

УДК 619:618 : 636.7

**РАЗЛИЧИЯ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРА ПРОЛИФЕРАЦИИ PCNA В
ПАТОЛОГИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИИ, ПРОБЛЕМЫ
КЛАССИФИКАЦИИ ГИПЕРПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ИЗМЕННИЙ
ЭНДОМЕТРИЯ У СОБАК**

Карташов С. Н. – к. в. н.

ветеринарная клиника "Вита", г. Шахты

На основании морфологических данных, а также данных экспрессии маркера пролиферации целесообразно классифицировать метропатии на метропатии с преимущественными пролиферативными процессами, при которых экспрессия маркера пролиферации в клетках желез эндометрия колеблется от 50 до 100 %, и на метропатии с преимущественными секреторными процессами, при которых маркер пролиферации экспрессируется менее чем в 50 % клеток желез эндометрия.

Гиперплазия эндометрия собак (ГЭ) – это совокупность изменений, затрагивающих и стромальный, и железистый элементы эндометрия, обусловленные абсолютной или относительной гиперэстрогенией. Имеется некоторое разнообразие гистологической картины гиперплазии, как в разных образцах, взятых у одной собаки, так и в образцах от разных собак. ГЭ сопровождается такими симптомами, как кровянистые выделения из влагалища (рис. 1), синдром системной воспалительной реакции, затяжной эструс или проэструс, которые могут сочетаться с гиперэстрогенными состояниями, вызванными эндогенными или экзогенными гормонами. Основное клиническое значение ГЭ заключается в том, что это состояние может служить прогностическим фактором развития тяжелых септических метропатий (пиометры), требующих в дальнейшем овариогистерэктомии.

Вероятность развития пиометры при лечении затяжного эструса и проэструса, которые сопровождаются ГЭ, является предметом исследова-

ний на протяжении нескольких десятков лет, и до сих пор нет ясности в вопросах лечения, диагностики и классификации гиперпролиферативных процессов матки у собак.

В литературе гиперплазией эндометрия называют как заболевания, протекающие в фолликулиновую стадию полового цикла, так и в период метэструса, то есть в лютеиновую стадию. При этом эндометрий выглядит как гиперпролиферированный (утолщенный) в обоих случаях, но при морфологическом исследовании в фолликулиновую фазу выявляется гиперпролиферативный (рис. 7), а в лютеиновую – гиперсекреторный процесс (рис. 8). В первом случае в яичниках обнаруживаются кисты, во втором – желтые тела или желтые тела с кистами.

На наш взгляд, такое положение дел с терминологией вносит путаницу в постановку диагноза. Процесс, при котором имеется преимущественная секреторная трансформация эндометрия, по какой-то причине называется гиперпролиферацией (рис. 9–14). При этом основными терапевтическими препаратами для лечения такой псевдогиперпролиферации остаются простагландины, прерывающие лютеиновую стадию полового цикла и прекращающие секреторные процессы в эндометрии. Определенную роль в создании этой путаницы сыграло и то, что если гиперпролиферация эндометрия протекает без воспалительного процесса в матке, то единственным симптомом является нарушение полового цикла, что не всегда правильно диагностируется и трактуется. Другой проблемой является сложность получения материала для морфологических исследований, поскольку при истинной гиперпролиферации и хорошем состоянии животного ни врачи, ни хозяева животных не соглашаются на оперативное вмешательство.

При визуальном осмотре удаленной матки эндометрий утолщен, поверхность его бархатиста, а в просвете матки обнаруживается кровь (рис.

2). При гистологическом исследовании такой матки отмечается резкое увеличение железистости эндометрия (рис. 3, 4).

Необходимо отметить, что, говоря о гиперпролиферации эндометрия, мы подразумевали фолликулиновую стадию полового цикла. В яичниках при ГЭ обнаруживаются персистирующие фолликулы или фолликулярные кисты (рис. 2). Для объективной дифференциальной диагностики ГЭ мы использовали иммуногистохимические способы окраски, которые позволяют визуализировать тканевые (клеточные) антигены к маркерам пролиферации. Эти способы основаны на иммунореактивности антител и выявлении комплекса антиген-антитело при реакции с неокрашенным хромогенным субстратом, в результате чего образуется окрашенный конечный продукт в месте локализации антигена.

Из образцов тканей, фиксированных в формалине и заключенных в парафин, изготавливали серийные срезы толщиной 4 мкм с последующей иммуногистохимической окраской антителами к маркеру пролиферации PCNA (клон PC10, DАСО, разведение 1:100). Срезы обрабатывали в микроволновой печи 10 минут на мощности 700 Вт с целью открытия антигенных детерминант, блокировали активность эндогенной пероксидазы и инкубировали с первичными антителами 18 ч при 4 °С. Затем срезы обрабатывали вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена, в течение 30 минут.



