

# Вплив медикаментозної корекції на морфологічні зміни лейоміоми матки

О.О. Литвак

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ  
ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної і клінічної медицини» ДУС, м. Київ

**Мета дослідження:** морфологічне вивчення міоматозної тканини і ендометрія у пацієнток із лейоміомою матки після лікування препаратом улпіристалу ацетат (УА).

**Матеріали та методи.** Проведено гістологічне та імуногістохімічне дослідження лейоміом, видалених шляхом міомектомії, і ендометрія у 15 пацієнток після тримісячного курсу лікування препаратом УА – 5 мг на добу (безплідні пацієнтки з лейоміомою матки без ендокринної патології). У групі порівняння досліджували 15 лейоміом у фертильних жінок без передопераційної гормональної терапії.

**Результати.** У пацієнток, які вживали УА, у гладком'язових клітинах лейоміоми відзначали достовірне зниження експресії рецепторів прогестерону, маркерів інгібітора апоптозу Bcl-2 і проліферативної активності Ki-67. У гладком'язових клітинах міоми під впливом УА відбувається зменшення кількості рецепторів прогестерону, тобто знижується його дія, внаслідок чого відбувається індукування апоптозу і зниження процесів проліферації. За рахунок цього відбувається інволюція міоми. Ендометрій при лікуванні УА набуває характерних змін, які потрібно диференціювати з естроген-індукованими змінами або гіперплазією.

**Заключення.** Отримані результати необхідно урахувати під час розроблення тактики ведення жінок із лейоміомою матки.

**Ключові слова:** лейоміома матки, медикаментозна корекція, морфологія.

Лейоміома матки (ЛМ) – одна з найбільш поширених доброякісних пухлин жіночих статевих органів, яка у 20–45% випадків є причиною безплідності, у 50–70% – хірургічних втручань, у тому числі видалення органа, що відповідно призводить до погіршення якості життя жінки [1–3]. В останні роки існує тенденція до збільшення кількості пацієнток молодого віку з ЛМ, що робить особливо актуальним упровадження органозберігальних операцій з метою збереження репродуктивної функції [4–5].

У консервативному лікуванні ЛМ використовують різні блокатори рецепторів прогестерону, які пригнічують ріст міоми і можуть приводити до її регресії. Одним з таких препаратів є улпіристалу ацетат (УА), який діє безпосередньо на рецептори прогестерону в ЛМ, ендометрії, гіпофізі, пригнічує овуляцію без значущого впливу на рівень продукції естрогенів і глюкокортикоїдів. Пригнічуючи процеси проліферації і посилюючи апоптоз клітин ЛМ, він не діє на навколишній міометрій. Взаємодія УА з рецепторами прогестерону в аденогіпофізі не впливає на продукцію пролактину і адренкортикотропного гормону, разом з тим пригнічує продукцію фолікулостимулюючого і лютеїнізуючого гормонів [5].

Проведені на сьогодні дослідження свідчать, що у майбутньому цей препарат може зайняти самостійну терапевтичну нішу і лягти в основу персоналізованого і органозберігального лікування ЛМ, а також, можливо, інших гормональнозалежних захворювань органів жіночої репродуктивної системи [2, 9].

**Мета дослідження:** морфологічне вивчення міоматозної тканини і ендометрія у пацієнток з ЛМ матки після лікування УА.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведено гістологічне та імуногістохімічне дослідження ЛМ, видалених шляхом міомектомії, і ендометрія у 15 пацієнток після тримісячного курсу лікування УА – 5 мг на добу (безплідні пацієнтки з міомою матки без ендокринної патології). Вік жінок становив від 26 до 40 років (середній вік –  $35,8 \pm 4,2$ ). У групі порівняння досліджували 15 ЛМ у фертильних жінок без передопераційної гормональної терапії або контрацепції. Пацієнтки були у віці від 29 до 42 років (середній вік –  $38,6 \pm 3,4$  року). У пацієнток основної групи розміри домінантного вузла до лікування становили  $8,6 \pm 1,4$  см, після лікування –  $4,8 \pm 1,2$  см; у пацієнток групи порівняння розміри домінантного вузла становили  $5,2 \pm 1,5$  см. В обох групах вузли локалізувалися інтрамурально і субмукозно. За гістологічною будовою всі вузли були простими ЛМ.

