

Экспрессия эстрогеновых и андрогеновых рецепторов в тканях наружных половых органов у девочек с врожденной дисфункцией коры надпочечников

И.В. КОПЫЛОВА^{1*}, к.б.н. В.Ю. СЫСОЕВА², Т.М. ГЛЫБИНА³, к.м.н. М.А. КАРЕВА¹

¹ ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва; ² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; ³ Измайловская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения Москвы

Цель исследования — изучить распределение эстрогеновых (ЭР) и андрогеновых (АР) рецепторов в тканях гениталий в зависимости от формы врожденной дисфункции коры надпочечников (ВДКН), вирилизации наружных половых органов (НПО) и гормонального профиля. **Материал и методы.** Иммуногистохимическое исследование изоформ ЭР (ЭР α и ЭР β) и АР проведено на операционном материале, полученном при проведении I и II этапов феминизирующей пластики девочкам с ВДКН ($n=13$ и $n=8$ соответственно). **Результаты.** В тканях НПО девочек с ВДКН присутствовали как ЭР α и ЭР β , так и АР. Не выявлено корреляции между количеством данных рецепторов в коже малых половых губ и влагалище и степенью вирилизации гениталий, а также между числом рецепторов и уровнем андрогенов в крови (тестостерон, 17-ОПГ). Экспрессия рецепторов не различалась в группах с сольтеряющей и вирильной формами ВДКН. У девочек с повторной интритоопластикой, получавших предоперационную интравагинальную эстрогенотерапию, экспрессия ЭР α в тканях влагалища была ниже, чем у пациенток, которым интритоопластика проводилась впервые ($p=0,045$). **Выводы.** Количество и распределение ЭР и АР в малых половых губах и влагалище у девочек с ВДКН не зависят от формы заболевания, вирилизации НПО и гормонального профиля. Пациентки, подвергающиеся повторной интритоопластике, могут иметь пониженную чувствительность к местной терапии эстрогенами вследствие снижения экспрессии рецепторов к эстрогенам во влагалище.

Ключевые слова: врожденная дисфункция коры надпочечников, феминизирующая пластика, эстрогеновые рецепторы, андрогеновые рецепторы, наружные половые органы.

Expression of estrogen and androgen receptors in tissues of external genitalia of girls with congenital adrenal hyperplasia

I.V. KOPYLOVA^{1*}, V.YU. SYSOEVA², T.M. GLYBINA³, M.A. KAREVA¹

¹FSBE «Endocrinology Research Centre», Moscow, Russia; ²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; ³Izmaylovskaya Paediatric Clinical Hospital, Moscow, Russia

The reason of post-operative introital stenosis in girls with CAH is a poor estrogenization of external genitalia before vaginoplasty. It is possible that the local sensitivity to estrogens can be reduced due to prenatal androgen excess in addition to inadequate compensation, which results to decrease of estrogens production by the ovaries. **Objective.** To determine the distribution of estrogen and androgen receptors in genital tissue, depending on the form of CAH, the degree of external virilization and serum levels of androgens. **Material and methods.** The waste surgical tissues obtained during routine feminizing genitoplasty (clitorio- and vaginoplasty) was used for immunohistochemical study of estrogen (α and β) and androgen receptors in girls with CAH ($n=13$ and $n=8$, respectively). **Results.** The expression of estrogen (α , β) and androgen receptors was determined in genital tissues of girls with CAH. There was no significant correlation between the number of immunopositive cells in the tissues of labia minora and vagina and the degree of virilization, as well as between the number of cells expressing the receptors and serum levels of androgens (testosterone, 17-hydroxyprogesterone). There was no difference in the expression of estrogen and androgen receptors between girls with salt-wasting and simple virilizing forms of CAH. The expression of estrogen receptor α in vaginal tissues was reduced in girls who underwent repeated vaginoplasty and were under preoperative local estrogen therapy in comparison to patients in whom the vaginoplasty was performed for the first time ($p=0.045$). **Conclusion.** The distribution of estrogen and androgen receptors in the labial and vaginal tissues in girls with CAH doesn't depend on the form of disease, external virilization and serum levels of androgens. Girls undergoing repeated vaginoplasty may have a reduced sensitivity to local estrogen therapy due to decrease of estrogen receptors expression in the vaginal mucosa.

Key words: congenital adrenal hyperplasia, feminizing genitoplasty, estrogen receptors, androgen receptors, external genitalia.

Врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН, адреногенитальный синдром — АГС) — ауто-сомно-рецессивное заболевание, обусловленное патологией ферментов или транспортных белков, участвующих в синтезе кортизола. Самый распространенный вариант ВДКН, связанный с недоста-

точностью 21-гидроксилазы и встречающийся в классическом варианте с частотой приблизительно 1:10 000—1:18 000 новорожденных, приводит у девочек к различной степени вирилизации наружных половых органов (НПО) при рождении вследствие пренатального избытка надпочечниковых андрогено-

нов [1, 2]. Внутренние половые органы (матка, фаллопиевы трубы, проксимальная часть влагалища) у таких девочек имеют правильное строение, тогда как маскулинизация наружных гениталий может варьировать от незначительной гипертрофии клитора до полностью мужского строения НПО (по шкале Прадера 2—5). Феминизирующую пластику гениталий проводят в 1 или 2 этапа в зависимости от степени вирилизации гениталий [1, 3—6]. Первый этап заключается в резекции клитора и рассечении урогенитального синуса, второй (интритоупластика) — в создании входа во влагалище (интритуса). Достаточно большой процент пациенток после интритоупластики (несмотря на хороший косметический результат) имеют узкий для возможности полового акта диаметр влагалища, что связано с рубцеванием постоперационной поверхности, приводящим к стенозу. Это осложнение встречается чаще (в 36—100% случаев) после одноэтапной пластики в раннем детском возрасте [3, 7—9]. Неудовлетворительные результаты интритоупластики требуют повторных оперативных вмешательств или многократных бужирований [9, 10]. В РФ феминизирующую пластику проводят в два этапа: I — в раннем детском возрасте, II — в пубертатном, когда завершается формирование влагалища и достигается оптимальная эстрогенизация его слизистой оболочки (обычно через 1—2 года после начала менструаций). Основанием для интритоупластики именно в этот период служат исследования, доказывающие влияние эстрогенов на процесс эпителизации тканей. Известно, что под воздействием эстрогенов происходит стимуляция моторики кератиноцитов, усиливается ангиогенез, происходит вазодилатация, предотвращается избыточное образование коллагеновой ткани [11—13]. У пациенток с ВДКН гипоестрогения обусловлена снижением продукции эстрогенов яичниками. Это происходит вследствие подавления секреции гонадотропинов избытком надпочечниковых андрогенов. Большинство авторов связывают возникновение постоперационного стеноза интритуса со снижением эстрогеновой насыщенности вагинальной слизистой вследствие декомпенсации заболевания в период пубертата. Однако данных, подтверждающих роль одной только компенсации в достижении оптимальной эстрогенизации НПО, в литературе до сих пор нет. Остается нерешенным вопрос: возможно ли снижение местной чувствительности наружных гениталий к эстрогенам вследствие избыточной продукции андрогенов еще в пренатальном периоде? В литературе отсутствуют данные о влиянии внутриутробной гиперандрогении на распределение и экспрессию эстрогеновых и андрогеновых рецепторов в вульве и влагалище, первоначальное количественное изменение которых могло бы послужить одним из объяснений снижения эстрогенизации тканей гениталий.

