

ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИННЕРВАЦИОННОГО КОМПАРТМЕНТА МИОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С ХРОНИЧЕСКИМ ТАЗОВЫМ БОЛЕВЫМ СИНДРОМОМ ПРИ АДЕНОМИОЗЕ

М. Р. ОРАЗОВ, О. Н. СУЛАЕВА, Е. Н. НОСЕНКО

*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького
Запорожский национальный медицинский университет
Одесский национальный медицинский университет*

Работа посвящена одной из актуальных проблем гинекологии – проблеме хронических тазовых болей. Целью представленной работы явилась иммуногистохимическая оценка состояния иннервационного аппарата и нейро-тканевых отношений в 60 матках, полученных после гистерэктомии от пациенток с диффузным аденомиозом II–III степени, сопровождающимся выраженным болевым синдромом. Визуализацию нервных волокон проводили с использованием моноклональных антител к белкам нейрофиламентов. На основании полученных результатов авторы делают вывод о том, что основным носителем нервов в матке и потенциальной причиной формирования гипералгезии при аденомиозе является миометрий с формированием аномально избыточного иннервационного аппарата вокруг очагов эктопического эндометрия, в периваскулярных регионах и в строме между пучками гладких миоцитов.

Ключевые слова: аденомиоз, хроническая тазовая боль, миометрий, иннервационный аппарат, нейро-тканевые отношения, нейрофиламенты.

BASIC MECHANISMS OF INNERVATION COMPARTMENT MYOMETRIUM IN WOMEN WITH CHRONIC PELVIC PAIN SYNDROME IN ADENOMYOSIS

M. R. ORAZOV, O. N. SULAEVA, E. N. NOSENKO

*Donetsk National Medical University named by Maxim Gorky
Zaporizhzhya National Medical University
Odessa National Medical University*

The work is dedicated to one of the urgent problems gynecology - the problem of chronic pelvic pain. The aim of presented work was immunohistochemical assessment innervational apparatus and neuro-tissue relations 60 ewes received after hysterectomy from patients with diffuse adenomyosis II-III degree, accompanied by severe pain. Visualization of nerve fibers was performed using monoclonal antibodies to proteins of neurofilaments. Based on these results the authors conclude that the main carrier of the nerves in the uterus and a potential cause of the formation of hyperalgesia when adenomyosis is the myometrium with the formation of abnormally excessive innervation apparatus around foci of ectopic endometrium in perivascular regions and in the stroma between bundles of smooth myocytes.

Key words: adenomyosis, chronic pelvic pain, myometrium, innervational apparatus, neuro-tissue relationships, neurofilament.

Введение

Как известно, развитие боли реализуется через центральные и периферические механизмы. Тот факт, что хирургическое лечение (гистерэктомия) купирует болевой синдром у женщин с эндометриозом, отражает роль периферического звена в развитии болевого синдрома [13]. Данный факт предусматривает роль маточных нервов в развитии гипералгезии, что стимулирует к их детальному изучению.

Анализ литературных данных и постановка задачи исследования

На сегодня существует несколько гипотез, объясняющих развитие боли у женщин с аденомиозом. Согласно одной из них, боль возникает в результате компрессии нервов очагами аденомиоза [4, 10, 11]. Предполагается также роль фактора роста нервов (NGF) в зоне повреждения, поскольку наличие глубоких очагов аденомиоза было ассоцииро-

вано с повышением экспрессии данного фактора роста и развитием боли [2]. При этом NGF отводят роль не только в стимуляции роста нервов, но и в повышении чувствительности нервных окончаний, что, собственно, и может вести к усилению ощущения боли [6, 7]. Однако при этом стоит заметить, что усиление роста нервов не всегда сопровождается развитием выраженного болевого синдрома. Так, доказано, что эндометриоз сопровождается появлением нервных волокон в функциональном слое эндометрия, претерпевающим ежемесячную перестройку и десквамацию [5]. Однако при этом не было установлено наличие связи между количеством нервных волокон и выраженностью болевого синдрома. Предположение о том, что боль возникает в результате сдавления нервных окончаний очагами аденомиоза также было опровергнуто в исследованиях [1, 12] с визуализацией белков нейрофиламентов, показавших, что в большинстве случаев нервы обнаруживаются вне очагов аденомиоза. И при этом тазовая боль не коррелирует с количеством нервов в зоне эктопического эндометрия. Кроме того, без ответа остается вопрос, какие, собственно, клетки и структуры в стенке матки являются продуцентами перечисленных факторов роста, нейротрофинов и биологически активных веществ. Ответ на вопрос о механизмах изменения иннервационного аппарата матки кроется в анализе нейро-тканевых отношений.