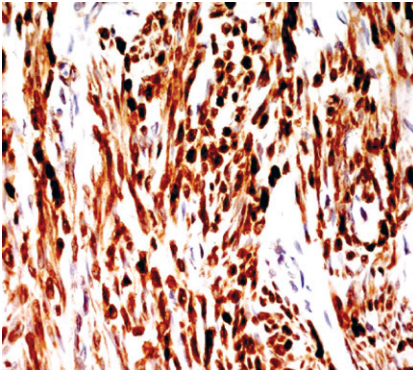
Фрагменти тканини лейоміоми і ендометрія фіксували у 10% розчині нейтрального забуференого формаліну. Для проводки матеріалу після фіксації використовували гістопроектор карусельного типу STP-120, для заливки парафінових блоків – станцію EC-350, для різання парафінових блоків – ротатійний мікротом серії HM-340E (Microm, Hamburg, Germany). Фарбували гістологічні препарати гематоксиліном та еозином. Використовували мікроскоп Axioskop 40 з фотокамерою AxioCam MRc5 (CarlZeiss).

У тканині лейоміоми у серійних парафінових зрізах товщиною 4–5 мкм проведено імуногістохімічне дослідження рецепторів естрогену (DAKO, EP1), прогестерону (DAKO, PgR636), маркера проліферативної активності Ki-67 (DAKO, SP6), інгібітора апоптозу Bcl-2 (BCL-2- $\alpha$  Ab-1 (100/D5), а також системи візуалізації EnVision FLEX (DAKO) з діамінобензидином (ДАБ). Процес забарвлення шляхом послідовних циклів інкубації реагентів і промивки на предметних скельях проводили в автостейнері виробництва Thermo Scientific. Препарати дофарбовували гематоксиліном Майєра. Продуктом імуногістохімічних реакцій є дрібні коричневі гранули у ділянках локалізації антигену. Для рецепторів естрогену і прогестерону, Ki-67 – це ядра клітин, для Bcl-2 – цитоплазма і ядра клітин.

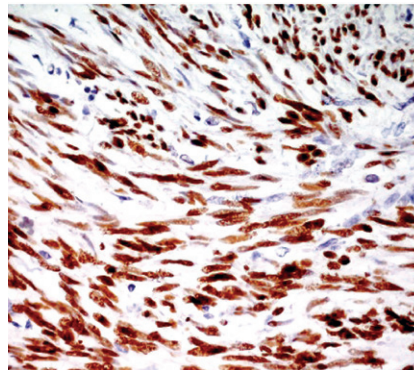
Результати імуногістохімічних реакцій оцінювали за допомогою напівкількісного морфометричного методу [10]. Візуально оцінювали інтенсивність забарвлення клітин у балах від 0 до 3 (негативна, слабка, помірна і виражена реакція) і підраховували відсоток позитивно зафарбованих клітин при кожному значенні інтенсивності забарвлення, по 1000 клітин у 10 полях зору з найбільш вираженою імуногістохімічною реакцією при збільшенні мікроскопа 400.

Також визначали середню площу експресії у відсотках – відношення площі з імунопозитивними клітинами/ядрами до загальної площі клітин/ядер у полі зору. Зазначені параметри відображають інтенсивність синтезу та накопичення досліджуваних гормонів і сигнальних молекул у клітинах і тканинах.

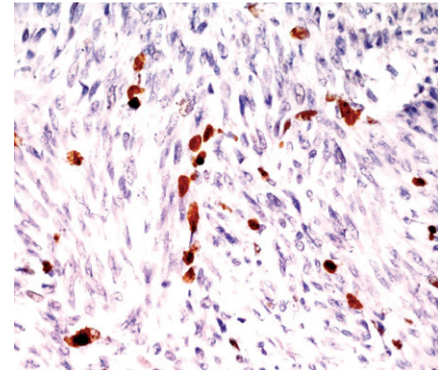
Ехографічні та доплерометричні дослідження проводили за загальноприйнятими методиками [7–8].



