

**М.В.Медведєв**

ДЗ «Дніпропетровська  
медична академія МОЗ  
України»

**Ключові слова:**  
лейоміома, агоніст  
ГнРГ, міометрій,  
міоцити, електронна  
мікроскопія,  
псевдокапсула, строма.

*Надійшла: 27.09.2011  
Прийнята: 11.11.2011*

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2011.4.25-36>  
УДК 618.14-089.844

## **УЛЬТРАСТРУКТУРНА ОЦІНКА СТАНУ МІОМАТОЗНОЇ ТКАНИНИ І РІЗНИХ ШАРІВ МІОМЕТРІЯ У ХВОРИХ НА ЛЕЙОМІОМУ МАТКИ ПРИ ГІПО- ТА ГІПЕРЕСТРОГЕННИХ СТАНАХ, ОБУМОВЛЕНИХ РІЗНИМИ СХЕМАМИ ВИКОРИСТАННЯ АНАЛОГІВ ГОНАДОТРОПІН-РЕЛІЗИНГ ГОРМОНУ**

*Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи "Розробка нових підходів до прогнозування, профілактики і лікування гормонозалежних захворювань жіночої репродуктивної системи" (номер державної реєстрації 0107U011888).*

**Резюме.** У дослідженні проведено ультраструктурний аналіз стану клітин та екстрацелюлярного матриксу міоматозної тканини і різних шарів міометрія у 35 хворих з лейоміомою матки при довгостроковій і короткостроковій передопераційній корекції гормонального статусу за допомогою гозереліну ацетату. Вивчення ультраструктурних характеристик проводили на ультратонких зрізах на трансмісійному електронному мікроскопі. Дослідження показали, що ультраструктурні характеристики лейоміоми матки подібні до характеристик незміненого міометрія. Найбільш характерною рисою міоми матки є надмірна кількість елементів екстрацелюлярного матриксу, розташованих хаотично. Під дією а-ГнРГ відбуваються атрофічні зміни в міоцитах, які в більшості випадків не ведуть до загибелі клітин та є зворотними: зменшення розмірів міоцитів як в тканині лейоміоми, так і в тканині міометрія; дворазове зменшення кількості міофіламентів як в клітинах незміненого міометрія, так і в міомі. Під дією гіперестрогенії поряд із збільшенням розмірів ядра, кількості елементів ендоплазматичного ретикулулу та рибосом відбувалося вірогідне збільшення розмірів міоцитів як в тканині лейоміоми, так і міометрія; збільшення співвідношення конденсованого до неконденсованого хроматину (у міоцитах простої міоми – в 1,7 рази, клітинної міоми – в 2,1 рази); збільшення у 1,5 рази кількості міофіламентів як в клітинах незміненого міометрія, так і в міомі; зростання кількості мітохондрій та збільшення їх розміру у тканині лейоміоми за рахунок виразного внутрішньоклітинного набряку. Елементи екстрацелюлярного матриксу не залежать від короткотривалої дії гіперестрогенного фону та середньотривалої дії гіпоестрогенії, але синтез нових волокон знижується на тлі медикаментозної менопаузи.

**Морфологія.** – 2011. – Т. V, № 4. – С. 25-36.

© М.В.Медведєв, 2011

**Medvedev M.V. Ultrastructural assessment of leiomyoma tissue and different layers of myometrium in patients with uterine leiomyoma during hypo- and hyperestrogenic states after different schemes of gonadotroping relising hormone agonists use.**

**Summary.** In study conducted ultrastructural analysis of cells and extracellular matrix of myoma tissue and different layers of myometrium in 35 patients with uterine leiomyoma in long-term and short-term correction of hormonal status before surgery gosereline acetate. Study of ultrastructural characteristics were performed on ultrathin sections for transmission electron microscope. Studies have shown that the ultrastructural characteristics of uterine leiomyoma were similar to those of unchanged myometrium. The most characteristic feature of uterine fibroids is excessive extracellular matrix elements, arranged randomly. Under the action of a-GnRH there were atrophic changes in myocytes, which in most cases do not lead to cell death and is reversible: reducing the size of myocytes in both myomatous tissue and in normal myometrium, two-fold reduction in myofilaments amount in unchanged myometrium and in uterine myoma. Under the influence of hyperestrogenemy, along with increasing size of the nucleus, endoplasmic reticulum elements and number of ribosomes the size of myocytes was likely to increase in both myoma tissue and myometrium; increased the ratio of condensed chromatin to uncondensed one (in simple fibroids – 1.7 times, in cellular fibroids – 2.1 times); increase in 1.5 times the number of myofilaments both in unchanged myometrium and in uterine myoma; increase in number of mitochondria and increase of their size in myomatous tissue only caused mainly by intracellular edema. Elements of extracellular matrix do not depend on short-term action of hyperestrogeny and mid-term action of hypoestrogeny, but the synthesis of new fibers is reduced under action of artificial menopause.

**Key words:** leiomyoma, agonist GnRH, myometrium, myocytes, electronic microscopy, pseudocapsula, stroma.

## Вступ

Лейоміома тіла матки (ЛТМ) є одним з найбільш розповсюджених захворювань у жінок. Крім того, останні роки існує тенденція до зростання числа хворих з даної патологією серед жінок репродуктивного віку, що вимагає широкого впровадження органозберігаючих методів лікування (Тихомиров А.Л., Лубнин Д.М., 2006).

Золотим стандартом інвазивного лікування лейоміоми матки залишається консервативна міомектомія, яка дозволяє видалити патологічне утворення зі збереженням або відновленням фертильності. Нажаль, міомектомія не завжди дає задовільні результати. За даними літератури, приблизно 25-50% жінок мають рецидив після міомектомії і 10% потребують повторного оперативного втручання у період від 1 до 10 років після першої операції (Lin J.F., Slomovitz V.M., 2008; Татарчук Т.Ф., 2009).

Агоністи ГнРГ – найбільш ефективні препарати для медикаментозного лікування міоми матки на сьогоднішній день. Вони ефективно знижують експресію відповідних рецепторів та викликають суттєву редукцію рівнів ЛГ, ФСГ та яєчникових стероїдів. Вважається, що зменшення одних міоматозних вузлів відбувається головним чином за рахунок клітинного компоненту, інші вузли взагалі не реагують на а-ГнРГ. Отже, ці механізми досі не є повністю зрозумілими (De Leo V., Morgante G., 2002).