Кожа малых половых губ (МПГ) является производным эктодермы, поэтому, как и кожа других анатомических участков, состоит из эпидермиса, представляющего собой многослойный плоский ороговевающий эпителий, и дермы с волосными фолликулами, потовыми и сальными железами. Толщина кожи и степень ороговения уменьшается по направлению к передней части клитора и при переходе от наружной поверхности МПГ к внутренней. Поверхностный слой слизистой оболочки преддверия влагалища (интритуса) и влагалища представлен плоским неороговевающим эпителием, чувствительным к циклическим изменениям уровня стероидных гормонов, продуцируемых яичниками [14]. Эпителий стенки влагалища состоит из трех слоев (базально-парабазального (Б-ПБ), промежуточного (ПР) и поверхностного с кариопикнотичными клетками), отделенных от субэпителиальной ткани (стромы) базальной мембраной. В норме в тканях НПО экспрессируются как АР, так и ЭР, относящиеся к семейству ядерных [15—17]. АР определяются преимущественно в эпидермальных кератиноцитах, сальных и потовых железах, волосных фолликулах и фибробластах кожи МПГ, а также в эпителии и фибробластах стромы влагалища. ЭР преобладают в базальных и парабазальных клетках вагинального эпителия, что объясняет стимулирующее воздействие эстрогенов на пролиферацию и дифференцировку клеток вагинального эпителия. ЭР присутствуют также в фибробластах и гладких мышцах влагалища, в эпидермисе кожи МПГ. Число ЭР снижается, а АР возрастает по направлению от шейки матки к коже надлобковой области и от внутренней поверхности малых половых губ к наружной [15]. Действие двух изоформ эстрогеновых рецепторов (ЭР α и ЭР β) неодинаково в различных тканях [18]. Изменения их экспрессии в одной и той же ткани при различных физиологических состояниях свидетельствуют о различной ответной реакции ткани-мишени на воздействие эстрогенов.

В литературе отсутствуют данные о распределении и экспрессии этих рецепторов в тканях наружных гениталий у здоровых девочек допубертатного и пубертатного возрастов, что связано с невозможностью получения у них полноценного биоматериала в силу морально-этических аспектов. Подобные исследования проводились в основном у женщин пре- и менопаузального возраста, пациенток на фоне заместительной терапии эстрогенами или андрогенами и на животных [15—17, 19, 20].

Цель настоящей работы — определение чувствительности наружных половых органов девочек с ВДКН к эстрогенам посредством изучения количества и распределения ЭР и АР в зависимости от формы заболевания, степени вирилизации наружных гениталий при рождении и уровня андрогенов.

Материал и методы

В исследование были включены девочки с классическими формами ВДКН [$n=21$, сольтерияющая форма (СТ) — 7 девочек, простая вирильная форма (ПВ) — 14], которым было показано проведение I или II этапов феминизирующей пластики НПО. Все пациентки регулярно наблюдались в детском отделении ФГБУ ЭНЦ. В зависимости от этапа пластики и материала для исследования девочки были разделены на две группы (**таблица**). У 13 пациенток допубертатного возраста [медиана возраста 2,4 года (2; 5 лет), СТ — 11, ПВ — 2, степень вирилизации наружных гениталий при рождении по шкале Прадера 3 (3; 4)] были проведены резекция клитора и рассечение уrogenитального синуса. Интроитопластика проведена у 8 девочек пубертатного возраста [медиана возраста 16,75 года (15,2; 17,6 года), СТ — 3, ПВ — 5, степень вирилизации по Прадеру 3 (3; 4)].

Перед оперативным лечением у всех пациенток определяли антропометрические показатели, оценивали степень вирилизации наружных гениталий и стадию полового созревания по Таннеру (1968) и проводили гормональное обследование с определением уровней тестостерона, 17-гидроксипрогестерона (17-ОПГ), активности ренина плазмы. Содержание общего тестостерона в сыворотке определяли методом усиленной хемилюминесценции с помощью автоматического иммунохимического анализатора Vitros 3600 («Ortho Clinical Diagnostics», «Johnson & Johnson»). Для оценки концентрации 17-ОПГ в сыворотке использовали радиоиммунный анализ (Immunotech, ISO 9001-13485). Все девочки, вошедшие в исследование, находились в состоянии компенсации ВДКН.