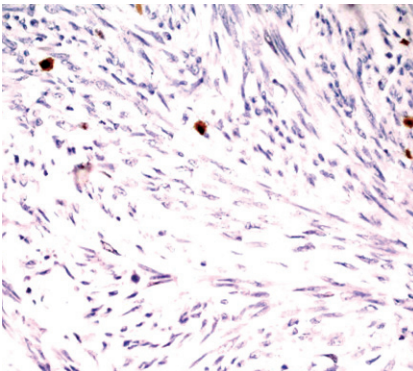
**Мал. 1.** Експресія ядрами гладком'язових клітин лейоміоми прогестеронових рецепторів. Пацієнтка без гормонального лікування. Імуногістохімічне дослідження.  $\times 400$



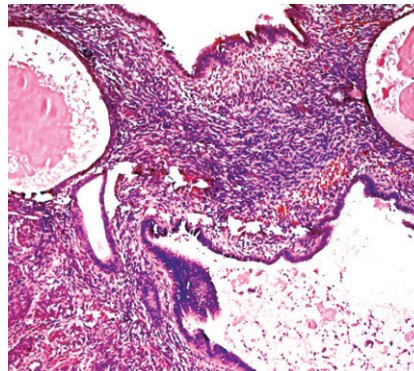
**Мал. 2.** Експресія ядрами гладком'язових клітин лейоміоми прогестеронових рецепторів. Пацієнтка після вживання УА. Імуногістохімічне дослідження.  $\times 400$



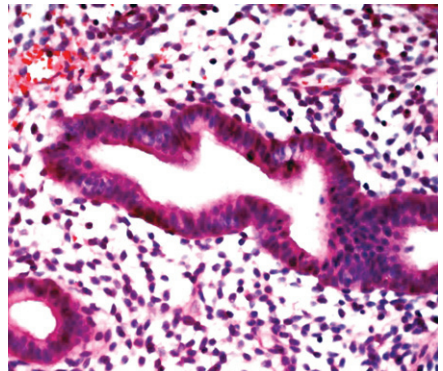
**Мал. 3.** Експресія ядрами гладком'язових клітин лейоміоми білка Ki-67. Пацієнтка без гормонального лікування. Імуногістохімічне дослідження.  $\times 400$



**Мал. 4.** Експресія ядрами гладком'язових клітин лейоміоми білка Ki-67. Пацієнтка після вживання УА. Імуногістохімічне дослідження.  $\times 400$



**Мал. 5.** Ендометрій пацієнтки після вживання УА – кістозно-розширені залози зі слабкопроліферуючим сплюсненим епітелієм. Забарвлення гематоксином та еозином.  $\times 200$

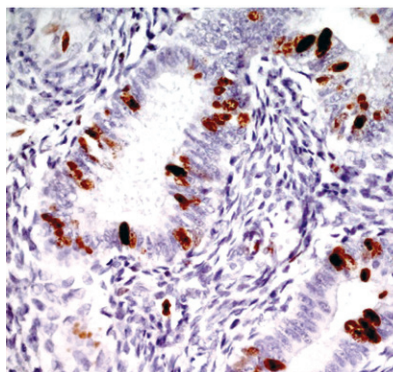


**Мал. 6.** Ендометрій пацієнтки після вживання УА – залози ендометрія зі слабкопроліферуючим епітелієм. Забарвлення гематоксином та еозином.  $\times 200$

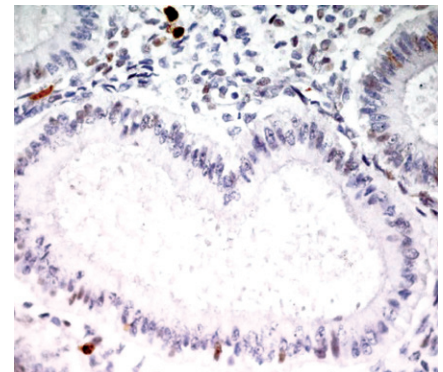
### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У групі пацієток із ЛМ без передопераційного гормонального лікування рецептори прогестерону експресували  $76,4 \pm 6,8\%$  ядер (мал. 1). Рецептори естрогену визначали у  $32,8 \pm 2,6\%$  ядер. Ці дані збігаються з даними літератури [6], у яких відзначено, що зразки міоми характеризувалися достовірно більшою експресією прогестеронових рецепторів порівняно з естрогеновими рецепторами.