Цель работы – изучить иннервационный аппарат и нейро-тканевые отношения в матке при аденомиозе, сопровождающимся синдромом хронической тазовой боли.

Материалы и методы исследования

Изучено 60 маток, полученных после гистерэктомии от пациенток с диффузным аденомиозом II–III степени, сопровождающимся выраженным болевым синдромом. Группу сравнения составили матки 5 пациенток без наличия гиперпролиферативных процессов, погибших в автокатастрофе. После гистерэктомии участки стенок маток, включающие эндометрий и миометрий, фиксировали в нейтральном забуференном 10% формалине (рН 7,4) в течение 24 часов. После дегидратации материал заливали в высокоочищенный парафин с полимерными добавками (Richard-Allan Scientific, США) при температуре не выше 60 °С. Общую морфологическую оценку срезов проводили при окраске гематоксилином и эозином. Визуализацию нервных волокон осуществляли после иммуногистохимического (ИГХ) окрашивания с использованием моноклональных антител (МАТ) к белкам нейрофиламентов (ДАКО, Дания) по инструкциям фирмы. С целью объективизации морфологического исследования использовали комплексный морфометрический анализ, который проводили с помощью специального программного обеспечения Image Tool v.3.0. и графического редактора Adobe Photoshop CS4 Extended v.11.0.1. Снимки выполнены на микроскопе Olympus BX51 с цифровой ка-

мерой DP70 (Olympus, Япония). Для оценки количества нервных волокон использовали квадратно-узловую тест-систему. Среднее количество нервов, ассоциированных с очагами аденомиоза, оценивали следующим образом. Общее количество нервов в поле зрения при увеличении 200 делили на количество квадратов, попадающих на участки расположения эктопического эндометрия. Аналогичным способом оценивали плотность нервных волокон в миометрии пациенток с аденомиозом и лейомиомой. Результаты представляли в виде среднего арифметического количества нервов на миллиметр площади среза в эктопическом и эктопическом эндометрии, а также в миометрии. Процедуру подсчета выполняли дважды двумя независимыми экспертами (двойное слепое исследование), неосведомленными о диагнозе и клинических характеристиках пациенток. Уровень конкордантности морфометрических результатов, полученных от независимых экспертов, составлял более 95%. Плотность нервных волокон при аденомиозе сравнивали с результатами у пациенток контрольной группы, используя тест Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение иннервационного аппарата матки при аденомиозе с помощью моноклональных антител к белкам нейрофиламентов выявил разнообразие волокон по толщине, плотности и интенсивности окраски. При этом использованный иммуногистохимический маркер позволил выделить лишь единичные тонкие нервные волокна в области границы между эктопическим эндометрием и миометрием. Отдельные тонкие волокна визуализировались и вокруг очагов эктопического эндометрия, преимущественно вокруг донышек (конусов роста) маточных желез (рис. 1). При этом в данном исследовании плотность нервных окончаний, сопряженных непосредственно с очагами эндометриоза, была невелика – в зоне желез $4,1 \pm 0,3$ на мм^2 среза, в строме – $9,2 \pm 0,6$. Тонкие нервные волокна визуализировались преимущественно в строме вокруг кровеносных сосудов, сопровождающих зоны врастания эктопического эндометрия. Хотя прямая иннервация эктопического роста эндометрия сенсорными и симпатическими нервами была показана на

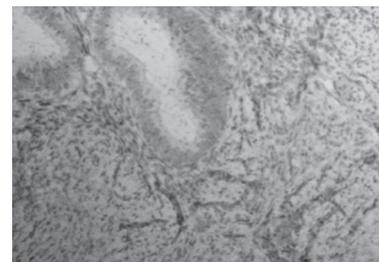


Рис 1. Нервные волокна вокруг эндометриодных желез в очагах аденомиоза. Игх с мат к нейрофиламентам. Увеличение 400

модели у крыс [4] и обнаружена в очагах эндометриоза у женщин [3]. С одной стороны, факт прямой иннервации очагов эндометриоза является основой концепции, объясняющей связь между скоростью прогрессирования эндометриоза и болью [3]. В ее основе лежит постулат о том, что рост нервных волокон ассоциирован с NGF, повышающим чувствительность чувствительных нервов [8]. Однако, судя по результатам, полученным в данном исследовании, более типичной является ассоциация нервных волокон с сосудами стромы. Это согласуется с известными закономерностями иннервации матки, сенсорные и вегетативные нервы которой ассоциированы с сосудами. С другой стороны, данный результат может отражать роль сосудов и ангиогенеза в увеличении плотности нервных волокон при аденомиозе.