Феминизирующая пластика НПО проводилась в отделении гинекологии ИДГКБ №3. Для определения ЭР и АР был использован операционный материал, полученный в ходе проведения I и II этапов пластики. В первом случае образцы ткани были представлены тканью малых половых губ, во втором — тканями дистальной части влагалища вблизи преддверия (интроитуса). Иммуногистохимическое исследование проведено на базе Центра коллективного пользования факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова. Операционный материал фиксировался в 4% растворе формалина в течение 24–72 ч и затем помещался в парафин. Исследование локализации АР, ЭР α и ЭР β проведено

на парафиновых срезах толщиной 3 мкм по стандартной иммуногистохимической методике на имуностейнере Autostainer Link 48 («Dako», США) с использованием коммерческих мышиных моноклональных антител против ЭР α [(клон 6F11), разведение 1:80]; ЭР β [(клон EMR02), разведение 1:50]; АР (клон AR27), разведение 1:100) («Novocastra») с предварительной демаскировкой антигенов в соответствии с протоколом производителя. Время инкубации с первичными антителами составило 1 ч для эстрогеновых и 2 ч для андрогеновых рецепторов при комнатной температуре. Проявление реакции осуществлялось системой визуализации Peroxidase Detection System («Novocastra», Великобритания). В качестве негативного контроля использованы ткани миндалин, в качестве положительного — ткани эндометрия (для ЭР α), кожи (для ЭР β), карциномы простаты (для АР), рекомендованные в описании к коммерческим антителам. Для серо-негативного контроля был использован мышиный IgG (FLEX Negative Control Mouse Cocktail; «Dako»). Морфометрический анализ проведен на микроскопе Zeiss Axioscop 40, оснащенном камерой AxioCam MRc5 Zeiss. Процент окрашенных клеток оценивали в 6–10 полях зрения при увеличении $\times 40$ для каждого маркера в образце. В ткани МПГ, помимо общего уровня рецепторов, оценивалось количество иммунореактивных клеток отдельно в эпидермальном и дермальном слоях, а в слизистой влагалища — отдельно в Б-ПБ и ПР слоях эпителия и в строме.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы Statistica («StatSoft Inc.», США, версия 8.0). Данные представлены в виде медианы, с указанием 25–75 перцентилей. Оценка достоверности различий между группами проводилась с помощью теста Манна—Уитни. Связь двух признаков анализировалась с помощью ранговой корреляции по Спирмену. Критический уровень значимости различий принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

В МПГ ЭР α были локализованы в ядрах фибробластов и гладкомышечных клеток дермы, ядрах клеток Б-ПБ слоя эпидермиса (**рис. 1–3 и далее см. на цв. вклейке**). Общая доля клеток, экспрессирующих рецептор, была невысокой и составила 16,8% (12,7; 22,8%), что согласуется с данными о распределении

Характеристика групп пациенток с ВДКН, которым проведен I или II этапы пластики НПО

Этап пластики	Число пациенток	СТ/ПВ форма	Возраст, годы	Вирилизация НПО (Прадер)	Ткань для ИГХ-исследования
I	13	11/2	2,4 (2; 5)	3 (3; 4)	Эпителий малых половых губ
II	8	3/5	16,75 (15,2; 17,6)	3 (3; 4)	Слизистая оболочка влагалища

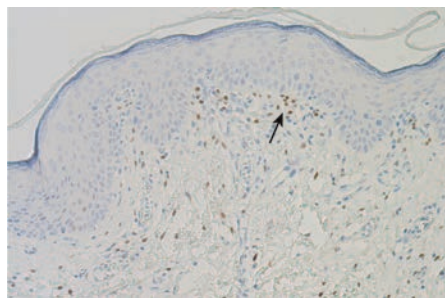


Рис. 1. Ядерное окрашивание ЭР α в клетках дермального слоя кожи внутренней поверхности малых половых губ. х200.

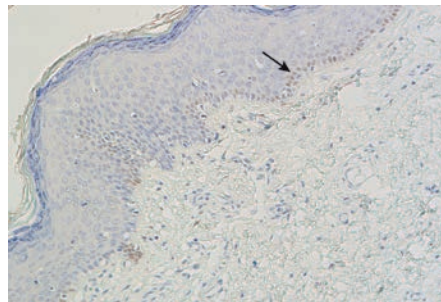


Рис. 2. Ядерное окрашивание ЭР α в клетках базального слоя эпидермиса, наружная поверхность малых половых губ. х200.

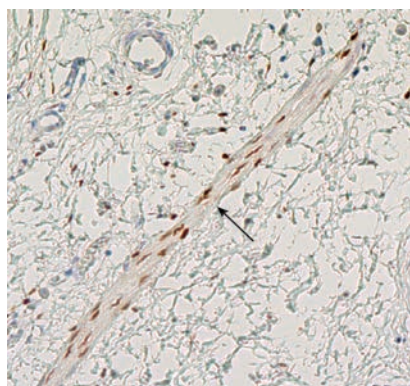


Рис. 3. Окрашивание ЭР α в гладкомышечных клетках дермы малых половых губ. х400.

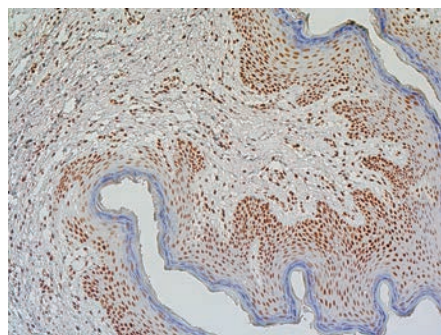


Рис. 5. Интенсивное ядерное окрашивание ЭР β в малых половых губах. х200.

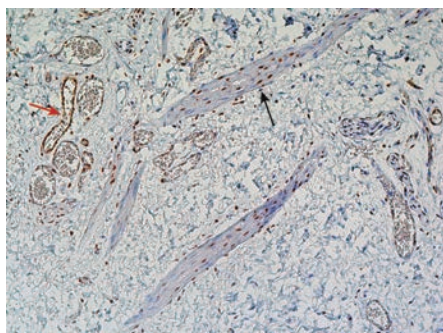


Рис. 6. Экспрессия ЭР β в ядрах гладкомышечных клеток (черная стрелка) и в клетках эндотелия сосудов (красная стрелка) дермы малых половых губ. х200.

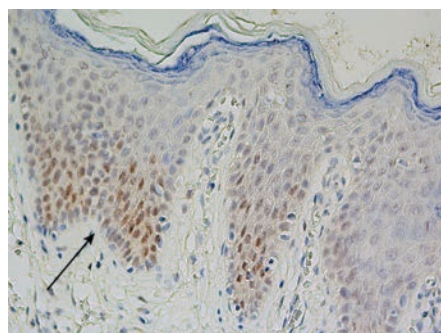


Рис. 7. Экспрессия АР в эпидермисе малых половых губ. х400.