Слід відмітити, що використання цих препаратів може викликати рецидиви захворювання у пацієнок з міомою матки. Такі рецидиви не є справжніми, а скоріше наслідок зменшення вузлів в розмірі та, отже, їх не видалення під час операції. Слід також згадати про досить відомий небажаний ефект після передопераційного використання а-ГнРГ – змінення псевдокапсули міоматозних вузлів таким чином, що їх стає важче видалити (Беженарь В.Ф., 2008). Vercellini P. та співавтори (2003) порівняли результати абдомінальної міомектомії із застосуванням та без застосування а-ГнРГ перед хірургічним втручанням. В групі, що отримувала а-ГнРГ, відмічена редукція розмірів ЛТМ на 22%, але не було виявлено вірогідної різниці в інтраопераційній крововтраті, тривалості міомектомії, післяопераційної захворюваності та тривалості госпіталізації. Крім того, за численими даними дослідників, при використанні а-ГнРГ була тенденція до підвищення частоти рецидивів міоми (Lethaby A., 2002).

У зв'язку з вищепереліченими недоліками традиційного використання а-ГнРГ нами була сформульована гіпотеза транзитornoї гіперваскуляризації міоми перед оперативним

втручанням за рахунок flare-up ефекту аналогів ГнРГ у перші 5-10 діб після ін'єкції. Використання запропонованої схеми разом з оклюзією маткових артерій під час міомектомії дозволило скоротити час оперативного втручання, суттєво знизити крововтрату, виразність симптомів, частоту рецидивів та повернути якість життя до рівня здорових жінок (Медведев М.В., 2011).

Отримані клінічні результати та накопичення значного обсягу інформації у даному напрямку сприяло розширенню можливостей подальшого розвитку лікувальних технологій, проте потребують уваги питання структурно-функціональної оцінки клітин і тканин матки при застосуванні різних методик лікування міом. Залишається актуальним вивчення ультраструктурних змін, що відбуваються протягом передопераційної підготовки у складі клітин і міжклітинного простору міометрія з урахуванням рівня статевих гормонів. Не втрачає доцільності визначення морфології різних ділянок міометрія в залежності від локалізації відносно міоматозного вузла як при звичайному оваріально-менструальному циклі, так і за умов різної експозиції препаратів а-Гн-РГ.

**Мета** даного дослідження полягає в ультраструктурній оцінці стану міоматозної тканини і різних шарів міометрія у хворих з лейоміомою матки при довгостроковій і короткостроковій передопераційній корекції гормонального статусу за допомогою аналогів ГнРГ.

## Матеріали та методи

Аналіз проводили в зразках інтраопераційних біоптатів, отриманих під час органозберігаючих оперативних втручань у 35 пацієнок з функціонуючим оваріально-менструальним циклом, у яких діагностовано ЛТМ. Контингент хворих розподіляли на три групи. До групи I увійшли 11 пацієнок, які протягом 6 місяців перед оперативним втручанням не отримували будь-яких фармакологічних засобів, що впливають на рівень статевих гормонів. Міомектомію лапароскопічним або лапаротомним доступом з паралельним вилученням біоптатів виконували в фолікулінову фазу циклу, тобто за умов превалювання дії естрадіолу. Групу II складала 12 пацієнок, які протягом 3 місяців перед операцією отримували три ін'єкції гозереліну ацетату (Zoladex®, "AstraZeneca UK Limited", Великобританія) в дозі 3,6 мг і мали низький рівень статевих гормонів. До групи III увійшли 12 пацієнок, яким перед операцією на початку менструації вводили гозереліну ацетат в дозі 3,6 мг, а наприкінці першого тижня циклу (на фоні підвищеного рівня ФСГ і естрадіолу) проводили

міомектомію з перманентною двобічною оклюзією маткових артерій.

У всіх пацієнток інтраопераційні біоптати розміром 1 мкм<sup>3</sup> отримували з 5 ділянок: 1) з центру вузла міоми; 2) з тканини псевдокапсули; 3) з підслизового шару макроскопічно неушкодженого міометрія; 4) судинного шару; 5) надсудинного шару.

Тканинні зразки протягом 3 годин фіксували при +2°C в 2,5%-ному розчині глютарового альдегіду ("SPI", США), виготовленому на 0,2М фосфатному буфері (рН 7,4). Матеріал звільняли від глютаральдегіда за допомогою 0,2М цукрози та переносили для постфіксації в 1%-ний забуферений (рН 7,4) розчин тетроксиду осмію ("SPI", США) при +21°C протягом 1 години. Зневоднювали зразки за допомогою пропіленоксиду в розчинах зростаючої концентрації. Для виготовлення епоксидних блоків використовували композицію епон-аралдіт. Виготовлення ультратонких зрізів проводили на ультрамікромомі УМТП-6М ("SELM", Україна) в автоматичному режимі.

Зрізи розташовували на мідних сітках G200 Square Mesh ("SPI", США), контрастували 2%-ним розчином ураніацетату при +37°C протягом 15-20 хвилин з наступною імпрегнацією цитратом свинцю за Рейнольдсом при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Дослідження проводили на трансмісійному електронному мікроскопі ПЭМ-100-01 ("SELM", Україна) при напрузі прискорення 75 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 25000 з фотореєстрацією зображень на спеціалізованій плівці MACO™ EM Film Type S ("SPI", США).

Морфометричні ультраструктурні характеристики отриманих зразків включали підрахування середньої довжини міоцитів, середнього розміру мітохондрій, їх середню кількість у міоциті. Морфометричні вимірювання проводились на  $\geq 10$  міоцитах при повздовжній орієнтації двома дослідниками незалежно один від одного, причому жоден із дослідників не знав, до якої клінічної групи належать зразки, що досліджуються.

Морфометричні дані піддавали статистичній обробці. Визначення вірогідності розходжень між вибірками проводили з урахуванням критерію Стьюдента, а також непараметричного критерію Вілкоксона (Манна-Уїтні) у разі відсутності нормального розподілу значень перемінної, що досліджувалась. У дослідженні було прийнято рівень статистичної значущості  $p < 0,05$ . При проведенні статистичної обробки отриманих квантифікованих результатів усі необхідні розрахунки виконували за допомогою ліцензійної програми Statistica (версія 6.1; серійний номер AGAR 909 E415822FA).

#### **Результати та їх обговорення**

Після проведеного гістологічного

дослідження всі зразки були діагностовані як доброякісні прості або клітинні лейоміоми матки.

Аналіз ультраструктурних досліджень ультратонких зрізів інтраопераційних біоптатів різних ділянок міометрія хворих з лейоміомою матки дозволив з'ясувати, що зміни гормонального фону, викликані дією а-ГнРГ, вплинули не тільки на гістоархітектоніку тканини, але й на будову і функціонування компонентів клітин та елементів екстрацелюлярного матриксу на ультрамікроскопічному рівні.

Перед безпосереднім описом ультраструктурних ознак у досліджених зразках слід сказати, що на суттєвих відмінностей поміж різними шарами міометрія, включаючи псевдокапсулу міоми, виявлено не було. Тому подальші описи будуть стосуватися міометрія взагалі, а також тканини простої та клітинної ЛТМ. Морфометричні дані будуть представлені також для окремих шарів міометрія та псевдокапсули лейоміоми.