Рисунок 1 – Кровянистые выделения из влагалища при ГЭ



Рисунок 2 – ГЭ, в просвете матки – кровянистая жидкость

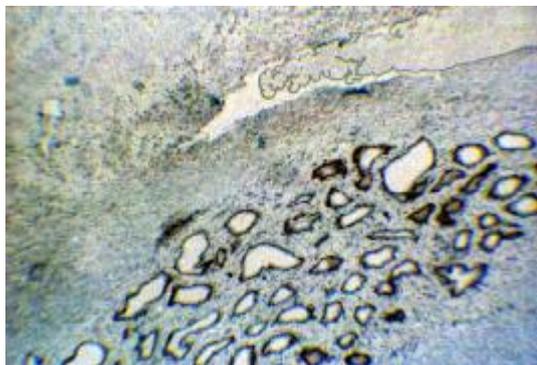


Рисунок 3 – Увеличение железистой ткани эндометрия при ГЭ, красное окрашивание ядер при окраске на PCNA

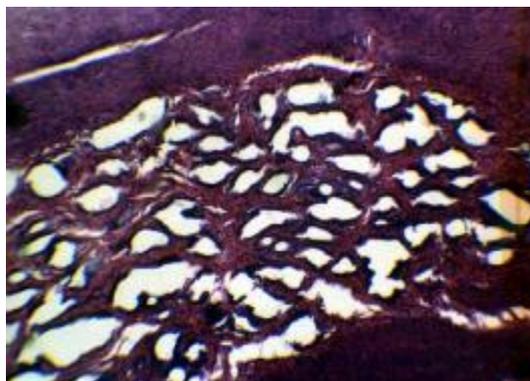


Рисунок 4 – Увеличение железистой ткани эндометрия при ГЭ, тот же препарат, что на рис. 3, гематоксилин-эозин

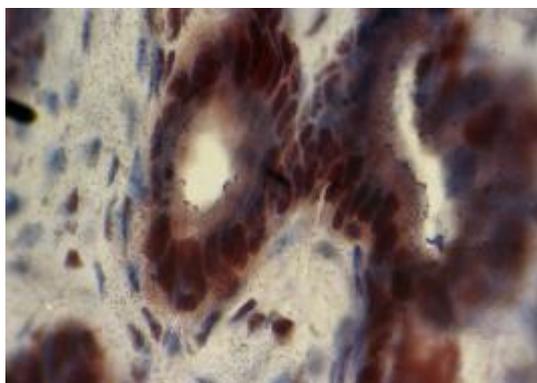


Рисунок 5 – Красное окрашивание ядер при окраске на PCNA

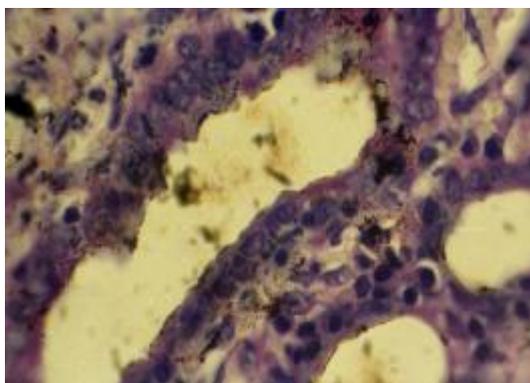


Рисунок 6 – Тот же препарат, что на рисунке 5, гематоксилин-эозин

Визуализацию осуществляли инкубацией с аминоэтилкарбазолом (АЕС), дающим продукт красно-коричневого цвета в месте локализации выявляемого антигена. При оценке количества клеток, дающих положительную реакцию с антителами к маркеру пролиферации PCNA, учитывалось только ядерное окрашивание. Индекс пролиферации устанавливался путем подсчета 100 клеток и определения процента окрашенных ядер. На рисунках 3, 5 хорошо видно, что при гиперпролиферативных процессах все 100 % клеток желез экспрессируют маркер пролиферации. Таким образом, индекс пролиферации у собак при ГЭ может достигать 100 %.