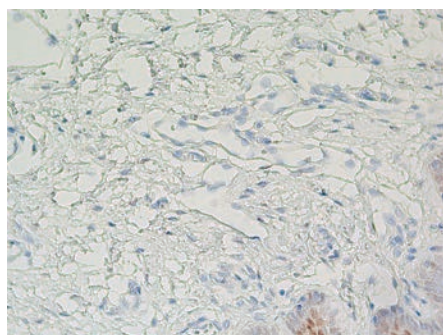


Рис. 8. Слабая иммунореактивность АР в дермальном слое малых половых губ. х400.

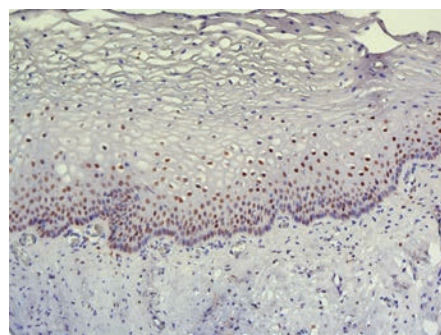


Рис. 9. Ядерное окрашивание ЭР α в вагинальном эпителии. х200.

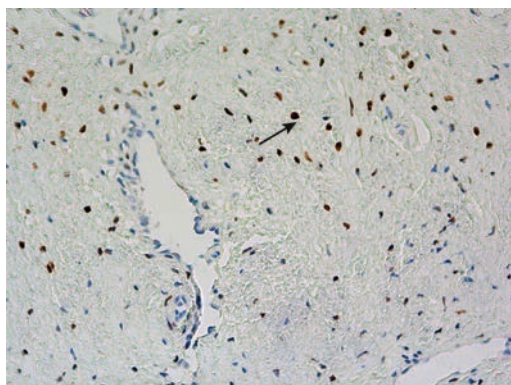


Рис. 10. Ядерное окрашивание ЭР α в строме влагалища. х200.

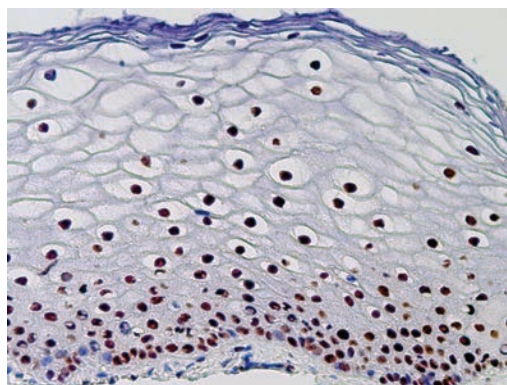


Рис. 13. Экспрессия ЭР β в клетках эпидермиса слизистой влагалища. х400.

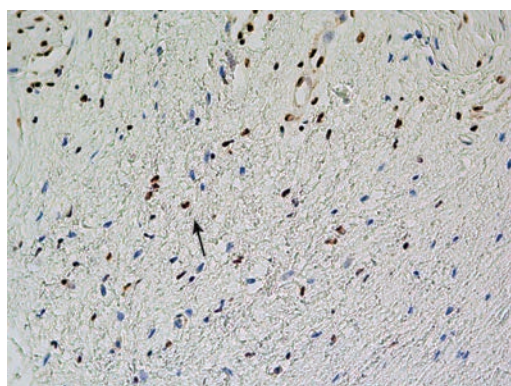


Рис. 14. Экспрессия ЭР β в клетках дермы слизистой влагалища. х400.

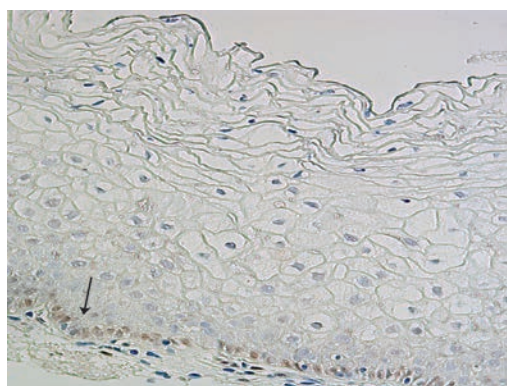


Рис. 15. Экспрессия АР (коричневая окраска) в клетках базального слоя эпителия влагалища. х400.

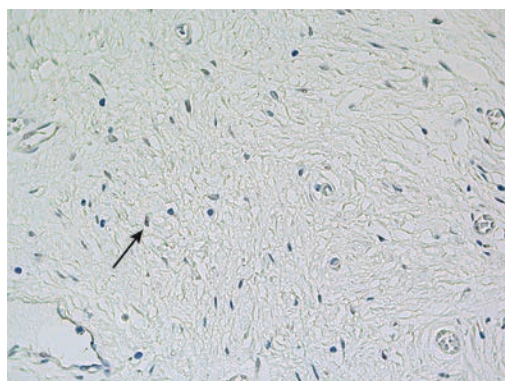


Рис. 16. Единичные АР-позитивные клетки стромы стенки влагалища. х400.

этих рецепторов в коже МПГ здоровых женщин [15]. Этот факт позволил авторам констатировать неэффективность трансвульварного использования кремов с эстрогенами. На внутренней поверхности МПГ, прилежащей к клитору, иммунореактивность ЭР α в дерме была выше, чем в наружной поверхности. Ядерное окрашивание клеток Б-ПБ слоя эпидермиса отмечалось преимущественно у наружного края МПГ. Статистически значимой разницы в общем количестве ЭР α -иммунопозитивных клеток в эпидермисе [14,7% (11,8; 25,3%)] и дерме [18,2% (16,3; 31,85)] выявлено не было ($p>0,05$) (рис. 4).

Интенсивное ядерное окрашивание ЭР β отмечалось в клетках всех слоев эпидермиса, фибробластах дермы, в эндотелии сосудов, эпителиальных клетках протоков апокринных желез и гладкомышечных клетках кожи малых половых губ (рис. 5, 6). Число ЭР β -позитивных клеток в эпидермисе было статистически значимо выше, чем в дермальном слое [100% (98; 100%) против 73,1% (63,9; 83,9%); $p<0,01$] (см. рис. 4).