Нормальна архітектоніка гладком'язової клітини незміненого міометрія жінки першої групи характеризувалася міоцитами веретеноподібної форми довжиною від 30 до 200 мкм, діаметром від 4 до 10 мкм. Зразки тканини вузла жінки першої групи з простою ЛТМ (рис. 1) характеризувалися наявністю ядер з різними ступенями активності, але переважна їх кількість була з досить великим вмістом гетерохроматину, що свідчило про стан спокою. У центрі клітини було розташоване овальне чи видовжене форми ядро, заповнене хроматином різного ступеня конденсації. На периферії ядра візуалізувалася більша кількість конденсованого (з більшою електронною щільністю) хроматину, в центрі – одне або два ядерця. В деяких випадках спостерігалися різні варіанти зміни форми ядра, що пов'язано із станом скорочення міоцитів, що неможна розглядати як поліморфізм ядер. У перинуклеарному просторі зазвичай розташовувалися каналці ендоплазматичного ретикулума, площа якого коливалася у межах 2-7% від площі клітини. Подекуди візуалізувалися цистерни гладкого ендоплазматичного ретикулума та іноді – пластинчасті цистерни комплексу Гольджі з дрібногранулярним вмістом середньої електронної щільності. Скоротливий апарат міоцитів, представлений тонкими актиновими філаментами, зв'язаними з тропоміозином, був без будь-яких патологічних змін. Також в цитоплазмі чітко візуалізувалися щільні тільця – місця фіксації численних актинових філаментів. Простір поміж міоцитами був заповнений колагеновими та еластичними волокнами та аморфною рідиною. Для незміненого міометрія не було характерним скупчення великої кількості елементів

екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) – волокон колагену та еластину. Невелика кількість рибосом свідчила про досить низьку білок-синтетичну активність у даних зразках. Мітохондрії характеризувались слабкою розвиненістю крист. Розташування клітинних мікрофіламентів в клітинах міометрія та ЛТМ

жінок першої групи було переважно хаотичним, що також вказує на низьку кількість клітин у стані скорочення. Але потенціал до скорочення був достатньо великим, що підтверджується великою кількістю кавеол, розташованих вздовж внутрішньої поверхні клітинної мембрани (рис. 1).

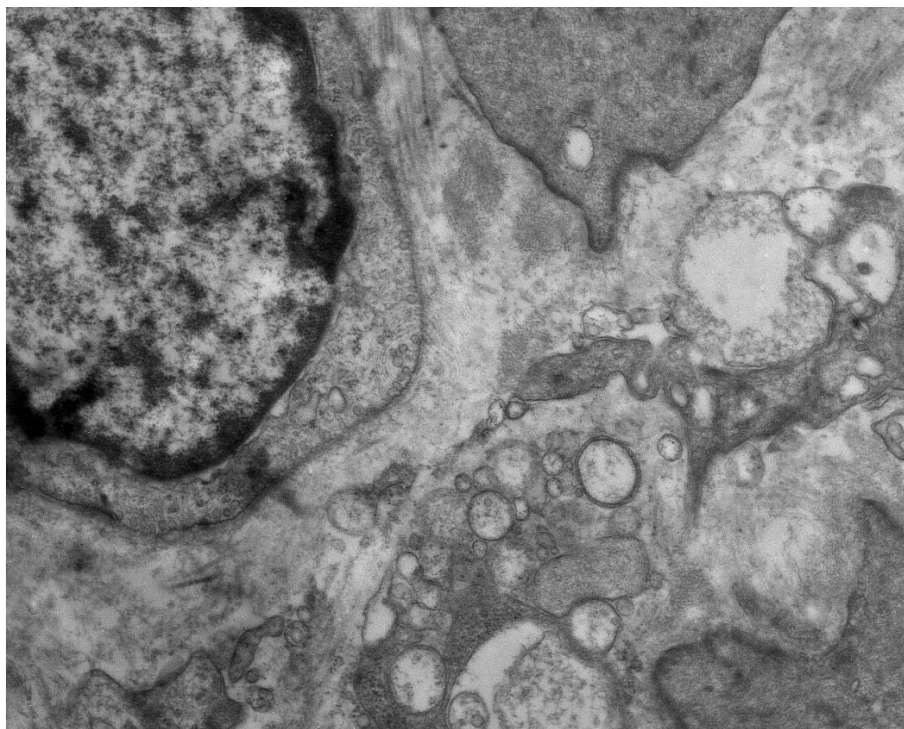


Рис. 1. Тканина судинного шару міометрія пацієнтки I клінічної групи з простою міомою. Поперечна орієнтація. Електронна мікроскопія.  $\times 22000$ .

У міометрії, отриманому у жінок з клітинною ЛТМ, не спостерігалось специфічних ультраструктурних рис, які би дозволили розрізнити його з міометрієм жінок з простою ЛТМ.

Як і в нормальному міометрії, для тканини ЛТМ було також характерне правильне розташування міоцитів у пучку. Гладком'язові клітини ЛТМ в цілому характеризувались подібною до звичайних міоцитів матки ультраструктурою, однак були виявлені клітини

із збільшенням розмірів ядра та ознаками дегенеративних процесів різного ступеня. Розміри міоцитів у тканині простої міоми не відрізнялися від розмірів міоцитів незміненого міометрія. При цьому деякі міоцити міоми були значно гіпертрофовані (до 250–300 мкм), в той час як інші – коротші за нормальні, з варіабельною формою. Для клітинної міоми, навпроти, були характерні більші середні розміри міоцитів (табл.1).

Таблиця 1  
Середня довжина міоцитів у зразках міометрія пацієнток I, II та III клінічних груп, мкм ( $M \pm m$ )

| Ділянка міометрія | Тип міоми | Клінічна група  |                  |                   |
|-------------------|-----------|-----------------|------------------|-------------------|
|                   |           | I               | II               | III               |
| Вузол             | Проста    | 134,6 $\pm$ 5,5 | 102,2 $\pm$ 3,7* | 171,3 $\pm$ 3,6** |
|                   | Клітинна  | 156,3 $\pm$ 4,7 | 113,1 $\pm$ 3,8* | 186,7 $\pm$ 5,1** |
| Псевдокапсула     | Проста    | 123,1 $\pm$ 3,5 | 97,6 $\pm$ 4,2   | 144,4 $\pm$ 4,7   |
|                   | Клітинна  | 136,1 $\pm$ 4,4 | 106,3 $\pm$ 3,7* | 156,8 $\pm$ 5,8** |
| Підслизовий шар   | Проста    | 125,1 $\pm$ 3,6 | 94,5 $\pm$ 6,1*  | 150,1 $\pm$ 4,6** |
|                   | Клітинна  | 138,3 $\pm$ 4,7 | 99,2 $\pm$ 3,8*  | 159,9 $\pm$ 4,5** |
| Судинний шар      | Проста    | 124,2 $\pm$ 4,2 | 99,6 $\pm$ 5,6   | 154,3 $\pm$ 5,9** |

|                 |          |             |              |               |
|-----------------|----------|-------------|--------------|---------------|
| Надсудинний шар | Клітинна | 130,3 ± 3,9 | 102,6 ± 3,4* | 165,3 ± 4,9** |
|                 | Проста   | 129,4 ± 5,2 | 101,1 ± 4,0  | 153,2 ± 5,5** |
|                 | Клітинна | 136,3 ± 4,4 | 104,3 ± 2,7* | 159,8 ± 4,3** |

Примітки: \* -  $p < 0,05$  у порівнянні з групою I; \*\* -  $p < 0,05$  у порівнянні групи III з групою I та II.