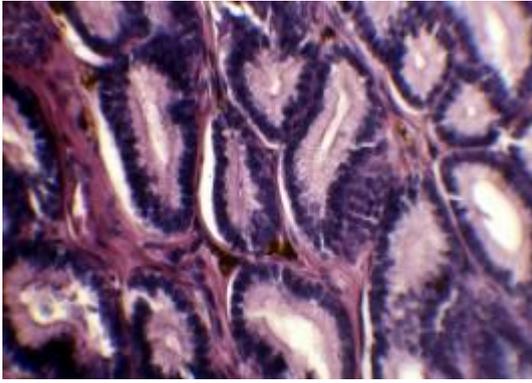


Рисунок 7 – Гиперпролиферация эндометрия, практически отсутствует строма эндометрия

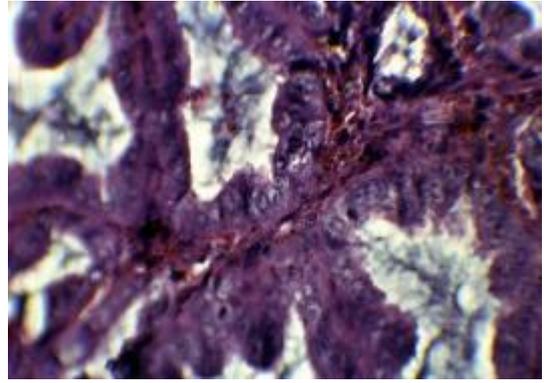


Рисунок 8 – Секреторная трансформация эндометрия, ядра клеток светлые, в просвете желез секрет

Исходя из изученного материала, мы пришли к выводу, что на сегодняшний день не существует общепринятой классификации метропатий у собак, а под пролиферативными и гиперпролиферативными процессами в матке у собак (рис. 3, 5–7) чаще подразумевается не истинная ГЭ, а гиперсекреторные процессы, не имеющие отношения к гиперпролиферации (рис. 8, 9–14).



Рисунок 9 – Постэстральная гиперсекреция, гнойные выделения из влагалища



Рисунок 10 – Общий вид матки при постэстральной гиперсекреции осложненной пиометрой



Рисунок 11 – При гиперсекреторных процессах в яичниках всегда обнаруживаются желтые тела



Рисунок 12 – Эндометрий при гиперсекреции визуально не отличить от ГЭ

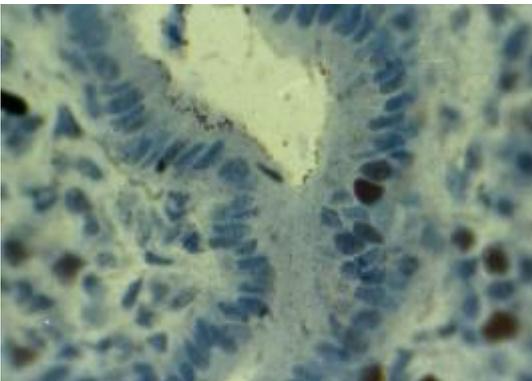


Рисунок 13 – При окраске на маркеры пролиферации экспрессия PCNA выявляется менее чем в 50 % клеток маточных желез

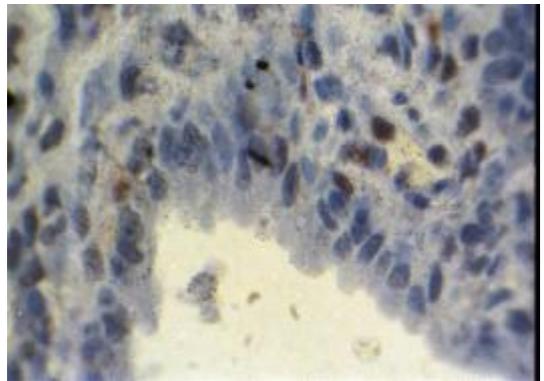


Рисунок 14 – При окраске на маркеры пролиферации экспрессия PCNA выявляется менее чем в 50 % клеток маточных желез

При окраске образцов тканей такого эндометрия на маркеры пролиферации PCNA, по DACO, индекс пролиферации колеблется от 10 % до 50 % (рис. 13, 14). Такие процессы, при которых экспрессия маркеров пролиферации ниже 50 %, но вместе с тем толщина эндометрия превышает 3 мм, а при гистологическом исследовании выявляется преимущественно секреторирующий эндометрия (рис. 8, 10–14, 17), мы предлагаем называть постэстрогенной гиперсекрецией. Такие процессы у собак имеют следующие особенности:

1. Накопление жидкости в матке;
2. Контаминации матки микрофлорой, так как гиперсекреторным процессам очень часто предшествует гиперпролиферация с длительно открытой шейкой матки;
3. Снижение местной резистентности эндометрия, т.к. матка находится под длительным воздействием прогестерона (особенностью полового цикла собак является очень длинный метэструс), снижающего резистентность матки.

