,2$ и $15,8$ соответственно $p < 0,001$;
 *** в сравнениях группы IV и групп II и III $t = 7,6$ и $8,1$ соответственно $p < 0,01$.

При изучении прогностической значимости экспрессии Cd34 нами выявлено, что у пациенток во всех исследуемых группах и в группе сравнения сохраняется на удовлетворительном уровне состояние кровообращения сосудами мелкого калибра. При этом отмечен достоверно менее выраженный средний показатель в группах II и III женщин с проведенными лучевыми методами лечения в анамнезе, что, очевидно, связано с агрессивным воздействием внутривлагалищной гамма-терапии, способствующей склерозированию и разрушению эндотелиальной выстилки кровеносных сосудов. Также, по нашему мнению, в I, II и в IV группах наличие удовлетворительного кровоснабжения влагилицевой стенки артериями и венами мелкого калибра обусловлено развитием множества мелких коллатералей после

проведенного хирургического лечения. Логично предположить, что для восстановления ангиоархитектоники происходит рост и образование новых артериол, венул и обходных анастомозов, состоящих из сосудов мелкого калибра. При этом в группе I только у 5 чел. (5,8%) не фиксировались в биоптате сосуды мелкого калибра; в группе II число аналогичных пациентов было 9 (6,8%), в III группе — 3 (4,3%) и в группе сравнения — подобное явление отмечено только у 2 чел. (2,9%).

Изучение уровня экспрессии Cd34, маркирующего капиллярную сеть влагалища сосудами среднего калибра, обнаружило уменьшение показателя в группе II: $M = 2,02 \pm 0,24$ ($\sigma = 2,754$). В группе III с сочетанными лучевыми методами лечения в анамнезе их среднее количество составило $0,79 \pm 0,205$ ($\sigma = 1,719$).

Установлено, что наиболее выражено кровоснабжение стенок влагалища сосудами крупного калибра у женщин I и IV групп ($M = 6,09$ и $4,09$ соответственно). У пациенток II и III групп количество крупных сосудов значительно меньше: в сравнении с IV группой при $t = 10,2$ и $15,8$ соответственно $p < 0,001$. При сравнении показателей по группам пациенток II и III групп с группой I также отмечаются различия высокого уровня достоверности ($t = 16,9$ и $18,6$ соответственно, т.е. $p < 0,001$).

В группах II и III средние показатели количества сосудов крупного калибра находились в пределах $1,02 \pm 0,18$ ($\sigma = 2,017$) и $0,14 \pm 0,05$ ($\sigma = 0,427$). В основной группе II только у 31 чел (24%) обнаружены артерии и вены крупного калибра. В основной группе III число таких пациенток было 8 (11,4%). На высоко достоверном уровне ($p < 0,001$) имелись различия в количестве артериоло-венозных сплетений сосудов среднего калибра у женщин I и III групп в сравнении с группой IV ($t = 7,6$ и $8,1$ соответственно). Вместе с этим сравнение показателей Cd34 между I и IV группами обнаружили отсутствие достоверно значимых отличий ($t = 1,2$; $p > 0,05$). Ухудшение кровотока в данных подгруппах обуславливалось двумя факторами: нарушением анатомических взаимоотношений сосудистого русла ввиду хирургических пособий и патологическим влиянием лучевых методов.

Уровень эстрадиола в плазме крови в группе I составил $M = 32,27 \pm 3,31$ ($\sigma = 30,54$) пг/мл; II — соответственно — $M = 32,05 \pm 2,37$ ($\sigma = 27,54$) пг/мл; III — $M = 47,24 \pm 4,6$ ($\sigma = 38,52$) пг/мл; и IV — $M = 31,28 \pm 2,44$ ($\sigma = 20,14$) пг/мл.

Полученные результаты дают основание говорить о наличии достоверно значимых различий в продуцировании эстрадиола у пациенток III и IV групп (при $t = 3,07$, $p < 0,01$). В группах I и II уровень эстрадиола также превышал значения показателей группы IV, однако статистически достоверных различий между ними выявлено не было ($t = 0,02$ и $t = 0,2$, т.е. $p > 0,05$). По нашему мнению, превышения концентраций эстрадиола в группах I, II связано с наличием в данных выборках около половины женщин с ожирением: индекс массы тела выходил за границы 30, что обуславливало усиление ароматазной активности внегонадного стероидгенеза [6]. Кроме того, уровень содержания эстрадиола в группах I и II, превышающий показатели группы IV, был связан с присутствием в выборках пациенток с диагнозом рака тела матки I патогенетического гормонозависимого варианта. В группе I таких женщин 40,0% (31 чел.) и в группе II — 29,8% (39 чел.).

Как известно, I-й патогенетический вариант рака тела матки основывается на многообразном проявлении гиперэстрогении и сопутствующему ей ожирению [1], что в нашем исследовании согласуется с показателями эстрадиола крови у пациенток I и II групп.

