

М.Л. Ханзадян, Т.А. Демур, М.Л. Полина

ХАРАКТЕРИСТИКИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ТАЗОВОГО ДНА ПРИ ПРОЛАПСЕ ГЕНИТАЛИЙ

УДК 618.1:611.018.2

Изучены особенности иммуногистохимического распределения экспрессии маркеров ММП-1, ММП-2 и ТИМП-1 в крестцово-маточных и круглых связках матки у женщин с пролапсом гениталий (ПГ) на материале биоптатов женщин в возрасте от 42 до 65 лет, взятых в ходе влагалищной гистерэктомии. Выявлено, что снижение накопления ТИМП-1 на фоне высокой экспрессии металлопротеиназ при ПГ контрастирует с уровнем экспрессии умеренной ММП-2, низкой ММП-1 и умеренной ТИМП-1 в группе контроля, что влияет на плотность внеклеточного матрикса. Разрыхление соединительной ткани наряду с уменьшением ее эластичности, растяжимости и прочности сопровождалось деградацией волокон и повышенным распадом коллагена, определяя патобиохимию нарушений при тазовой дисфункции.

Ключевые слова: пролапс гениталий, матриксные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы матриксных протеиназ.

The objective of our study is to clarify the distribution of immunohistochemical marker expression of MMP-1, MMP-2 and TIMP-1 in the sacrouterine and round ligaments of the uterus among women with genital prolapse. The research was performed on the material of biopsies of sacrouterine and round ligaments of the uterus on both sides taken during vaginal hysterectomy from 15 women with genital prolapse aged 42 to 65 years old. It was found that the decrease in the accumulation of TIMP-1 on the background of high expression of metalloproteinases in the POP contrasts with a moderate level of expression of MMP-2, low MMP-1 and moderate TIMP-1 in the control group, which affects the density of the extracellular matrix. Connective tissue loosening, reducing of its elasticity and tensile strength was accompanied by degradation of fibers and increased degradation of collagen, defining pathobiochemical disorders in the pelvic dysfunction.

Keywords: genital prolapse, matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix proteinases.

Введение. Пролапс гениталий (ПГ), характеризующийся ростом заболеваемости и тяжелой дисфункцией органов малого таза, представляет не только медицинскую, но и серьезную социальную проблему [2,4]. Дисфункция тазовых органов, сочетанная с неполным опорожнением мочевого пузыря и кишечника, проявляющаяся в чувстве тяжести и инородного тела в нижних отделах живота, расстройствах мочеиспускания и диспареунии, причиняет пациенткам значительные физические и психические страдания.

Скрытая эпидемия – вот такое определение дали о проблеме несостоятельности тазового дна ввиду не только превалирования среди пациентов сегмента женщин старших возрастных групп и, согласно данным зарубежных исследователей, высокой активности образа их жизни, но и прогнозов об удвоении в течение ближайших 30 лет количества обращений за медицинской помощью [2].

Малооптимистично заключение о возрастании частоты ПГ у женщин репродуктивного возраста, неудовлетворительное качество жизни которых требует хирургической коррекции. Несмотря на обширнейшее количество способов оперативного лечения дисфункции тазового дна, ни одна из прак-

тикуемых техник не может считаться устойчиво эффективной в связи с нередкой констатацией рецидивов заболевания, последующими пластическими вмешательствами и частичной или полной нетрудоспособностью пациенток. По данным литературных источников, потребность в повторном хирургическом лечении ПГ возникает у трети больных, достигая в течение трех лет после оперативного восстановления анатомии тазового дна 61,3% [2]. Эти факты указывают на потребность в углубленном изучении аспектов этиологии и патогенеза заболевания, в отношении которых до сих пор не достигнуто консенсуса [14]. Наряду с противоречивыми и неоднозначными суждениями, продолжаются дискуссии о повреждении какой-либо одной анатомической структуры, определяющей недостаточную фиксацию органов малого таза. Обсуждается наличие и характер повреждения мышечного слоя как основного фактора развития ПГ – развития несостоятельности тазового дна, сопровождающейся изолированной или сочетанной дисфункцией тазовых органов. Данная теория, выдвинутая впервые в 1907 г. J. Halban и J. Tandler, диссонирует с учением Schultze (1881) о ведущей к развитию опущения, а затем и выпадения матки недостаточности поддерживающего связочного аппарата, а именно круглых связок, согласно дальнейшим представлениям, фиксирующих связок – кардинальных (КС) и крестцово-маточных (КМС). Однако на современном витке развития медицины появились представления, что с учетом обеспечения процессов фиксации и нормально-

го функционирования органов малого таза тканями различного «фенотипа» – соединительнотканым компонентом и поперечно-полосатой мускулатурой, их вовлеченность в процесс развития ПГ также обоюдна.