В силу особенности клинического течения гиперсекреторные процессы очень часто сопровождаются гнойными процессами, а при накоплении гнойного экссудата в матке – пиометрой, которую в данном случае необходимо рассматривать как осложнение. По мере развития гнойного процесса в матке возможно как стабильное течение с сохранением морфологии эндометрия, так и полная деструкция эндометрия с формированием тонкостенной мешкообразной матки, заполненной гнойным экссудатом. При сохранении морфологических структур эндометрия все его функции, в том числе и лютеиноподобные, сохраняются, поэтому возможен спонтанный регресс желтого тела с саморазрешением гнойного процесса.



Рисунок 15 – Гиперсекреция эндометрия с осложнением пиометрой, эндометрий не разрушен, все его структуры сохранены

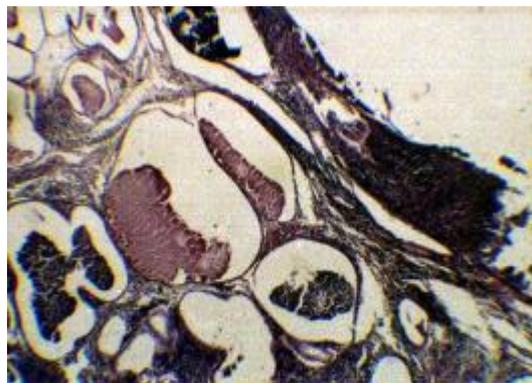


Рисунок 16 – Поздняя гиперсекреция эндометрия с осложнением пиометрой, несмотря на позднюю лютеиновую стадию структура эндометрия сохранена



Рисунок 17 – Гиперсекреция эндометрия с разрушением его морфологических структур

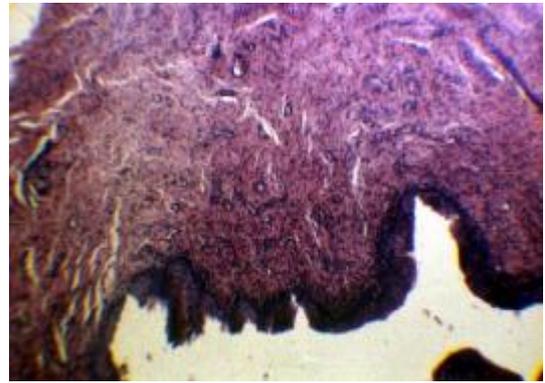


Рисунок 18 – Гиперсекреторная метропатия с полным разрушением эндометрия

Причина, по которой в одних случаях в матке происходят изменения, характерные для позднего метэструса, и ее последующее самоочищение с разрешением процесса (рис. 15, 16), а в других постепенная деструкция секретирующего эндометрия (рис. 17, 18), на наш взгляд, заключается в недостаточности простагландиновой функции матки. Если в матке синтез простагландинов сохранен, то происходит своевременная регрессия желтых тел, снимается негативное влияние прогестерона на матку, восстанавливается ее местная резистентность и после открытия шейки матки происходит самоочищение матки и самовыздоровление. При нарушенной простагландиновой функции гнойный процесс персистирует с постепенным разрушением стенки матки до ее истончения и даже перфорации. На рисунках 19–24 – гистологическая картина образца эндометрия разных собак с различной выраженностью деструктивного процесса, где наглядно показано, каким образом гиперсекретирующий эндометрий превращается в истонченный, не имеющий даже признаков железистой ткани. В яичниках при деструктивном эндометрите всегда обнаруживаются активные желтые тела, поскольку в разрушенной эндометрии не синтезируются простагландины.

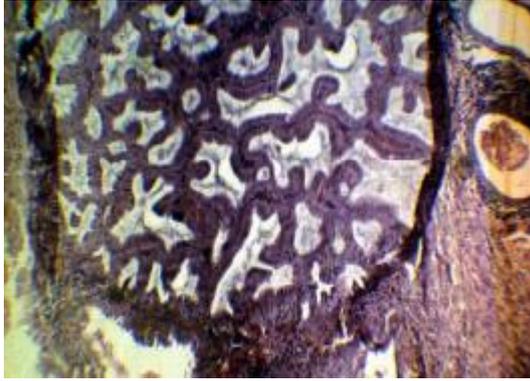


Рисунок 19 – Ранняя гиперсекреторная метропатия

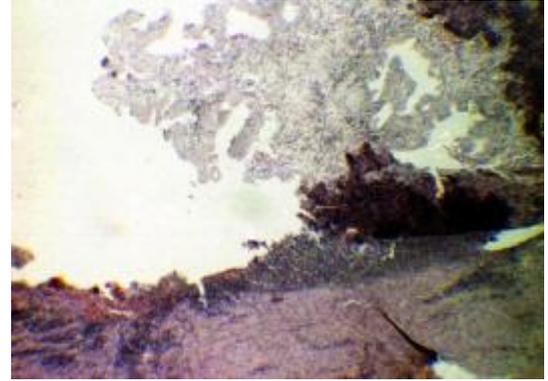


Рисунок 20 – Ранняя гиперсекреторная метропатия с выраженным разрушением эндометрия