У групі пацієток після лікування УА привертати на себе увагу менші розміри гладком'язових клітин та їхніх ядер у ЛМ, а також відзначено вогнищевий склероз і гіаліноз строми міоматозних вузлів. Визначали достовірно зниження експресії рецепторів прогестерону –  $36,8 \pm 1,28\%$  ( $p < 0,05$ ) (мал. 2) і недостовірне зниження рівня експресії естрогенів –  $30,7 \pm 3,4\%$  ( $p > 0,05$ ). Така тенденція описана раніше у випадках застосування препарату з антипрогестивним ефектом – міфепрестону. В імуногістохімічних дослідженнях виявлено значне зменшення кількості рецепторів прогестерону, у той час як рівень рецепторів естрогенів не змінювався, що дозволило припустити можливість регресії міоматозного вузла у результаті прямого антипрогестеронового впливу. У той самий час деякі автори [4] відзначають підвищення експресії рецепторів прогестерону ядрами гладком'язових клітин при збереженні рівня рецепторів естрогенів у групі пацієток, які вживали УА. На думку авторів [1], виявлена тенденція до підвищення експресії рецепторів прогестерону клітинами лейоміоми після терапії УА, можливо, є компенсаторним процесом. Але за такого підходу складно пояснити механізм дії УА як селективного модулятора рецепторів прогестерону. Прогестерон стимулює ріст міоми через



**Мал. 7.** Експресія ядрами епітеліальних клітин ендометрія білка Ki-67. Пацієнтка без гормонального лікування. Імуногістохімічне дослідження.  $\times 400$



**Мал. 8.** Вкрай низька експресія ядрами епітеліальних клітин ендометрія білка Ki-67. Пацієнтка після вживання УА. Імуногістохімічне дослідження.  $\times 400$

набір ключових генів, що регулюють як апоптоз, так і проліферацію. При зв'язуванні з цими рецепторами прогестерон стимулює у клітинах лейоміоми вироблення факторів росту (EGF) та інгібітора апоптозу протоонкогена Bcl-2. У результаті експресія маркерів проліферації у клітинах лейоміоми підвищується, а активність апоптозу знижується.

Отже, прогестерон здатний впливати на ріст міоми за допомогою блокування апоптозу, що призводить до збільшення життєвого циклу пухлинних клітин, а також підвищує їхню проліферативну активність.

Маркер інгібітора апоптозу Bcl-2 у групі порівняння був виявлений у 65,4±7,2% клітин. У пацієток після вживання УА відзначали достовірне зниження інгібітора апоптозу Bcl-2 – 42,6±3,2% (p<0,05). Це не збігається з даними низки авторів [9], які відзначають лише незначне і статистично недостовірне зниження експресії інгібітора апоптозу Bcl-2 у групі пацієток, які вживали УА.

Маркер проліферації Ki-67 у пацієток без гормонального лікування визначали в 11,8% ядер гладком'язових клітин (мал. 3), а у жінок, що вживали УА, – у 7,2% клітин лейоміоми (мал. 4). Це збігається з даними деяких авторів [10], які виявили статистично значуще зниження проліферативної активності гладком'язових клітин у групі пацієток після вживання УА.

Морфологія ендометрія після вживання УА подібна до естроген-індукованих змін ендометрія або його гіперплазії, проте зміни архітекtonіки залоз, їхнього епітелію, стромі і судин ендометрія утворюють специфічну морфологічну картину.