Обсуждение. Современная концепция ПОЭС состоит в признании роли резкого одномоментного «выключения» яичников, приводящего к развитию катастрофического дефицита половых гормонов, в частности эстрогенов [6]. У женщин в состоянии постовариоэктомии, отягощенных онкологическими заболеваниями тела и шейки матки, наблюдается тройной патологический «эффект» уrogenитальных нарушений. С одной стороны, низкое содержание эстрогенов в плазме крови, с другой стороны — с нарушением сосудистых взаимоотношений во влагалищной стенке в связи с перенесенной тотальной гистерэктомией с придатками и, наконец, с агрессивным воздействием лучевой гамма-терапии. Так, при проведении лучевой терапии рака шейки матки часто наблюдаются лучевые реакции со стороны тканей влагалища, мочевого пузыря, прямой кишки. При проведении дистанционной и внутриволостной гамма-терапии в границы облучаемых полей попадают «критические» органы, к которым относится и влагалище. В проводимом исследовании мы руководствовались критериями RTOG/EORC — 1995 г. [2]. Лучевые повреждения влагалищной стенки приводят к проявлению влагалищных атрофий и изменению локального кровотока. Полученные результаты наблюдений биоптатов влагалищной стенки у женщин II и III групп, свидетельствующие о катастрофически сниженном количестве артериовенозных сплетений из сосудов крупного и среднего калибра согласно экспрессии Cd34, по нашему мнению, объясняются агрессивным локальным воздействием лучевой терапии на влагалищную стенку. Изменение кровоснабжения влагалища в группах с проведенным хирургическим этапом лечения связано с нарушением анатомических взаимоотношений органов и с компенсаторным ростом «новых» артериовенозных анастомозов сосудов мелкого калибра [4].

Эстрогены воздействуют на имеющиеся в сосудистой стенке специфические клетки сосудов, подавляя секрецию коллагена этими клетками. Эстрогенам также присущи эндотелий зависимый и эндотелий независимый сосудорасширяющие эффекты, улучшение функции эндотелия и торможение тока кальция через кальцевые каналы. Не менее важным фактором среди положительных эффектов эстрогенов является их способность улучшать рост эндотелия, а также тормозить апоптоз и пролиферацию гладкомышечных клеток в ответ на повреждение сосудов [5]. В проведенном исследовании результаты показателей эстрадиола группы III свидетельствовали о достоверно значимых различиях в сравнении с группой IV. На наш взгляд, в группе III медикаментозное и лечебное воздействие лучевой и химиотерапии, безусловно, привело к развитию менопаузы, однако факт наличия показателей эстрадиола, превышающих показатели групп I, II и IV, несмотря на наличие в данных выборках женщин с высоким ИМТ и I вариантом рака тела матки, может свидетельствовать о продолжающемся на невысоком уровне синтезе эстрогенов и андрогенов тека-тканью яичников.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Автандилов Г.Г.* Медицинская морфометрия. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.
- [2] *Гранов А.М., Винокуров В.Л.* Лучевая терапия в онкогинекологии и онкоурологии. — СПб., 2002. — 352 с.
- [3] *Криволапов Ю.А., Леенман Е.Е.* Морфологическая диагностика лимфом. — СПб., 2006. — 208 с.
- [4] *Кулаков В.И., Селезнева Н.Д., Краснопольский В.И.* Оперативная гинекология. — М., 1990. — 464 с.
- [5] *Петров С.В., Райхлин Н.Т.* Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. — Казань, 2004. — 451 с.
- [6] *Сметник В.П.* Медицина Климактерия. — М., 2006. — 848 с.
- [7] *Forsberg J.G.* A morphologist approach to the vagine-age-related changes and estrogen sensitivity // *Maturitas*. — 1995. — № 22. — Suppl. P. 7—15.
- [8] *Notelovitz M.* Estrogen therapy in the management to problems associated with urogenital ageing—a simple diagnostic test and the effect of the route of hormone administration // *Maturitas*. — 1995. — Vol. 115. — № 22. — P. 31—33.
- [9] *Samsioe G.* Medical and surgical strategies for treating urogenecological disorders // *Int. J. Fertil.* — 1996. — № 41(2). — P. 136—141.
- [10] *Ulmsten U.* On urogenital ageing // *Maturitas*. — 1995. — № 2. — P. 163—169.

IMMUNOHISTOCHEMICAL ASSESSMENT ANGIOARCHITECTURE A VAGINAL SIDE AT WOMEN IN A POSTOVARIECTOMY STATE

L.V. Pokul

Hospital of Clinical Oncology by Krasnodar
Demitrova, 146, Krasnodar, Russia, 350000

I.D. Evtushenko

Department of Gynaecology
Siberian Government University
Moscowski Trakt, 2, Tomsk, Russia, 634050

O.U. Chuhrai

Hospital of Clinical Oncology by Krasnodar
Demitrova, 146, Krasnodar, Russia, 350000

In article the disturbance problem of blood flow the vaginas of the woman in a state of a medicinal and surgical menopause after spent этиопатогенетического the treatment including total hysterectomy, radiation therapy and polychemotherapy by results of an expression Cd34 and bloods steroid sexual hormones, in particular aestradiolum. Comparison with bunch of women in a state of the postovariectomy which have educed after surgical treatment concerning good-quality diseases of internal genital. The pathogenetic role of surgical and radial influences on a vagina of the woman is proved.

Key words: postvarioectomic syndrome, an expression Cd34, aestradiolum.