Исследования последних лет позволили изучать генез ПГ с позиций роли молекулярно-биологических факторов [11]. Развитие теории дисплазии соединительной ткани (ДСТ) – состояния с различными клиническими проявлениями данной патологии, с определенными врожденными висцеромоторными поражениями, возникающими эмбрионально и постнатально, с прогрессирующим течением и рядом дисфункциональных проявлений, определило новую направленность научных изысканий в области перинеологии [3]. Вследствие заключения о наличии при ДСТ полиорганной вовлеченности и нарушений метаболизма – дефекта синтеза или деградации компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ) и дисрегуляции морфогенеза структур тазового дна, предметом тщательного изучения при ПГ оказались ткани, их гистологические и иммуногистохимические особенности [1].

Очевидно, что проявления тазовой дисфункции – как стрессовое недержание мочи, так и ПГ – могут иметь общую патофизиологическую основу, обусловленную нарушением анатомических взаимоотношений, и изменениями функциональной активности структур тазового дна не только на макро-, но и на микроуровне, остающимися неуточненными.

Основа ВКМ соединительной ткани – гелеобразная среда, эластиновые и

ХАНЗАДЯН Марина Лаертовна – к.м.н., доцент ФПК МР Российского университета дружбы народов, khmala@rambler.ru; **ДЕМУРА Татьяна Александровна** – к.м.н., доцент ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М.Сеченова», demura-t@yandex.ru; **ПОЛИНА Мирослава Леонидовна** – к.м.н., ассистент кафедры ФПК МР РУДН, polina.mi@mail.ru.

коллагеновые волокна [3]. Содержание коллагена и эластина – основных белков соединительной ткани – при ПГ резко варьирует. Коллаген I типа присутствует в костях, рубцах, сухожилиях, хрящах, II – в хрящах, III – в ретикулярных волокнах, IV – преобладает в подэпителиальном слое, базальной мембране. Эластические волокна обеспечивают эластичность и упругость тканей, коллаген – их прочность и целостность [10]. Согласно данным, у больных ПГ выявляют нарушенное соотношение их содержания: на фоне снижения общего коллагена и эластина возрастает количество фракции незрелого, более «хрупкого» коллагена [6, 13].

С учетом современных знаний о молекулярно-биологических механизмах развития ПГ перспективно изучение матриксных металлопротеиназ (ММП) – ферментов, осуществляющих деградацию и ремоделирование соединительной ткани, с высокой биологической активностью за счет регуляции гомеостаза ВКМ, экспрессией при заживлении ран в норме и ряде патологических состояний [4, 12].

ММП-1 синтезируется фибробластами соединительной ткани и моноцитами и участвует в катаболизме фибриллярных и нефибриллярных коллагенов, преимущественно в поддерживающем аппарате органов малого таза [7]. К антагонистам ММП относятся белки тканевые ингибиторы матриксных протеиназ (ТИМП), экспрессирующиеся в тканях органов малого таза для сохранения динамического равновесия [15]. Несмотря на

незначительное количество сообщений, имеются данные об избыточной у больных ПГ активности специфических ММП, участвующих в процессе распада коллагеновых волокон, не компенсируемой ТИМП [5]. Полагают, что вклад ММП в возрастание коллагенолиза может быть связан с особенностями генетических полиморфизмов, их мутантными формами, преобладающими у женщин с ПГ [13], однако сложное биохимическое взаимодействие ферментов, белков и молекул только предстоит распознать.