Второй интересный факт, касающийся особенностей иннервации стенки матки при аденомиозе, был получен при изучении интрамурального иннервационного аппарата матки. В данной работе у пациенток с аденомиозом было выявлено превалирование нервных волокон в структуре самого миометрия (рис. 2). Максимальное количество нервных волокон в стенке матки пациенток с аденомиозом было выявлено вокруг крупных артерий сосудистого слоя миометрия и в пространствах между ними.

Кроме того, обширные разветвления тонких нервных волокон были выявлены в зонах ремоделирования миометрия – по ходу мелких сосудов, расположенных в прослойках стромы между пучками гладких миоцитов (рис. 3). Та-

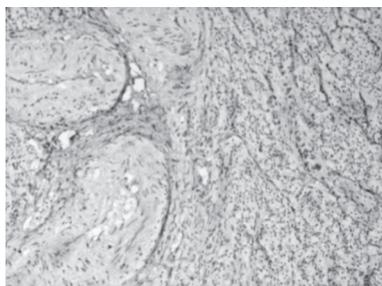


Рис. 2. Увеличение количества периваскулярных и интерстициальных нервных волокон у пациентки с аденомиозом. Игх с мат ки нейрофиламентам. Увеличение 200



Рис. 3. Многочисленные разветвленные нервные волокна при аденомиозе в прослойках стромы в зоне ремоделирования миометрия. Игх с мат к нейрофиламентам, увеличение 160

кие прослойки с мелкими сосудами и нервами были богато инфильтрированы и пронизывали всю толщу миометрия, формируя также обширную нейроваскулярную сеть. Характерно, что визуально нервные волокна в миометрии имели извилистый ход и многочисленные разветвления, вдоль многих из них определялись картины пролиферации клеток. Тогда как между самими гладкими миоцитами миометрия количество нервных волокон было незначительным.

В ряде случаев вдоль этих нервов наблюдались участки извилистости и булавовидных расширений (рис. 4). Густое сплетение тонких нервных волокон было обнаружено также в субсерозном слое. Причем, как в субсерозном, так и в подслизистом слое миометрия превалировали разветвленные тонкие нервные волокна, количество которых статистически значимо ($p < 0,01$) превышало аналогичный показатель в группе сравнения – $17,2 \pm 1,4$ против $11,8 \pm 0,9$ на мм^2 . Эти результаты расходятся с данными исследования [9], в котором была проведена оценка иннервации матки при аденомиозе на основе визуализации нервов, экспрессирующих белок PGP 9,5. По данным этого исследования, при аденомиозе было зарегистрировано снижение плотности нервных волокон на границе между миометрием и эндометрием. Кроме того, автор отмечал снижение количества нервов в миометрии. Лишь в отдельных участках вокруг очагов аденомиоза было зафиксировано увеличение количества нервных терминалей. На основании этого автор сделал вывод, что аденомиоз ассоциирован со снижением количества нервных волокон. Однако в ряде других работ, включая исследования [14], показано увеличение количества многочисленных сенсорных A-delta и C-волокон, холинергических и адренергических нервов, экспрессирующих NGF, рецепторы Trk-A и p75, у пациенток с аденомиозом. При этом в изучении механизмов боли при эндометриозе традиционно рассматривают нервные волокна, ассоциированные с очагами эктопического эндометрия [7, 11]. Тогда как, по нашему мнению, акцент стоит перенести на иннервационный аппарат миометрия.

На основании установленных в работе фактов логично предположить, что причиной формирования синдрома та-

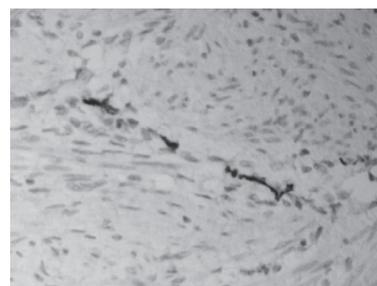


Рис. 4. Булавовидные расширения нервных волокон в миометрии сопровождаются картинами пролиферации клеток вокруг них. Игх с мат к нейрофиламентам. Увеличение 400

зовой боли у пациенток с аденомиозом является не только сдавление нервов в зоне эктопического эндометрия, но и формирование аномально избыточного иннервационного аппарата в самой миометрии. Тем более, что последний характеризовался гиперплазией на фоне ремоделирования сосудистого русла матки. Повышение количества нервов в миометрии у пациенток с аденомиозом может также объяснять гиперперистальтику матки у женщин, страдающих аденомиозом.

В целом, увеличение количества нервных волокон при аденомиозе связано с их ростом в следующих компартментах:

- 1) Вокруг очагов эктопического эндометрия.
- 2) В периваскулярном регионе.
- 3) В строме – между пучками гладких миоцитов, где определялась густая сеть интерстициальных тонких разветвленных нервных волокон. В отличие от пациенток основной группы, у женщин контрольной группы было выявлено превалирование нервных волокон преимущественно вокруг крупных сосудов миометрия при отсутствии широко разветвленной интрамуральной сети волокон.