Интенсивное окрашивание ЭР β было выявлено также в вульве здоровых женщин репродуктивного возраста [20]. Биологическая роль ЭР β в этих тканях недостаточно изучена. Известно, что при некоторых онкологических заболеваниях в случае коэкспрессии ЭР α и ЭР β , ЭР β оказывает ингибирующее действие на ЭР α -опосредованную экспрессию генов и регулирует ответ ткани-мишени на воздействие эстрогенов [21, 22]. Нами не выявлено корреляции между количеством ЭР α и ЭР β в коже малых половых губ девочек с ВДКН ($r_s=0,64$; $p>0,05$).

АР в коже МПГ девочек с ВДКН экспрессировались преимущественно в ядрах клеток эпидермиса, прилежащих к базальному слою, в эпителиальных клетках протоков желез. В дерме отмечалось незначительное ядерное окрашивание АР (рис. 7, 8). Количество АР-иммунопозитивных клеток составило 11,1% (8,1; 17,6%). Иммунореактивность АР на внутренней поверхности МПГ в эпидермисе была достоверно

ниже, чем на наружной. Экспрессия АР в эпидермисе была статистически значимо выше, чем в дерме [15,95% (10,2; 18,7%) против 1,8% (1,5; 3%); $p<0,01$].

Не было выявлено статистически значимой зависимости между количеством ЭР и АР в МПГ и степенью вирилизации наружных гениталий, а также между числом клеток, экспрессирующих ЭР и АР, и уровнем андрогенов в крови (тестостерон, 17-ОПГ). Количество данных рецепторов не различалось при различных формах ВДКН как у пациенток моложе 4 лет ($n=10$), так и у девочек старше 6 лет с начавшимся адrenaрхе ($n=3$).

Во влагалище ЭР α были локализованы в ядрах клеток Б-ПБ слоя вдоль базальной мембраны и в ПР слое эпителия, а также в фибробластах стромы (рис. 9, 10). Количество иммунопозитивных клеток составило 49,5% (41,8; 58,7%). Иммунореактивность в эпителии была статистически значимо выше, чем в строме [61,3% (55,7; 65,7%) против 23,7% (14,3; 43,9%); $p<0,01$] (рис. 11). В пределах эпителия доля окрашенных ЭР α клеток была выше в Б-ПБ слое по сравнению с ПР [73,8% (60,8; 87,2%) против 52,1% (49,6; 54%); $p<0,05$] (рис. 12). В поверхностном слое эпителия клеток, экспрессирующих ЭР α , не выявля-

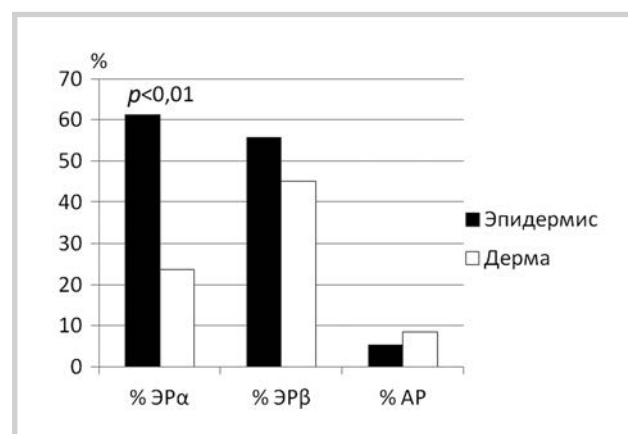


Рис. 11. Распределение ЭР α -, ЭР β - и АР-позитивных клеток во влагалище ($n=8$).

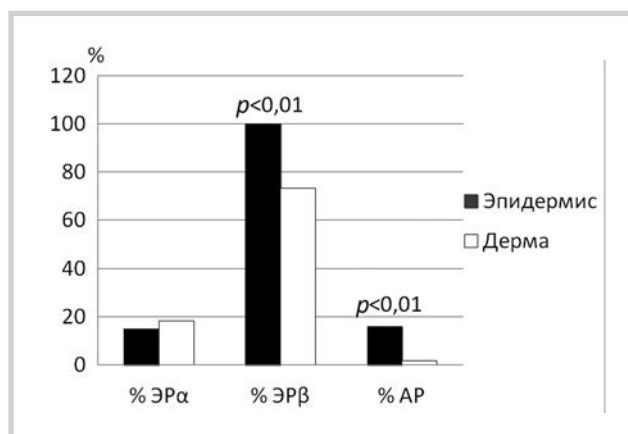


Рис. 4. Распределение ЭР α -, ЭР β - и АР-позитивных клеток в коже малых половых губ ($n=13$).

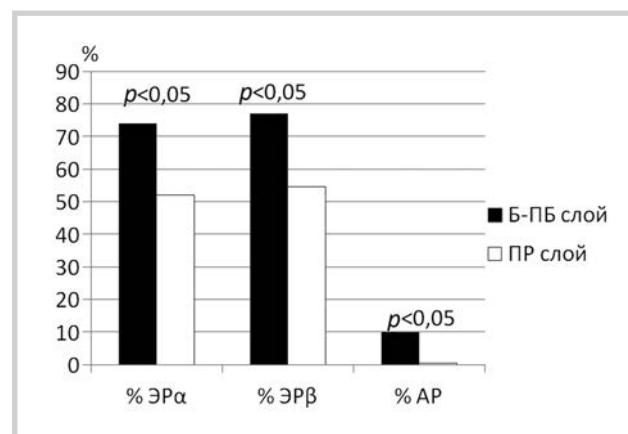


Рис. 12. Распределение ЭР α -, ЭР β - и АР-позитивных клеток в эпителии влагалища.

но. Наличие ЭР-позитивных клеток преимущественно в Б-ПБ слое отражает роль эстрогенов в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток в эпителии влагалища.

Данные литературы о наличии и распределении ЭРβ в слизистой влагалища противоречивы. Одни авторы не находили экспрессии ЭРβ в тканях влагалища [23], другие подтверждали их наличие [17, 20]. Исследования на нокаутных по ЭР мышах показали, что ЭРα является основным рецептором, опосредующим вагинальный ответ на 17β-эстрадиол [24]. У мышей, нокаутных по ЭРα, при гистологическом анализе выявлено полное отсутствие эстрогенизации влагалища под воздействием экзогенного эстрадиола [25, 26]. С другой стороны, слизистая оболочка влагалища у нокаутных по ЭРβ мышей претерпевает нормальные циклические изменения, связанные с яичниковым стероидогенезом, указывая на то, что это ЭРα-опосредованный процесс [25]. По нашим данным, доля клеток, экспрессирующих ЭРβ в ткани влагалища, составила 48,1% (34,5; 67,7%).