Повышенный интерес специалистов к изучению значимости дисбаланса компонентов ВКМ – ММП и ТИМП – в генезе несостоятельности тазового дна объясняется не только возможностью уточнения молекулярных механизмов, предрасполагающих к развитию заболевания, но и прогнозированием вероятности рецидивов.

Цель исследования: выяснить особенности иммуногистохимического распределения экспрессии маркеров ММП-1, ММП-2 и ТИМП-1 в крестцово-маточных и круглых связках матки у женщин с ПГ.

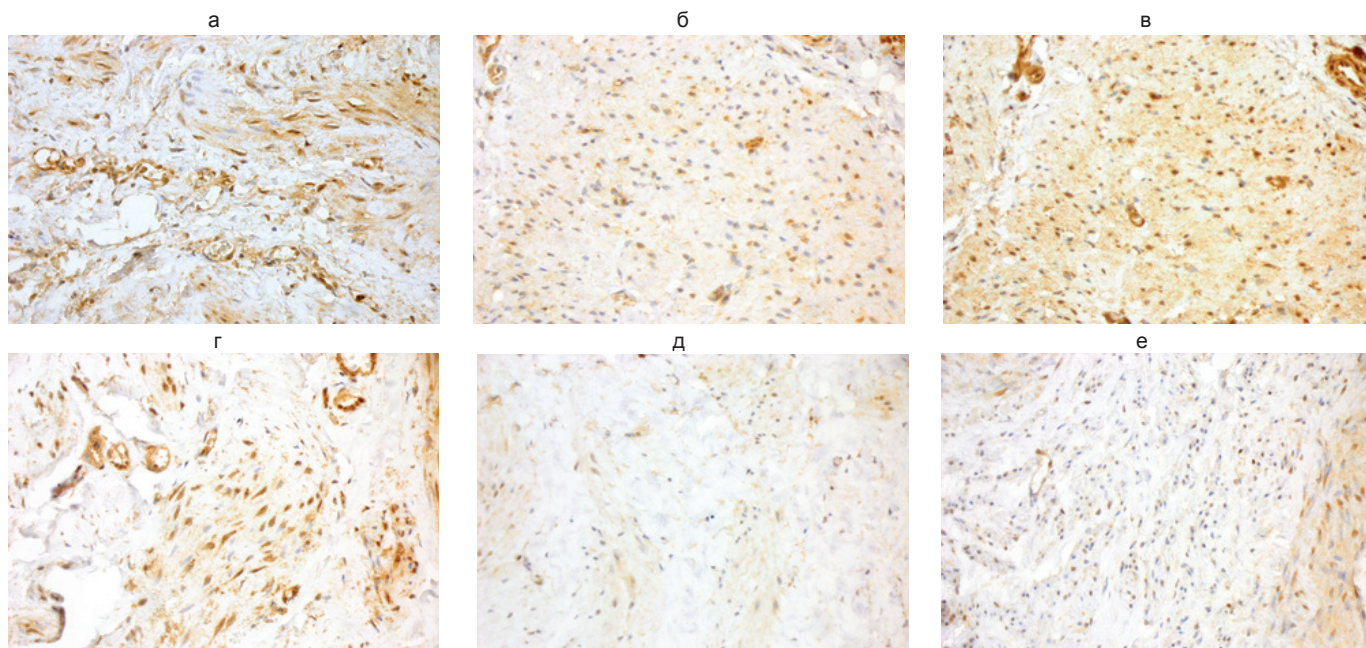
Материалы и методы. Исследование выполнено на материале биоптатов крестцово-маточных и круглых связок матки с обеих сторон 15 женщин с ПГ в возрасте от 42 до 65 лет, взятых в ходе влагалищной гистерэктомии. Контрольную группу составили биоптаты связок (крестцово-маточной и круглой) 15 женщин без ПГ, которым также производилась гистерэктомия абдоминальным доступом, в возрасте от 35

до 52 лет. От каждой пациентки было получено по 4 образца ткани: правая и левая крестцово-маточные связки и правая и левая круглые связки матки. Биоптаты фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и заливали в парафин, после чего изготавливали парафиновые срезы толщиной 4 мк. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизон и фукселином по Вейгерту. Изготавливали дополнительные неокрашенные срезы на полилизинных стеклах и проводили иммуногистохимические реакции по стандартной методике с тепловой демаскировкой антигенов с использованием первичных антител к ММП-1 и ММП-2 (LabVision, readytouse), ТИМП-1 (LabVision, 1:50).