Сравнение иннервационного аппарата матки у женщин контрольной группы и у пациенток с аденомиозом позволяет утверждать, что именно расширение иннервационного поля в миометрии является наиболее вероятной причиной формирования тазовой боли у пациенток с аденомиозом.

Выводы

Основным носителем нервов в матке и потенциальной причиной формирования гипералгезии при аденомиозе является миометрий. Учитывая, что мишенями иннервации в стенке матки являются сосуды и гладкие миоциты, а также установленный в работе факт превалирования присутствия нервов не только вокруг очагов аденомиоза, но и их рост вдоль крупных и мелких сосудов миометрия, полученные данные позволяют констатировать тесную ассоциацию между увеличением количества нервов и стимуляцией ангиогенеза. Перспективой дальнейших исследований является изучение механизмов сопряженности роста сосудов и нервов в стенке матки у пациенток с аденомиозом.

Список литературы

1. Al-Fozan, H., Bakare, S., Chen, M.F., Tulandi, T. Nerve fibers in ovarian dermoid cysts and endometriomas. *Fertil Steril*, 82(2004): 230-31.
2. Anaf, V., Simon, P., ElNakadi, I., Fayt, I., Buxant, F., Simonart, T., Peny, M.O., Noel, J.C. Relationship between endometriotic foci and nerves in rectovaginal endometriotic nodules. *Hum Reprod*, 15(2000): 1744-1750.
3. Berkley, K.J., Rapkin, A.J., Papka, R.E. The pains of endometriosis. *Science*, 308(2005): 1587-89.
4. Berkley, K.J., Dmitrieva, N., Curtis, K.S., Papka, R.E. Innervation of ectopic endometrium in a rat model of endometriosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101(2004): 11094-98.
5. Cetin, C., Serdaroglu, H., Tuzlali, S. The importance of endometrial nerve fibers and macrophage cell count in the diagnosis of endometriosis. *Iran J Reprod Med*, 11(5) (2013): 405-14.
6. Cheng, J.K., Ji, R.R. Intracellular signaling in primary sensory neurons and persistent pain. *Neurochem Res*, 33(2008): 1970-78.
7. Li, Y., Zhang, S.F., Zou, S.E., Xia, X., Bao, L. Accumulation of nerve growth factor and its receptors in the uterus and dorsal root ganglia in a mouse model of adenomyosis. *Reprod Biol Endocrinol*, 8,9 (2011): 30. doi:10.1186/1477-7827-9-30.
8. Mendell, L.M., Albers, K.M., Davis, B.M. Neurotrophins, nociceptors, and pain. *Microsc Res Tech*, 45(1999): 252-61.
9. Quinn, M. Uterine innervation in adenomyosis. *J Obstet Gynaecol*, 27(3) (2007): 287-91.
10. Ramer, M.S., Bisby, M.A. Adrenergic innervation of rat sensory ganglia following proximal or distal painful sciatic neuropathy: distinct mechanisms revealed by anti-NGF treatment. *Eur J Neurosci*, 11(1999): 837-46.
11. Triolo, O., Laganà, A.S., Sturlese, E. Chronic pelvic pain in endometriosis: an overview. *J Clin Med Res*, 5(3) (2013): 153-63. doi: 10.4021/jocmr1288w.16
12. Tulandi, T., Felemban, A., Chen, M.F. Nerve fibers and histopathology of endometriosis-harboring peritoneum. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*, 8(2001): 95-8.
13. Vercellini, P., Somigliana, E., Viganò, P., Abbiati, A., Barbara, G., Fedele, L. Chronic pelvic pain in women: etiology, pathogenesis and diagnostic approach. *Gynecol Endocrinol*, 25(3) (2009): 149-58. doi: 10.1080/09513590802549858.
14. Wang, G., Tokushige, N., Markham, R., Fraser, I.S. Rich innervation of deep infiltrating endometriosis. *Hum Reprod*, 24(2009): 827-34.
15. Woolf, C.J. Phenotypic modification of primary sensory neurons: the role of nerve growth factor in the production of persistent pain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 351(1996): 441-48.

Сведения об авторах:

Оразов Мекан Рахимбердыевич – к.м.н., докторант Научно-исследовательского института медицинских проблем семьи Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, отрасль специализации – акушерство и гинекология, 83114, г. Донецк, пр. Панфилова, 3

Сулаева Оксана Николаевна – д.м.н., профессор., Профессор кафедры гистологии Запорожского национального медицинского университета им. Максима Горького. oksana.sulaieva@mail.ru

Е.Н. Носенко – д. мед. н., профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии Одесского национального медицинского университета. nosenko.olena@gmail.com