ЭРβ были выявлены в клетках Б-ПБ, ПР и в единичных случаях поверхностного слоя эпителия, а также в фибробластах стромы (рис. 13, 14). Иммунореактивность в эпителии не отличалась от таковой в строме [55,7% (40,9; 80,3%) против 45,1% (32,7; 62,7%), $p>0,05$]. Число клеток, позитивных по ЭРβ в Б-ПБ слое было статистически значимо выше, чем в ПР слое эпителия.

Доля клеток, экспрессирующих АР составила 6,6% (3,6; 16,5%), что существенно ниже по сравнению с другими исследованными рецепторами. АР были локализованы в базальном слое эпителия вдоль базальной мембраны и в единичных клетках стромы (рис. 15, 16). Число АР-позитивных клеток в эпителии статистически не отличалось от такового в строме [5,4% (2; 18,1%) против 8,4% (2,3; 18,8%), $p>0,05$].

Полученные данные о наличии и распределении рецепторов стероидных гормонов в эпителии влагалища сопоставимы с результатами, полученными при исследовании этой ткани у здоровых женщин репродуктивного возраста [15, 20].

Среди пациенток пубертатного возраста, нуждающихся в проведении II этапа феминизирующей пластики, были 2 девочки, у которых интроитопластика проводилась повторно. В течение 1 мес перед оперативным лечением они получали местную терапию эстрогенами (крем Овестин). Еще одна пациентка в течение 4 мес перед операцией получала комбинированные пероральные контрацептивы (Новинет) по поводу нарушений менструального цикла. При иммуногистохимическом исследовании количество клеток, экспрессирующих ЭРα, у этих пациенток было статистически значимо ниже, чем у девочек, не получавших предоперационно эстроге-

ными пероральными контрацептивами (КОК), так и при местной эстрогенотерапии [19, 28, 29]. Тем не менее есть данные, что интравагинальное введение

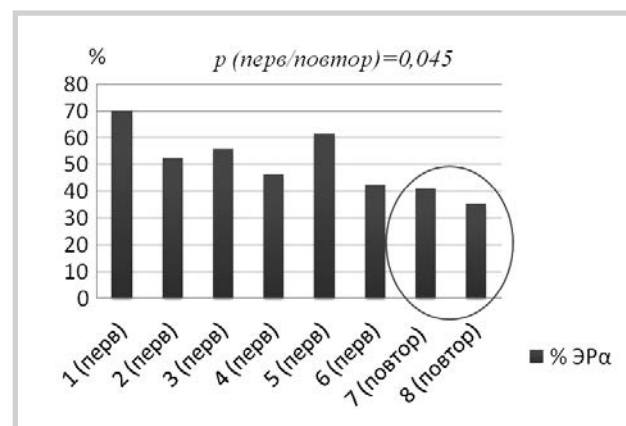


Рис. 17. Количество ЭРα позитивных клеток во влагалище у пациенток с первичной (перв) и повторной (повтор) интроитопластикой.

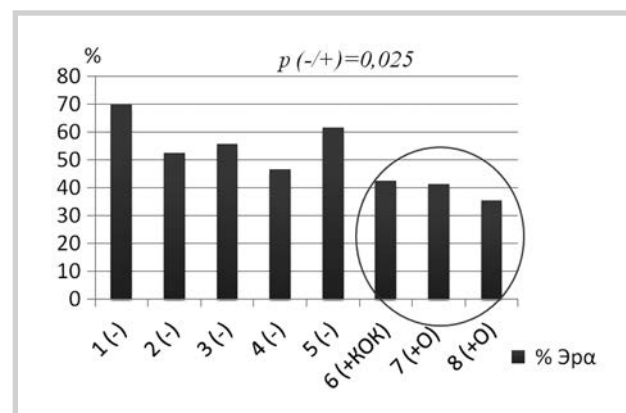


Рис. 18. Количество ЭРα позитивных клеток во влагалище у пациенток без терапии эстрогенами (-), на фоне местной эстрогенотерапии Овистином (+О) или Новинета (+КОК).

нотерапию, у которых интроитопластика проводилась впервые ($p=0,045$) (рис. 17, 18).

Удалении яичников у животных, т.е. в отсутствии эстрогенов, сопровождается увеличением ЭРα-позитивных клеток и снижением прогестероновых рецепторов в вагинальном эпителии, а при инфузии эстрадиола отмечается обратный дозозависимый эффект [27]. Предполагается, что подобный механизм регуляции предотвращает избыточную пролиферацию вагинального эпителия при колебании уровня эстрадиола в ходе менструального цикла. Данные о влиянии заместительной гормональной терапии (ЗГТ) эстрогенами на экспрессию эстрогеновых рецепторов во влагалище женщин постменопаузального возраста достаточно противоречивы. В большинстве работ отмечено увеличение экспрессии и иммунореактивности ЭРα и ЭРβ в вагинальных тканях как при лечении комбинирован-

эстрогенов в отличие от КОК не влияет на экспрессию этих рецепторов [30]. Полученные в нашем исследовании результаты могут свидетельствовать либо о первоначальном снижении местной чувствительности к эстрогенам у девочек с ВДКН, что привело к послеоперационному стенозу интроитуса и потребовало повторного хирургического вмешательства, либо о снижении экспрессии ЭР в тканях влагалища непосредственно после проведения интроитопластики. В некоторых исследованиях на животных отмечалось снижение экспрессии мРНК АР после удаления яичников и ее увеличение после введения физиологических доз эстрадиола [31, 32]. В других работах не находили изменений в экспрессии АР [27]. Нами не было выявлено статистически значимой разницы в экспрессии АР в вагинальных тканях у девочек, получавших и не получавших интравагинально крем Овестин.