В окремих випадках, як і в незміненому міометрії, передмембранна зона була зайнята численними елементами субкортикального шару, перш за все дрібними везикулами (20-40 нм). Центральна частина клітини містила ядро, простір якого був заповнений хроматином різного ступеня диспергованості, причому конденсований хроматин розташовувався головним чином по периферії ядра. Для міоцитів ЛТМ були характерні добре розвинені елементи ендоплазматичного ретикулула.

Слід відмітити, що в одних і тих же лейоміомах виявлялися ділянки з різним ступенем деструкції, і навіть поряд розташовувалися міоцити з явищами різного ступеня дегенеративних змін. Ядра з такими характерними ознаками апоптоза як дестабілізація ядерної оболонки, каріопікноз, відсутність ядерних пор та ін. зустрічалися рідко. Були характерні ознаки неоднакового ступеня активності ядер навіть у клітинах, розташованих поряд (рис. 2).

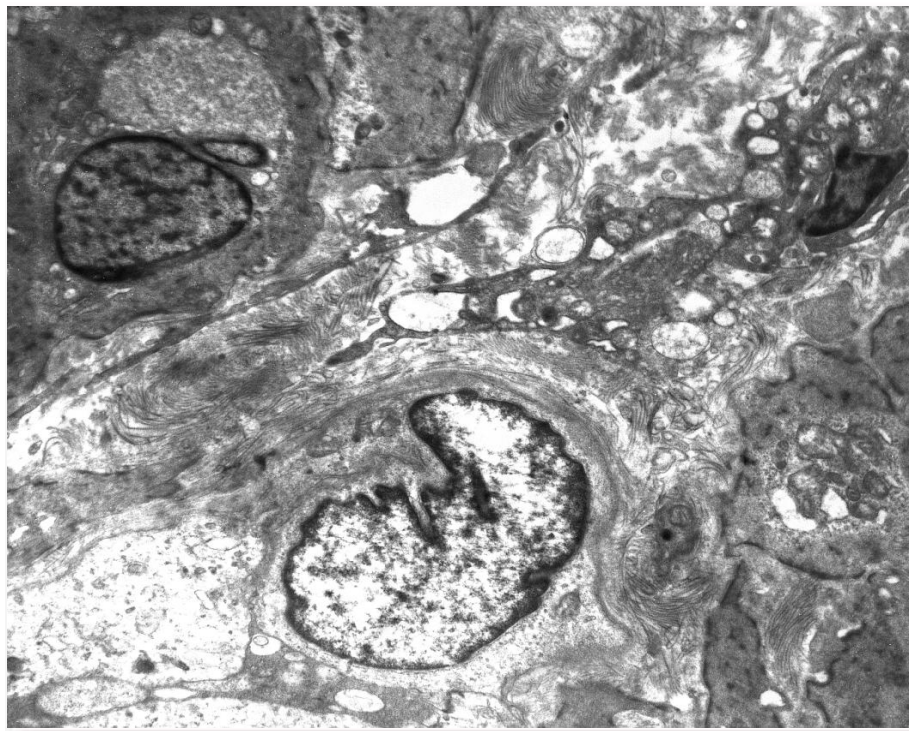


Рис. 2. Тканина вузла простої лейоміоми матки пацієнтки I клінічної групи. Тангенціальна орієнтація. Електронна мікроскопія.  $\times 8000$ .

Відносно рідкісною знахідкою були ознаки активного скорочення міоцитів у вигляді скупчення навколо внутрішньої поверхні плазмалемі великої кількості кавеол та піноцитозних міхурців, що містять іони кальцію, який необхідний для скорочення гладких міоцитів. Також для ЛТМ було характерне хаотичне розташування міофіламентів. Причому за вмістом міофіламентів міоцити простої та клітинної міоми не розрізнялися як поміж собою, так і з міоцитами нормального міометрія. Як видно на рис. 2, для простої міоми жінок першої групи було характерним скупчення великої кількості елементів ЕЦМ головним чином у

вигляді колагенових волокон, які були розташовані хаотично. Саме збільшена кількість та хаотичне розташування елементів ЕЦМ є, на нашу думку, характерною рисою міоматозної тканини.

Зразки тканини вузла жінки першої групи з клітинною ЛТМ (рис. 3) характеризувалися значно більшою кількістю клітин на одиницю площі та відносно невеликим вмістом елементів ЕЦМ в порівнянні із зразками простої лейоміоми. Кількість колагенових і еластинових волокон була суттєво вищою, ніж у зразках міометрію, отриманих у тієї самої жінки. Розміри міоцитів були більшими, ніж у зразках простої

ЛТМ та зразках різних шарів міометрію (табл. 1), але ця різниця не була статистично вагомою. Як і в зразках з простою ЛТМ, для міоцитів вузла жінок з клітинною міомою також не була характерною скоротлива здатність. Ядра демонстрували підвищену активність, що виявлялося у відносно більшому вмісті еухроматину. В таких клітинних ЛТМ на ультраструктурному рівні також відмічались дистрофічні процеси, але вони були більш стриманими, ніж у простій ЛТМ. У цілому, кількість скоротливих елементів в цитоплазмі була однаковою з клітинами простої міоми та незміненого міометрія. Проте, в цих пухлинах нерідко виявлялися ділянки значно гіпертрофованих міоцитів з різною електронною щільністю. В клітинах із збільшенням кількості контрактильних елементів візуалізувалися численні щільні тільця. Зони клітин з різною

електронною щільністю переважно виявлялися по периферії вузлів, і, імовірно, відображали різні стадії гіпертрофії міоцитів – на початковому етапі синтез великої кількості контрактильних елементів – актину і міозину, а потім – збільшення осмотично активних компонентів, органел клітини і рідини цитоплазми поряд із збільшенням площі міоцита. При цьому спостерігалися гіпертрофовані міоцити із світлою цитоплазмою. Середній розмір мітохондрій був на однаковому рівні як у зразках простої, клітинної ЛТМ, так і в різних шарах нормального міометрія (табл. 2). При підрахунку кількості мітохондрій у повздовжньому зрізі міоцита було виявлене незначне підвищення їх кількості у зразках клітинної міоми (табл. 3), але ця різниця не була вірогідною.