У більшості спостережень будова і взаємне розташування залоз варіює у межах одного біоптату, значна частина залоз кістозно розширені. Спостерігаються звивисті залози, іноді фестончастої, зіркоподібної форми, які більше відповідають секреторній фазі, і прямі залози з вузьким просвітом. Кістозно-розширені залози можуть бути оточені «коміром» з щільно розташованих стромальних клітин видовженої форми. У просвіті залоз, частіше кістозно-розширених, накопичується воднянистий секрет (мал. 5). При РАЕС (Progesterone Associated Endometrial Changes) епітелій залоз виглядає неактивним або слабкопроліферуючим, з поодинокими мітозами (мал. 6). Під час дослідження в ендометрії маркера проліферативної активності Ki-67 у пацієток, що вживали УА, відзначено вкрай низьку його експресію порівняно з групою пацієток без гормонального лікування ЛМ (мал. 7, 8). Хоча структура залоз більше відпо-

відає секреторній фазі, залозистий епітелій зазвичай сплюснений кубічний або призматичний, без ознак або зі слабковираженою стратифікацією ядер, з поодинокими мітозами (див. мал. 7).

Частина епітеліоцитів містить у цитоплазмі базальні вакуоли; спостерігається секреторний епітелій з ознаками апокринової секреції, особливо у кістозно-розширених залозах. Строма зі щільним розташуванням клітин, низькою проліферативною активністю, без ознак периваскулярної децидуоподібної реакції. Залозисто-стромальне співвідношення не порушено, але залози часто розподілені нерівномірно. Спостерігаються скупчення артерій з потовщеними стінками.

Патоморфолог, не знайомий з морфологічними особливостями РАЕС, може помилково діагностувати естроген-індуковані зміни ендометрія або його гіперплазію, для яких також характерні порушення структури і розташування залоз із кістозним розширенням їхнього просвіту. Однак при естроген-індукованих змінах ендометрія або його гіперплазії навіть розширені залози вистелені переважно проліферувальним, не сплюсненим епітелієм із ознаками псевдостратифікації і фігурами мітозів; епітелій більшості залоз має форму, характерну для середньої або пізньої стадії фази проліферації. Головна ознака РАЕС, окрім порушення форми і розмірів залоз, – це переважання слабкопроліферуючого сплюсненого і малоактивного секреторного або індіферентного епітелію. РАЕС спостерігається приблизно у 60% пацієток із симптомними ЛМ, які лікувалися протягом трьох місяців препаратом УА. Зміни ендометрія оборотні і самостійно регресують протягом декількох тижнів після завершення курсу терапії.

## ВИСНОВКИ

У пацієток, які вживали улипристалу ацетат (УА), у гладком'язових клітинах лейоміоми відзначали достовірне зниження експресії рецепторів прогестерону, маркерів інгібітора апоптозу Bcl-2 і проліферативної активності Ki-67. Отже, у гладком'язових клітинах міоми під впливом УА відбувається зменшення кількості рецепторів прогестерону, тобто зменшується його дія, внаслідок чого відбувається індукування апоптозу і зниження процесів проліферації. За рахунок цього відбувається інволюція міоми. Ендометрій під час лікування УА набуває характерних змін, які потрібно диференціювати з естроген-індукованими змінами або гіперплазією.

Отримані результати необхідно урахувати під час розроблення тактики ведення жінок із лейоміомою матки.

## Влияние медикаментозной коррекции на морфологические изменения лейомиомы матки Е.О. Литвак

**Цель исследования:** морфологическое изучение миоматозной ткани и эндометрия у пациенток с лейомиомой матки после лечения препаратом улипристала ацетат (УА).

**Материалы и методы.** Проведено гистологическое и иммуногистохимическое исследование лейомиом, удаленных путем миомэктомии, и эндометрия у 15 пациенток после трехмесячного курса лечения препаратом УА – 5 мг в сутки (бесплодные пациентки с лейомиомой матки без эндокринной патологии). В группе сравнения исследовали 15 лейомиом у фертильных женщин без предоперационной гормональной терапии.