Рисунок 21 – Ранняя гиперсекреторная метропатия с выраженным разрушением эндометрия, обнаруживаются остатки секретирующих желез

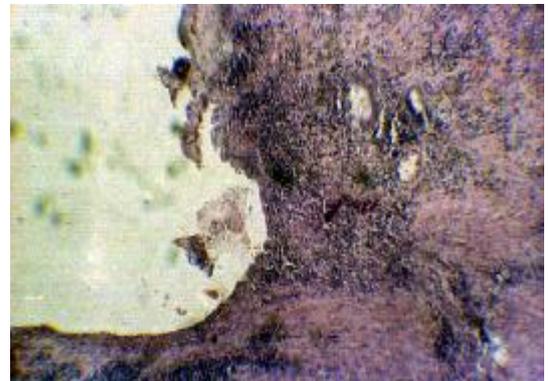


Рисунок 22 – Ранняя гиперсекреторная метропатия с выраженным разрушением эндометрия, выраженная лейкоцитарная и лимфоцитарная инфильтрация

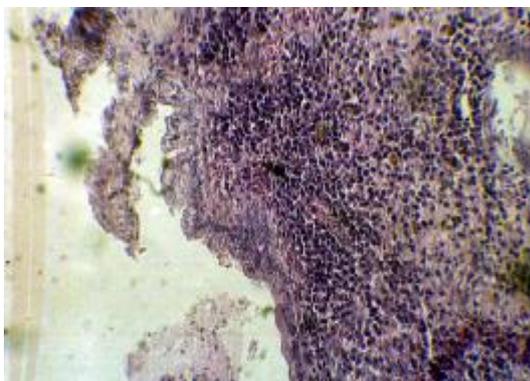


Рисунок 23 – Ранняя гиперсекреторная метропатия с выраженным разрушением эндометрия, выраженная лейкоцитарная и

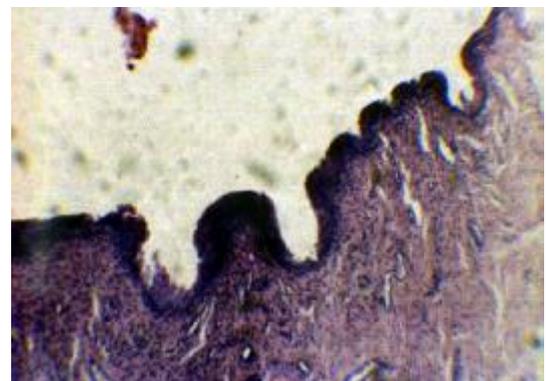


Рисунок 24 – Полное разрушение эндометрия, лейкоцитарная инфильтрация выражена меньше

лимфоцитарная инфильтрация стромы

Механизм выключения простагландиновой функции матки пока не изучен, но, по всей видимости, этой способностью обладают некоторые бактерии, контаминирующие полость матки.

Таким образом, учитывая клинические, морфологические данные, а также данные экспрессии маркера пролиферации, целесообразно классифицировать метропатии на метропатии с преимущественными пролиферативными процессами, при которых экспрессия маркера пролиферации в клетках желез эндометрия колеблется от 50 до 100 %, и на метропатии с преимущественными секреторными процессами, при которых маркер пролиферации экспрессируются менее чем в 50 % клеток желез эндометрия. Гиперпролиферативные процессы сопровождаются экспрессией маркеров пролиферации в 80–100 % клеток желез эндометрия.

Список литературы

1. Бодяжина, В. И. Хронические неспецифические воспалительные заболевания женских половых органов / В. И. Бодяжина. – М. : Медицина, 1978. – 319 с.
2. Вдовин, С. В. Нейроэндокринные изменения при воспалениях гениталий : автореф. дисс. докт. мед. Наук / С. В. Вдовин. – М., 1979. – 32 с.
3. Глуховец, Б. И. Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний / Б. И. Глуховец, О. К. Хмельницкий. – СПб., 1994. – 408 С.