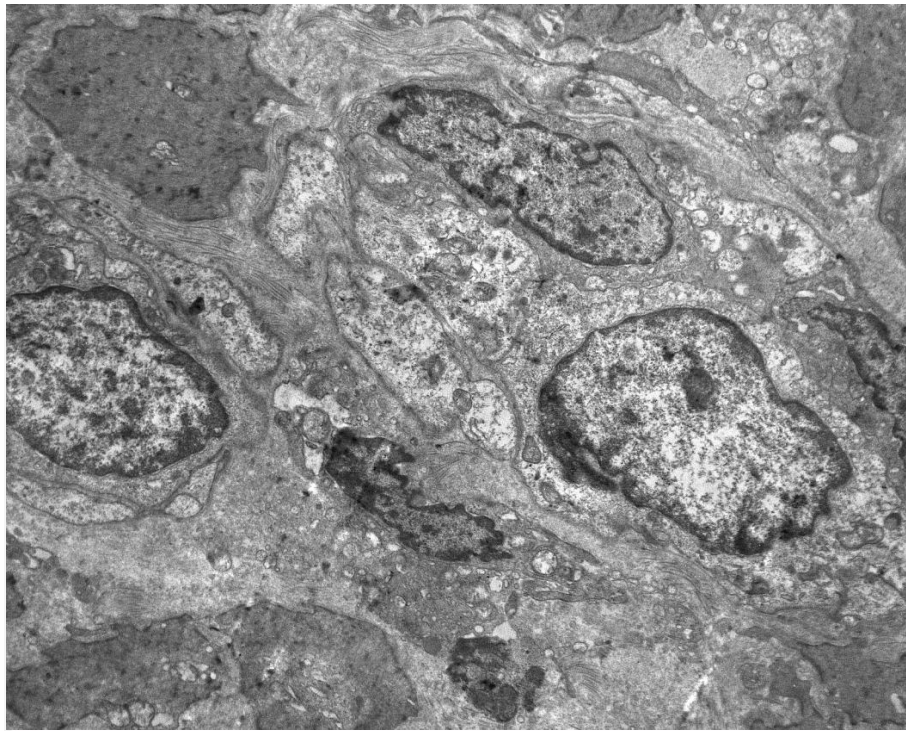


Рис. 3. Тканина вузла клітинної лейоміоми матки пацієнтки I клінічної групи. Тангенціальна орієнтація. Електронна мікроскопія.  $\times 15000$ .

Таблиця 2  
Середній розмір мітохондрій у зразках міометрія пацієток I, II та III клінічних груп, нм ( $M \pm m$ )

| Ділянка міометрія | Тип міоми | Клінічна група   |                  |                   |
|-------------------|-----------|------------------|------------------|-------------------|
|                   |           | I                | II               | III               |
| Вузол             | Проста    | 654,6 $\pm$ 35,5 | 562,6 $\pm$ 36,2 | 883,2 $\pm$ 45,6* |
|                   | Клітинна  | 637,3 $\pm$ 44,7 | 563,2 $\pm$ 44,9 | 934,8 $\pm$ 46,5* |
| Псевдокапсула     | Проста    | 664,3 $\pm$ 46,3 | 554,7 $\pm$ 36,9 | 675,8 $\pm$ 47,7  |
|                   | Клітинна  | 674,6 $\pm$ 39,4 | 577,3 $\pm$ 37,8 | 677,6 $\pm$ 54,3  |
| Підслизовий шар   | Проста    | 694,4 $\pm$ 37,4 | 564,8 $\pm$ 38,3 | 554,7 $\pm$ 49,8  |
|                   | Клітинна  | 674,7 $\pm$ 38,8 | 547,0 $\pm$ 44,2 | 538,2 $\pm$ 47,3  |

|                 |          |              |              |              |
|-----------------|----------|--------------|--------------|--------------|
| Судинний шар    | Проста   | 624,8 ± 46,2 | 564,4 ± 47,8 | 644,7 ± 54,7 |
|                 | Клітинна | 679,2 ± 39,1 | 527,6 ± 39,5 | 673,8 ± 56,9 |
| Надсудинний шар | Проста   | 664,0 ± 50,3 | 534,8 ± 37,2 | 682,1 ± 44,3 |
|                 | Клітинна | 663,1 ± 37,5 | 567,4 ± 45,9 | 677,7 ± 46,2 |

Примітка: \* -  $p < 0,05$  у порівнянні групи III з групою I та II.

Одним з найбільш характерних проявів гіпогонадотропної дії а-ГнРГ та пригнічення яєчникового стероїдогенезу було зниження електронної щільності в зоні елементів актину і міозину – суттєве зниження кількості міофіламентів та, відповідно, щільних тілець (рис. 4). Враховуючі відсутність у нашому розпорядженні надійних кількісних методів визначення вмісту міофіламентів в міоциті,

можна умовно говорити про двократне зменшення їх кількості. В першу чергу завдяки зменшенню кількості міофіламентів відбувалося вірогідне зменшення розмірів міоцитів як нормального міометрія, так і лейоміоми матки (табл. 1). Отже, а-ГнРГ діють не селективно, а впливають на будь-які міоцити, чутливі до статевих стероїдів.

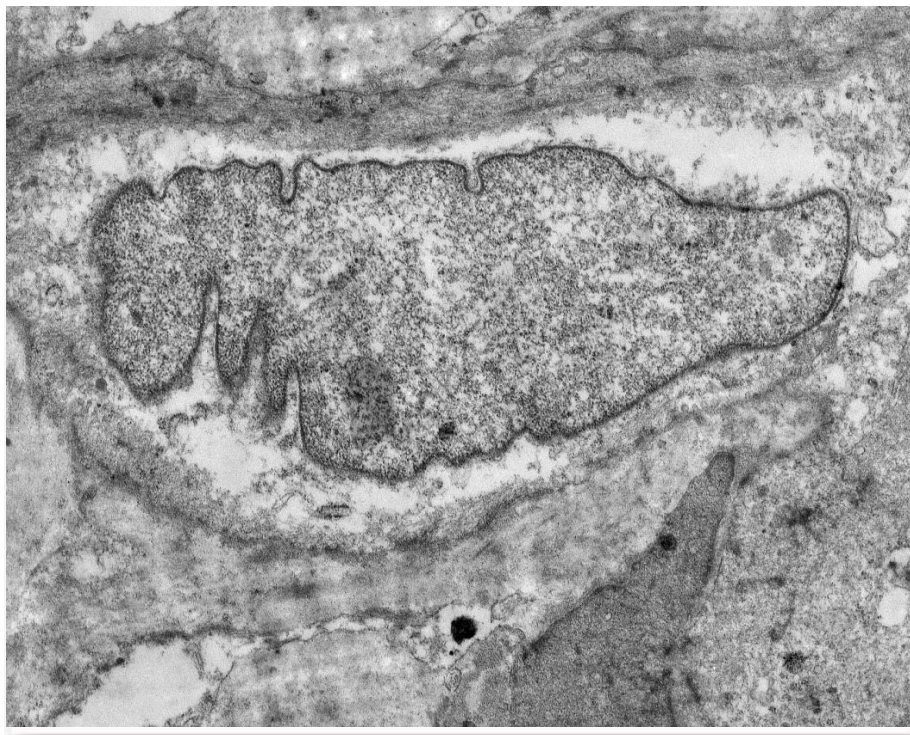


Рис. 4. Тканина вузла простої лейоміоми матки пацієнтки II клінічної групи. Тангенціальна орієнтація. Електронна мікроскопія.  $\times 22000$ .