Результаты иммуногистохимических реакций оценивали в баллах по проценту окрашенных клеток или проценту окрашенного ВКМ.

Математическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и параметрической статистики на персональном компьютере с использованием программы «Statistica 7.0».

Результаты и обсуждение. Согласно полученным данным, в соединительнотканых структурах малого таза – КС и КМС – экспрессию ММП-1 и ММП-2 наблюдали в виде глыбок коричневого цвета в экстрацеллюлярном матриксе, фибробластах связочного аппарата и в эндотелии сосудов. Аналогичную тенденцию наблюдали в отношении визуализации маркера ТИМП-1 (рисунок).



ММП-1, ММП-2 и ТИМП-1 в круглых связках матки (x400) в основной (а – ММП-1, в – ММП-2, д – ТИМП-1) и контрольной (б – ММП-1, в – ММП-2, е – ТИМП-1) группах

Связочный аппарат пациенток с ПГ характеризовался повышенным уровнем металлопротеиназной активности в сравнении с показателями в группе здоровых женщин. Экспрессия ММП-1 при ПГ оказалась вдвое больше ($4 \pm 1,2$ балла) в сравнении с показателем в контрольной группе ($2 \pm 0,8$ балла). Уровень экспрессии ММП-2 при ПГ составил $6 \pm 0,3$ балла, что достоверно (в 1,5 раза) превышало показатель накопления фермента у здоровых женщин ($4 \pm 0,5$ балла). Возрастание металлопротеиназной активности при ПГ сопровождалось снижением экспрессии естественного ингибитора ТИМП-1, уровень которого составил $1,5 \pm 0,5$ балла против $4 \pm 0,7$ баллов в группе контроля.

Таким образом, снижение накопления ТИМП-1 на фоне высокой экспрессии металлопротеиназ при ПГ контрастировало с уровнем экспрессии умеренной ММП-2, низкой ММП-1 и умеренной ТИМП-1 в группе контроля, что влияло на плотность ВКМ. Разрыхление соединительной ткани наряду с уменьшением ее эластичности, растяжимости и прочности сопровождалось деградацией волокон и повышенным распадом коллагена, определяя патобиохимию нарушений при тазовой дисфункции. Сохранность тканевого гомеостаза у здоровых женщин наблюдалась на фоне высокого содержания ТИМП-1 и незначительного, но оптимального для поддержания прочности тканей уровня экспрессии ММП.

Полученные результаты согласуются с данными о важной роли нарушения динамического равновесия процессов синтеза, посттрансляционной трансформации и деградации ММП и ТПМ в тканях связочного аппарата – КС и КМС больных ПГ. Наличие дисбаланса между ММП и их ингибиторами, инициирующего ремоделирование ВКМ в связочном аппарате матки при ПГ, подтверждают работы других исследований [7,10]. Сообщается о возрастании экспрессии ММП-1, ММП-2 и ММП-9 в КМС и ткани влагалища у больных ПГ в сравнении с контролем [9,12]. Заключение о совокупности из-

быточной активности ММП со значительным снижением ТИМП в тканях влагалища женщин европеоидной расы с ПГ в пременопаузе выступают свидетельством нарушения тканевого метаболизма компонентов соединительной ткани и ВКМ и косвенных признаков ДСТ [8].

Заключение. Проведенное исследование доказывает значимую роль соединительной ткани в фиксации и нормальном функционировании органов малого таза, детализируя, что механические свойства связочного аппарата определяются соотношением уровня экспрессии протеолитических энзимов. Установлена патогенетическая значимость активности процессов деградации и синтеза составляющих волокнистого компонента соединительной ткани при ПГ. Выявленные при ПГ молекулярно-биологические процессы тканевого ремоделирования сопровождаются изменением активности ферментного комплекса ВКМ, позволяя рассматривать иммуногистохимическую диагностику как расширение прогностических возможностей риска рецидивов заболевания после оперативного лечения. Продолжение исследований в этой области перспективно для разработки инновационных реконструктивных операций и превентивных мероприятий сокращения риска развития и рецидива ПГ.