**Результаты.** У пациенток, которые принимали УА, в гладкомышечных клетках лейомиомы отмечали достоверное снижение экспрессии рецепторов прогестерона, маркеров ингибитора апоптоза Bcl-2 и пролиферативной активности Ki-67. В гладкомышечных клетках лейомиомы под воздействием УА происходит уменьшение количества рецепторов прогестерона, снижается его действие, вследствие чего происходит индуцирование апоптоза и снижение процессов пролиферации. За счет этого происходит инволюция лейомиомы. Эндометрий при лечении УА приобретает характерные изменения, которые необходимо дифференцировать с эстроген-индуцированными изменениями или гиперплазией.

**Заключение.** Полученные результаты необходимо учитывать при разработке тактики ведения женщин с лейомиомой матки.

**Ключевые слова:** лейомиома матки, медикаментозная коррекция, морфология.

## Influence of medicament correction on morphological changes of leiomyoma of uterus O.O. Litvak

**The objective:** to conduct morphological research of myomatous tissue and an endometriya at patients with uterus leiomyoma after treatment by preparation ulipristale acetate.

**Materials and methods.** Histological and immunohistochemical research of the leiomyomas removed by myomectomy, and an endometriya at 15 patients after trimensual course of treatment by preparation ulipristale acetate – 5 mg at days on (patients with uterus leiomyoma without endocrine pathology) is conducted. In control group investigated 15 leiomyomas at o women without preoperative hormonal therapy.

**Results.** At patients who accepted ulipristale acetate in the cells of leiomyoma reliable depression of an expression of receptors of Progesteronum, markers of inhibitor of apoptosis of Bcl-2 and proliferative activity of Ki-67 became perceptible. In the leiomyoma cells under influence ulipristale acetate there is decrease of quantity of receptors of Progesteronum, its action owing to what there is induction of apoptosis and depression of processes of proliferation at the expense of what there is leiomyoma involution decreases. Endometrium at treatment ulipristale acetate gets characteristic changes which need to be differentiated about estrogen the induced changes or hyperplasia.

**Conclusion.** The received results needs to be considered when developing tactics of maintaining women with uterus leiomyoma.

**Key words:** uterus leiomyoma, medicament correction, morphology.

**Литвак Елена Олеговна** – Кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии ГНУ «Научно-практический центр профилактической и клинической медицины» ГУД, 01014, г. Киев, ул. Верхняя, 5; тел.: (050) 690-22-42

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Сидорова И.С., 2014. Морфогенез и ангиогенез простых и пролиферирующих миом матки // Российский вестник акушера-гинеколога : 4 : 1 : 8-11.
2. Окоро Бонавентуре, 2016. Современные подходы к выбору лечебной тактики ведения больных с миомой матки // Міжнародний медичний журнал : 22 : 2 : 43-46.
3. Татарчук Т.Ф., 2016. Міома матки: лікування з метою довгострокового контролю // Жіночий лікар : 1 : 3-7.
4. Татарчук Т.Ф., 2016. Органосохраняющее лечение симптомной лейомиомы матки у пациенток репродуктивного возраста // Репродуктивна ендокринологія: 2(28) : 94-99.
5. Татарчук Т.Ф., 2014. Новая эра в лечении миомы матки у женщин различных возрастных групп // Репродуктивна ендокринологія: 6(20) : 9-19.
6. Бурлев В.А., 2017. Локальный и системный ангиогенез у больных с миомой матки // Проблемы репродукции : 13 : 1 : 26-33.
7. Давыдов А.И., 2016. Возможности 3D трансвагинальной эхографии в диагностике доброкачественных заболеваний матки и придатков // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии : 1 : 47-52.
8. Каменецкий Б., 2011. Допплерометрия кровотока в сосудах матки как прогностический фактор при лечении бесплодия методами вспомогательной репродукции // Проблемы репродукции : 4 : 4-17.
9. Dubuisson J.B., 2011. Laparoscopic myomectomy fertility results // Ann. N Y. Acad. Sci. : 943 : 269-275.
10. Задорожна Т.Д., 2013. Морфологічні методи дослідження міоми матки // Морфологія: 2: 43-49.

*Статья поступила в редакцию 21.12.2018*