У даній групі об'єм ядра зменшувався, його поверхня ставала більш гладкою. Одним з проявів дегенеративних змін міоцитів було виявлене збільшення кількості і розширення цистерн комплексу Гольджі та утворення великої кількості лізосом. Виявлялися клітини із зменшеною кількістю, злипанням або відсутністю скоротливих філаментів, які, ймовірно, були зруйновані в процесі лізису після вивільнення протеолітичних ферментів лізосом. Виявлялися міоцити збільшених розмірів за рахунок інтрацелюлярного набряку, в яких органели були відтиснуті на периферію клітини. Іноді спостерігалися клітини із множинними везикулами із щільним вмістом у вигляді

скручених волокон, що вказувало на підвищену лізосомальну активність клітин. Крім того, висока електронна щільність міоцитів із підвищеним вмістом контрактильних волокон та велика кількість колагенових структур навколо них свідчили про активацію їх білоксинтезуючої функції.

Деяко неочікуваною була майже повна відсутність мітохондрій з набряком. Але відбувалося зниження електронної щільності матриксу мітохондрій. На нашу думку, це пов'язано з тим, що за три місяці гіпоестрогенного фону енергетична система клітин встигала адаптуватися до цих змін. Середній розмір мітохондрій був деяко менший у

порівнянні з їх розміром у зразках I клінічної групи (табл. 2). Середня кількість мітохондрій була дещо вищою у зразках міоми та незміненого міометрія пацієток другої клінічної групи, але це зниження кількості не було статистично вагомим (табл. 3).

В окремих випадках спостерігалася дегенерація гладком'язових клітин з набряком і вакуолізацією цитоплазми, дегенерацією ядерної мембрани, набряком і фрагментацією ядра, зменшенням кількості мітохондріальних крист та зменшенням розмірів мітохондрій, розривом

цистерн ендоплазматичного ретикулума та деструкцією сарколеми, розпадом міофібрилярних структур під дією лізосомальних ферментів. Досить неочікуваним було те, що клітини з чіткими ознаками апоптозу зустрічалися вкрай рідко. Отже, механізм дії а-ГнРГ пов'язаний перш за все з виразною атрофією та дистрофією міоцитів, але не призводить до їх загибелі. На нашу думку, це спостереження є ще одним поясненням оборотного ефекту а-ГнРГ на ЛТМ.

Таблиця 3

Середня кількість мітохондрій в повздовжньому зрізі міоциту у зразках міометрія пацієток I, II та III клінічних груп,  $M \pm m$

| Ділянка міометрія | Тип міоми | Клінічна група |            |             |
|-------------------|-----------|----------------|------------|-------------|
|                   |           | I              | II         | III         |
| Вузол             | Проста    | 14,1 ± 2,1     | 9,0 ± 1,4  | 18,0 ± 2,1* |
|                   | Клітинна  | 16,4 ± 1,7     | 10,3 ± 1,3 | 19,3 ± 2,2* |
| Псевдокапсула     | Проста    | 12,8 ± 2,7     | 9,6 ± 1,4  | 13,4 ± 2,1  |
|                   | Клітинна  | 13,3 ± 2,2     | 10,3 ± 1,5 | 14,5 ± 2,0  |
| Підслизовий шар   | Проста    | 13,7 ± 1,5     | 11,6 ± 1,6 | 13,2 ± 1,4  |
|                   | Клітинна  | 14,4 ± 1,8     | 10,3 ± 1,7 | 14,2 ± 1,6  |
| Судинний шар      | Проста    | 14,7 ± 1,9     | 11,6 ± 1,3 | 14,8 ± 1,3  |
|                   | Клітинна  | 15,2 ± 2,5     | 12,3 ± 1,8 | 15,5 ± 1,9  |
| Надсудинний шар   | Проста    | 13,1 ± 3,0     | 11,6 ± 1,9 | 14,2 ± 2,2  |
|                   | Клітинна  | 14,8 ± 1,9     | 12,3 ± 1,4 | 15,9 ± 1,6  |

Примітка: \* -  $p < 0,05$  у порівнянні групи III з групою I та II.

У той же час, поряд із значними змінами більшості клітинних структур, елементи ЕЦМ були майже незмінними. ЕЦМ у зразках жінок другої клінічної групи був майже цілком представлений «старими» колагеновими

волокнами (рис. 5). Еластинові волокна майже не зустрічалися. Це дозволяє думати про відсутність деградації зрілих елементів ЕЦМ на тлі дії а-ГнРГ поряд із пригніченням синтезу нових фібрилярних структур ЕЦМ.

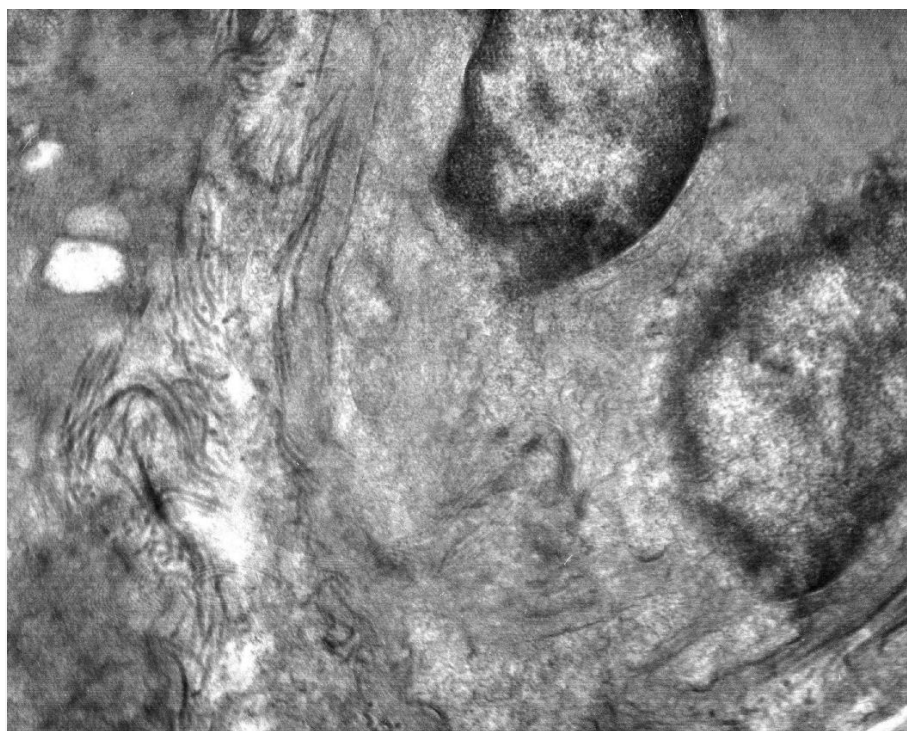




Рис. 5. Тканина вузла клітинної лейоміоми матки пацієнтки II клінічної групи. Тангенціальна орієнтація. Електронна мікроскопія.  $\times 10000$ .