Литература

1. Кадурина Т.И. Дисплазия соединительной ткани / Т.И. Кадурина, В.Н. Горбунова // Руководство для врачей. – СПб.: ЭЛБИ, 2009. – 704 с.
2. Kadurina T.I. Connective tissue dysplasia / T.I. Kadurina, V.N. Gorbunova // Manual for Physicians. – SPb.: ENLBI, 2009. – 704 p.
3. Радзинский В.Е. Перинеология / В.Е. Радзинский. – М., 2010. – 372 с.
4. Radzinskij V.E. Perineology / V.E. Radzinskij. – М., 2010. – 372 p.
5. Смольнова Т.Ю. Клинико-патогенетические аспекты опущения и выпадения внутренних половых органов и патологии структур тазового комплекса у женщин при дисплазии соединительной ткани. Тактика ведения: дисс. ... д-ра мед. наук / Т.Ю. Смольнова. – М., 2009. – 221 с.

Smol'nova T.Y. Clinical and pathogenetic aspects of descent and prolapse of internal genital organs and structures of the pelvic complex pathology among women with connective tissue dysplasia. Management tactics: diss. ... dokt. med. nauk / T.Y. Smol'nova. – М., 2009. – 221 p.

4. Chen B. Alterations in connective tissue metabolism in stress incontinence and prolapse / B. Chen, J. Yeh // J Urol. – 2011. – V. 186, №5. – P. 1768–72.

5. Difference in expression of collagen type I and matrix metalloproteinase-1 in uterosacral ligaments of women with and without pelvic organ prolapse / M. Vulic, T. Strinic, S. Tomic [et al.] // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2011. – V. 155, № 2. – P. 225–8.

6. Ewies A.A. Changes in extracellular matrix proteins in the cardinal ligaments of postmenopausal women with or without prolapse: a computerized immunohistomorphometric analysis / A.A. Ewies, F. Al-Azzawi, J. Thompson // Hum Reprod. – 2003. – V. 18, № 10. – P. 2189–95.

7. Expression of matrix metalloproteinase-1 in round ligament and uterosacral ligament tissue from women with pelvic organ prolapse / A. Usta, K. Guzin, M. Kanter [et al.] // J Mol Histol. – 2014. – V. 45, № 3. – P. 275–81.

8. Extracellular matrix remodeling is increased in vaginal tissue of premenopausal patients with pelvic organ prolapse / M. Alarab, O. Shynlova, H. Drutz // ReprodSci. – 2008. – № 15. – 311 p.

9. Increased expression of matrix metalloproteinase 2 in uterosacral ligaments is associated with pelvic organ prolapse / B. Gabriel, D. Watermann, K. Hancke [et al.] // Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. – 2006. – V. 17, № 5. – P. 478–482.

10. Increased expression of matrix metalloproteinase-1 in uterosacral ligament tissue from women with pelvic organ prolapse / T. Strinic, M. Vulic, S. Tomic [et al.] // Acta Obstet Gynecol Scand. – 2010. – V. 89, № 6. – P. 832–4.

11. Kerkhof M.H. Changes in connective tissue in patients with pelvic organ prolapse a review of the current literature / M.H. Kerkhof, L. Hendriks, H.A. Brölmann // Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. – 2009. – V. 20, № 4. – P.461–74.

12. Matrix metalloproteinases -1, -2 expression in uterosacral ligaments from women with pelvic organ prolapse / T. Strinic, M. Vulic, S. Tomic [et al.] // Maturitas. – 2009. – № 64. – P.132–135.

13. Pelvic floor disorders: linking genetic risk factors to biochemical changes / L. Campeau, I. Gorbachinsky, G.H. Badlani [et al.] // BJU Int. – 2011. – V. 108, № 8. – P. 1240–7.

14. Petros P. The Female Pelvic Floor. Function, Dysfunction and Management According to the Integral Theory / P. Petros. – N.-Y.: Springer, 2007. – 260 p.

15. Trojanek J. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors / J. Trojanek // Postepy Biochem. – 2012. – V. 58, № 3. – P. 353– 62.