При иммуногистохимическом исследовании ЭР и АР у женщин-транссексуалов, готовящихся к операции по смене пола на мужской, было показано, что длительный прием препаратов тестостерона приводит к истончению и снижению пролиферации вагинального эпителия (отсутствие в эпидермисе клеток поверхностного слоя, истончение промежуточного слоя), а также к снижению в тканях влагалища экспрессии мРНК ЭР α и ЭР β и к увеличению экспрессии мРНК АР [33, 34]. По нашим данным, статистически значимой корреляции между количеством рецепторов ЭР α , ЭР β , АР и уровнями андрогенов (тестостерон, 17-ОПГ) выявлено не было. Этот результат может объясняться и тем фактом, что все пациентки перед проведением II этапа феминизирующей пластики находились в состоянии компенсации в течение 6—12 мес, т.е. имели низкий уро-

вень тестостерона в сыворотке. Доля клеток, несущих рецепторы, и их локализация во влагалище не различались между пациентками с СТ и ПВ формами с различной вирилизацией гениталий, а также с регулярным и нерегулярным менструальным циклом. Последнее подтверждается данными литературы, свидетельствующими об отсутствии изменений экспрессии ЭР и АР в зависимости от возраста, фазы и характера менструального цикла [16].

Заключение

В тканях наружных половых органов девочек с адреногенитальным синдромом определяется экспрессия как ЭР, так и АР. Их количество и распределение в МПГ у допубертатных пациенток и во влагалище у девочек в период полового созревания не зависит от формы ВДКН, степени вирилизации наружных половых органов и уровня андрогенов в крови. У пациенток с ВДКН, подвергающихся повторной интроитопластике, отмечается снижение экспрессии рецепторов к эстрогенам в слизистой влагалища при неизменной экспрессии АР, что может указывать на снижение у них чувствительности к местной терапии эстрогенами.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — И.В. Копылова, Т.М. Глыбина, М.А. Карева

Сбор и обработка материала — И.В. Копылова, Т.М. Глыбина, В.Ю. Сысоева

Статистическая обработка данных — И.В. Копылова

Написание текста — И.В. Копылова

Редактирование — М.А. Карева, В.Ю. Сысоева

ЛИТЕРАТУРА

1. Speiser PW, Azziz R, Baskin LS, Ghizzoni L, Hensle TW, Merke DP, et al. Congenital Adrenal Hyperplasia Due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010;95(9):4133-4160. doi: 10.1210/jc.2009-2631.
2. Speiser PW, White PC. Congenital Adrenal Hyperplasia. *New England Journal of Medicine*. 2003;349(8):776-788. doi: 10.1056/NEJMr021561.
3. Карева М.А. Эпидемиология и молекулярная генетика дефицита 21-гидроксилазы у детей: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — М., 2004. [Kareva MA. Epidemiologiya i molekulyarnaya genetika defitsita 21-gidroksilazy u detey. [Dissertation] — Moscow; 2004.]
4. Фомина М.А., Бижанова Д.А., Арзамасцева Л.В., Протасов А.А., Карманов М.Е., Дядик Т.Г. Оценка результатов феминизирующей пластики у девочек-подростков с врожденной дисфункцией коры надпочечников в отдаленном послеоперационном периоде. // *Детская больница*. — 2010. — №2. — С.35-39. [Fomina MA, Bizhanova DA, Arzamastseva LV, Protasov AA, Karmanov ME, Dyadik TG. Evaluation of the results of feminizing plasty in female adolescents with congenital adrenal cortex dysfunction in the remote post-operative period. *Detskaya bol'nitsa*. 2010;(2):35-39.]
5. Escala Aguirre JM, Cadena Y, Lopez PJ, Angel L, Retamal MG, Letelier N, et al. [Feminizing genitoplasty in adrenal congenital hyperplasia: one or two surgical steps?]. *Archivos Españoles de Urología*. 2009;62(9):724-730. PMID: 19955597.
6. Bocciardi A, Lesma A, Montorsi F, Rigatti P, Passerini-Glazel. Feminizing Genitoplasty: A Long-Term Followup Study. *The Journal of Urology*. 2005;174(1):284-288. doi: 10.1097/01.ju.0000161211.40944.87.
7. Файзулин А.К., Батыгин М.П., Глыбина Т.М., Штырь З.В. Современные методы хирургической коррекции пороков наружных гениталий у девочек с врожденной дисфункцией коры надпочечников. // *Андрология и генитальная хирургия*. — 2011. — №3. — С. 69-73. [Faizulin AK, Batygin MP, Glybina TM, Shkityr ZV. Modern methodes of external genitalia correction in girls with congenital adrenal hypoplasia. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya*. 2011;(3):69-73.]