У жінок третьої клінічної групи на тлі супрафізіологічної гіперестрогенії відбувалось покращення кровопостачання матки, активізація обмінних процесів в міометрії та ЛТМ. В активованих міоцитах зростав рівень біосинтетичних процесів, морфологічним відображенням яких є синтез скоротливих білків, збільшення та гіперхроматоз ядра та, відповідно, збільшення ядерно-цитоплазматичного

співвідношення. Відмічалось вірогідне збільшення розмірів міоцитів як в лейоміомі, так і в незміненому міометрії (табл. 1). Крім того, відмічалось збільшення кількості вільних рибосом. Поряд з розширенням елементів ендоплазматичного ретикулуму відбувалося збільшення елементів пластинчастого апарата міоцитів (рис. 6-8).

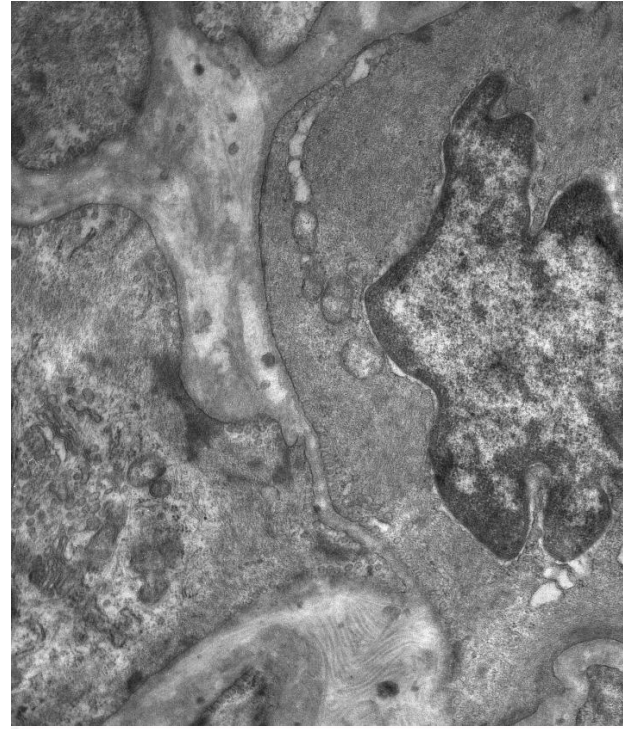


Рис. 6. Тканина вузла простої лейоміоми матки пацієнтки III клінічної групи. Тангенціальна орієнтація. Електронна мікроскопія.  $\times 15000$ .



Рис. 7. Тканина псевдокапсули клітинної лейоміоми матки пацієнтки III клінічної групи. Повздовжня орієнтація. Електронна мікроскопія.  $\times 12000$ .

Під дією естрогенів відмічалось превалювання скоротливого апарату – в 1,5 рази в порівнянні із зразками I клінічної групи збільшувалась кількість міофіламентів, які, як відомо, першими реагують на підсилення або пригнічення дії активізуючих стимулів на гладком'язову клітину. Відповідно, спостерігалось вірогідне збільшення розмірів міоцитів як в зразках ЛТМ, так і різних шарів незміненого міометрія (табл. 1).

Спостерігалось різке зростання кількості мітохондрій безпосередньо у тканині лейоміоми, як простої, так і клітинної. В той же час кількість мітохондрій у незміненому міометрії не відрізнялася від такої у зразках жінок I клінічної групи (табл. 3). Крім того, спостерігалось збільшення середнього розміру мітохондрій у тканині лейоміоми матки, тоді як цього не відбувалося у незміненому міометрії жінок III клінічної групи (табл. 2). Збільшення розміру мітохондрій відбувалося головним чином за рахунок істотного внутрішньоклітинного набряку (рис. 7). На нашу думку, ця парадоксальна картина, притаманна виключно

клітинам міоматозної тканини, обумовлена швидким зростанням міоматозного вузла за рахунок проліферації міоцитів, підсиленого синтезу компонентів ЕЦМ. Ця бурхлива стимуляція вимагає підвищеного кровопостачання, яке «не встигає» за ростом міоми та створює великі ішемічні зони. Отже, вузол зростає в умовах суттєвої ішемії, що пояснює наявність таких гіпоксичних рис саме в тканині ЛТМ.

Вищезгадані зміни були в ще більшому ступені характерними для зразків клітинної міоми жінок III групи. При цьому за умов швидкого росту пухлини на тлі збільшення клітинного компоненту виявлялася незначна кількість сполучної тканини, зокрема колагенових волокон, що вказувало на переважання проліферативних процесів над синтетичними. Отже, проліферація гладком'язових клітин в цих пухлинах не супроводжувалася адекватним розвитком сполучної тканини (рис. 6). У той же час, елементи ЕЦМ були добре розвинені у деяких ділянках клітинної міоми (рис. 8).



Рис. 8. Тканина клітинної лейоміоми матки пацієнтки III клінічної групи. Повздовжня орієнтація. Електронна

мікроскопія.  $\times 15000$ .

Інтенсифікація діяльності гладком'язової клітини забезпечувалась за рахунок активації функцій ядерних структур – ядро клітини збільшувалось, активна поверхня ядра багаторазово зростала за рахунок утворення численних складок. Ступінь дисперсії хроматину, що свідчить про інтенсивність його матричної активності, може бути ознакою збільшення використання генетичної інформації. Зокрема, якщо в міоцитах простої лейоміоми жінок I клінічної групи співвідношення конденсованого хроматину до неконденсованого було  $1,4 \pm 0,10$ , клітинної міоми –  $1,6 \pm 0,17$ , то в клітинах простої міоми жінок III клінічної групи цей показник складав  $2,4 \pm 0,19$ , клітинної –  $3,3 \pm 0,21$  ( $p < 0,05$ ).

Крім того, характерною рисою всіх зразків, отриманих у жінок III клінічної групи, була істотна скоротлива активність, яка підтверджувалась специфічними змінами ядер – їх «скрученням», наявністю великої кількості паралельно розташованих міофіламентів та великою кількістю кавеол з іонами кальцію, розташованих вздовж плазмалеми (рис. 6-8).