8. Johannsen TH, Ripa CPL, Carlsen E, Starup J, Nielsen OH, Schwartz M, et al. Long-Term Gynecological Outcomes in Women with Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency. *International Journal of Pediatric Endocrinology*. 2010;2010:1-7. doi: 10.1155/2010/784297.
9. Kregel S, Walz KH, Hauffa BP, Körner I, Rübber H. Long-term follow-up of female patients with congenital adrenal hyperplasia from 21-hydroxylase deficiency, with special emphasis on the results of vaginoplasty. *BJU International*. 2000;86(3):253-258. doi: 10.1046/j.1464-410x.2000.00789.x.
10. Creighton SM. Long-term outcome of feminization surgery: the London experience. *BJU International*. 2004;93(s3):44-46. doi: 10.1111/j.1464-410x.2004.04708.x.
11. Bailez MM, Gearhart JP, Migeon C, Rock J. Vaginal reconstruction after initial construction of the external genitalia in girls with salt-wasting adrenal hyperplasia. *Journal of Urology*. 1992;148(2 Pt 2):680-682; discussion 683-684.
12. Окулов А.Б., Негмаджанов Б.Б. Хирургические болезни репродуктивной системы и секстрасформационные операции: руководство для врачей. — М.: Медицина; 2000. — с. 114-197. [Okulov AB, Negmadzhanov BB. Khirurgicheskie bolezni reproduktivnoy sistemy i sekstransformatsionnye operatsii: guides for physicians. Moscow: Meditsina; 2000.]
13. Merlo S, Frasca G, Canonico PL, Sortino MA. Differential involvement of estrogen receptor and estrogen receptor in the healing promoting effect of estrogen in human keratinocytes. *Journal of Endocrinology*. 2008;200(2):189-197. doi: 10.1677/joe-08-0442.
14. Florian M, Lu Y, Angle M, Magder S. Estrogen induced changes in Akt-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase and vasodilation. *Steroids*. 2004;69(10):637-645. doi: 10.1016/j.steroids.2004.05.016.
15. Ashcroft GS, Ashworth JJ. Potential Role of Estrogens in Wound Healing. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2003;4(11):737-743. doi: 10.2165/00128071-200304110-00002.
16. Nauth H. Anatomy and physiology of the vulva. In: *Vulvovaginitis*. Ed by Elsner P, Marius J. NewYork: Marcel Dekker; 1993.
17. Hodgins MB, Spike RC, Mackie RM, MacLean AB. An immunohistochemical study of androgen, oestrogen and progesterone receptors in the vulva and vagina. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 1998;105(2):216-222. doi: 10.1111/j.1471-0528.1998.tb10056.x.
18. Pérez-López FR, López CC, Alós L, Juste G, Ibañez F, Martínez-Hernández H. Oestrogen and progesterone receptors in the human vagina during the menstrual cycle, pregnancy and postmenopause. *Maturitas*. 1993;16(2):139-144. doi: 10.1016/0378-5122(93)90058-p.
19. Chen G-D, Oliver RH, Leung BS, Lin L-Y, Yeh J. Estrogen receptor α and β expression in the vaginal walls and uterosacral ligaments of premenopausal and postmenopausal women. *Fertility and Sterility*. 1999;71(6):1099-1102. doi: 10.1016/s0015-0282(99)00113-2.
20. Kuiper GGJM, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Häggblad J, Nilsson S, et al. Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors α and β . *Endocrinology*. 1997;138(3):863-870. doi: 10.1210/endo.138.3.4979.
21. Brys M, Szylo K, Romanowicz-Makowska H, Dobrowolski Z, Maslowska I, Krajewska W. Expression of estrogen and progesterone receptor genes in endometrium, myometrium and vagina of postmenopausal women treated with estriol. *Sao Paulo Medical Journal*. 2009;127(3):128-133.
22. Taylor AH, Guzail M, Al-Azzawi F. Differential expression of oestrogen receptor isoforms and androgen receptor in the normal vulva and vagina compared with vulval lichen sclerosus and chronic vaginitis. *British Journal of Dermatology*. 2007;158(2):319-328. doi: 10.1111/j.1365-2133.2007.08371.x.
23. Liu MM, Albanese C, Anderson CM, Hilty K, Webb P, Uht RM, et al. Opposing Action of Estrogen Receptors and on Cyclin D1 Gene Expression. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(27):24353-24360. doi: 10.1074/jbc.M201829200.
24. Pettersson K, Delaunay F, Gustafsson J-Å. Estrogen receptor β acts as a dominant regulator of estrogen signaling. *Oncogene*. 2000;19(43):4970-4978. doi: 10.1038/sj.onc.1203828.
25. Pelletier G, El-Alfy M. Immunocytochemical Localization of Estrogen Receptors α and β in the Human Reproductive Organs. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000;85(12):4835-4840. doi: 10.1210/jcem.85.12.7029.
26. Cooke PS. Mechanism of Estrogen Action: Lessons from the Estrogen Receptor- Knockout Mouse. *Biology of Reproduction*. 1998;59(3):470-475. doi: 10.1095/biolreprod59.3.470.
27. Couse JF, Korach KS. Estrogen Receptor Null Mice: What Have We Learned and Where Will They Lead Us? *Endocrine Reviews*. 1999;20(3):358-417. doi: 10.1210/edrv.20.3.0370.
28. Buchanan DL, Kurita T, Taylor JA, Lubahn DB, Cunha GR, Cooke PS. Role of Stromal and Epithelial Estrogen Receptors in Vaginal Epithelial Proliferation, Stratification, and Cornification. *Endocrinology*. 1998;139(10):4345-4352. doi: 10.1210/endo.139.10.6241.
29. Pessina MA, Hoyt Jr RF, Goldstein I, Traish AM. Differential Regulation of the Expression of Estrogen, Progesterone, and Androgen Receptors by Sex Steroid Hormones in the Vagina: Immunohistochemical Studies. *The Journal of Sexual Medicine*. 2006;3(5):804-814. doi: 10.1111/j.1743-6109.2006.00290.x.
30. Blakeman PJ, Hilton P, Bulmer JN. Oestrogen and progesterone receptor expression in the female lower urinary tract, with reference to oestrogen status. *BJU International*. 2007;86(1):32-38. doi: 10.1046/j.1464-410x.2000.00724.x.
31. Fu X, Rezapour M, Wu XX, Li L, Sjögren C, Ulmsten U. Expression of estrogen receptor- α and - β in anterior vaginal walls of genuine stress incontinent women. *International Urogynecology Journal and Pelvic Floor Dysfunction*. 2003;14(4):276-281. doi: 10.1007/s00192-003-1042-7.
32. Skala CE, Petry IB, Albrich SB, Puhl A, Naumann G, Koelbl H. The effect of hormonal status on the expression of estrogen and progesterone receptor in vaginal wall and periurethral tissue in urogynecological patients. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2010;153(1):99-103. doi: 10.1016/j.ejogrb.2010.07.006.
33. Traish AM, Kim N, Min K, Munarriz R, Goldstein I. Role of androgens in female genital sexual arousal: receptor expression, structure, and function. *Fertility and Sterility*. 2002;77:11-18. doi: 10.1016/s0015-0282(02)02978-3.
34. Pelletier G. Localization and estrogenic regulation of androgen receptor mRNA expression in the mouse uterus and vagina. *Journal of Endocrinology*. 2004;180(1):77-85. doi: 10.1677/joe.0.1800077.
35. Baldassarre M, Giannone FA, Foschini MP, Battaglia C, Busacchi P, Venturoli S, et al. Effects of long-term high dose testosterone administration on vaginal epithelium structure and estrogen receptor- α and - β expression of young women. *International Journal of Impotence Research*. 2013;25(5):172-177. doi: 10.1038/ijir.2013.9.
36. Baldassarre M, Perrone AM, Giannone FA, Armillotta F, Battaglia C, Costantino A, et al. Androgen receptor expression in the human vagina under different physiological and treatment conditions. *International Journal of Impotence Research*. 2012;25(1):7-11. doi: 10.1038/ijir.2012.25.