#### Висновки

1. Ультраструктурні характеристики лейоміоми матки подібні до характеристик незміненого міометрія. Найбільш характерною рисою міоми матки є надмірна кількість елементів екстрацелюлярного матриксу, розташованих хаотично.

2. Під дією а-ГнРГ (прямою та опосередкованою шляхом зниження рівня естрадіолу) відбуваються атрофічні зміни в міоцитах, які в більшості випадків не призводять до загибелі клітин та є зворотними:

- вірогідне зменшення розмірів міоцитів як в тканині лейоміоми (на 24,1% для простої та на 27,6% для клітинної), так і в тканині міометрія (на 20,7% для псевдокапсули простої та на 21,9% для псевдокапсули клітинної міоми);

- дворазове зменшення кількості

міофіламентів як в клітинах незміненого міометрія, так і в міомі.

3. Під дією гіперестрогенії, обумовленої flare-up ефектом а-ГнРГ, поряд із збільшенням розмірів ядра, кількості елементів ендоплазматичного ретикулума та рибосом відбувалося:

- вірогідне збільшення розмірів міоцитів як в тканині лейоміоми (на 27,3% для простої та на 19,5% для клітинної), так і в тканині міометрія (на 17,3% для псевдокапсули простої та на 15,2% для псевдокапсули клітинної міоми);

- вірогідне збільшення співвідношення конденсованого до неконденсованого хроматину (у міоцитах простої міоми – в 1,7 рази, клітинної міоми – в 2,1 рази);

- збільшення у 1,5 рази кількості міофіламентів як в клітинах незміненого міометрія, так і в міомі;

- різке зростання кількості мітохондрій у тканині лейоміоми (в 1,28 рази – у простій та в 1,18 рази – у клітинній міомі) та збільшення їх розміру за рахунок виразного внутрішньоклітинного набряку (в 1,35 рази – у простій та в 1,47 рази – у клітинній міомі), тоді як ці зміни не виявлялися в клітинах незміненого міометрія.

4. Елементи екстрацелюлярного матриксу не змінюються за умов короткотривалої дії гіперестрогенного фону (клінічна група III) та середньотривалої дії гіпоестрогенії (клінічна група II), але синтез нових волокон пригнічується на тлі медикаментозної менопаузи.

**Перспективи подальших досліджень** пов'язані з мікроскопічним та імуногістохімічним аналізом особливостей мікроциркуляторного русла лейоміоми матки і нормального міометрія та його функціонування в умовах корекції гормонального статусу аналогами ГнРГ у хворих на лейоміому матки.

#### Літературні джерела

Беженарь В. Ф. Современная стратегия и хирургическая техника при лапароскопической миомэктомии / В. Ф. Беженарь, Н. С. Медведева, Э. К. Айламазян // Здоровье женщины. – 2008. – Т. 36, №4. – С. 22-26.

Медведев М. В. Нова схема перед- та післяопераційного застосування аналогів ГнРГ у жінок з лейоміомою матки / М. В. Медведев // Здоровье женщины. – 2011. – Т. 63, №7. – С. 32-37.

Татарчук Т. Ф. Сучасні принципи діагностики та лікування лейоміоми матки / Т. Ф.

Татарчук, Н. В. Косей // Семейна медицина. – 2005. – № 4. – С. 67-73.

Тихомиров А. Л. Миома матки / А. Л. Тихомиров, Д. М. Лубнин. – М. : МИА, 2006. – 174 с.

Clinical management of uterine sarcomas / F. Amant, A. N. Coosemans, M. Debiec-Rychter [et al.] // The Lancet Oncology. – 2009. – Vol. 10, № 12. – P. 1188-1198.

De Leo V. A benefit-risk assessment of medical treatment for uterine leiomyomas / V. de Leo, G. Morgante, A. La Marca // Drug Saf. – 2002. – Vol.

25, №11. – P. 759-779.

Hoff de R. T. Quantative microscopy / R. T. de Hoff, F. N. Rhines. – N.Y. : McGraw-Hill, 1968. – 422 p.

Lethaby A. Efficacy of pre-operative gonadotrophin hormone releasing analogues for women with uterine fibroids undergoing hysterectomy or myomectomy: a systematic review / A. Lethaby, B. Vollenhoven, M. Sowter // *Bjog.* – 2002. – Vol. 109, №10. – P. 1097-1108.

Lin J. F. Uterine sarcoma 2008 / J. F. Lin and B. M. Slomovitz // *Curr. Oncol. Rep.* – 2008. – Vol. 10, № 6. – P. 512-518.

Vercellini P. Gonadotropin-releasing hormone agonist treatment before abdominal myomectomy: a controlled trial / P. Vercellini, L. Trespidi, B. Zaina // *Fertil Steril.* – 2003. – Vol. 79, №6. – P. 1390-1395.

**Медведев М.В. Ультраструктурная оценка состояния миоматозной ткани и разных слоев миометрия у больных с лейомиомой матки при гипо- и гиперэстрогенных состояниях, обусловленных разными схемами применения аналогов гонадотропин-релизинг гормона.**

**Резюме.** В исследовании проведен ультраструктурный анализ клеток и экстрацеллюлярного матрикса миоматозной ткани и различных слоев миометрия у 35 больных с лейомиомой матки при долгосрочной и краткосрочной предоперационной коррекции гормонального статуса с помощью гозерелина ацетата. Изучение ультраструктурных характеристик проводили на ультратонких срезах на трансмиссионном электронном микроскопе. Исследования показали, что ультраструктурные характеристики лейомиомы матки подобны характеристикам неизмененного миометрия. Наиболее характерной чертой миомы матки является чрезмерное количество элементов экстрацеллюлярного матрикса, расположенных хаотично. Под действием а-ГнРГ происходят атрофические изменения в миоцитах, которые в большинстве случаев не ведут к гибели клеток и являются обратимыми: уменьшение размеров миоцитов как в ткани лейомиомы, так и в ткани миометрия; двукратное уменьшение количества миофиламентов как в клетках неизмененного миометрия, так и в миоме. Под действием гиперэстрогении наряду с увеличением размеров ядра, количества элементов эндоплазматического ретикулума и рибосом происходило достоверное увеличение размеров миоцитов как в ткани лейомиомы, так и миометрия; увеличение соотношения конденсированного и неконденсированного хроматина (в миоцитах простой миомы – в 1,7 раза, клеточной миомы – в 2,1 раза), увеличение в 1,5 раза количества миофиламентов как в клетках неизмененного миометрия, так и в миоме; рост количества митохондрий и увеличение их размера в ткани лейомиомы за счет выраженного внутриклеточного отека. Элементы экстрацеллюлярного матрикса не зависят от кратковременного действия гиперэстрогенного фона и средней длительности гипозестрогении, но синтез новых волокон снижается на фоне медикаментозной менопаузы.

**Ключевые слова:** лейомиома матки, агонист ГнРГ, миометрий, миоциты, электронная микроскопия, псевдокапсула, строма.