

УДК 618.179-005.6-036.88:618.145-07

Д.Ш. Таравнех

Харківський національний медичний університет

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРИ І ФУНКЦІЇ ЕНДОМЕТРІЯ У ПАЦІЄНТОК З ТРОМБОФІЛІЄЮ І НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ЕКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ЗАПЛІДНЕННЯ В АНАМНЕЗІ

Проведено дослідження особливостей структури і функції ендометрія у 62 пацієнток з тромбофілією і невдалими спробами екстракорпорального запліднення в анамнезі, які ввійшли до основної групи, та 30 здорових жінок, що становили контрольну групу. Для визначення стану ендометрія в усіх жінок основної групи після невдалих спроб екстракорпорального запліднення проводили забір тканини за допомогою пайпель-біопсії. Досліджували морфологічну структуру ендометрія та експресію рецепторів стероїдних гормонів у залозах і стромі ендометрія. У пацієнток з основної групи в період передбачуваного «вікна імплантації» відмічаються зміни експресії рецепторів стероїдних гормонів в ендометрії: продукція α -ЕД і ПГ-рецепторів у залозах підвищується, а у стромі достовірно знижується. Показано, що тромбофілія є фактором, що призводить до зміни морфологічної структури ендометрія, а це, у свою чергу, до невдалих спроб екстракорпорального запліднення.

Ключові слова: *тромбофілія, екстракорпоральне запліднення, морфологічна структура ендометрія, стероїдні рецептори.*

Відомо, що вагітність є фактором ризику розвитку тромбозів [1]. Найбільш імовірною причиною тромбозів є антифосфоліпідний синдром, який за характером формування тромбофілії може бути прирівняний до генетично зумовлених дефектів гемостазу [2]. Генетичні форми тромбофілії і наявність антифосфоліпідних антитіл відіграють важливу роль в етіології невдалих спроб екстракорпорального запліднення (ЕКЗ), особливо у жінок з безпліддям неясного генезу [3]. Незважаючи на високі досягнення сучасної морфології, деякі питання, що стосуються патогенезу безпліддя і звичного невиношування вагітності, залишаються мало вивченими, що зумовлює можливість їх подальшого дослідження [4].

Роль патології ендометрія в патогенезі безпліддя безсумнівна. Адже саме адекватний морфофункціональний стан ендометрія є одним з основних чинників, що забезпечує успішну імплантацію заплідненої яйцеклітини і розвиток ембріона [5].

Прогестерон відіграє важливу роль у підготовці слизової оболонки матки до імплантації. Він бере участь у процесах регулювання міграції та інвазії трофобласта, блокує проліферативний ефект естрогенів, індукує гени, які дозволяють ембріону прикріпитися до ендометрія, а також діє як негативний регулятор інвазії трофобласта [6].

При тромбофілії змінюються структура і функція ендометрія, що супроводжується недостатністю лютеїнової фази при нормальних показниках рівня прогестерону і естрадіолу сироватки крові [7]. Можливо, значне зниження чутливості рецепторного апарату ендометрія відбувається внаслідок уведення великих доз препаратів, що застосовуються для контрольованої стимуляції яєчників, у поєднанні з материнськими тромбофіліями під час проведення ЕКЗ у жінок [8].

Метою даного дослідження було вивчення особливостей структури і функції ендометрія у пацієнток з тромбофілією і невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі.

© Д.Ш. Таравнех, 2015

Матеріал і методи. Для вивчення стану ендометрія у пацієнток з невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі було обстежено 62 жінок репродуктивного віку з трубно-перитонеальним фактором безпліддя і тромбофілією, які становили основну групу. До контрольної групи ввійшли 30 здорових жінок, що надійшли для штучного переривання вагітності у терміні 7–11 тижнів гестації. Перед обстеженням усі жінки підписали інформовану згоду на проведення даного дослідження, робота була схвалена комітетом з етики Харківського національного медичного університету.

Всі жінки основної групи не народжували, у кожної з них були 2 і більше невдалих спроб ЕКЗ в анамнезі. Жінки основної групи були розподілені на дві підгрупи: у 1-шу ввійшли 18 пацієнток з ознаками хронічного ендометриту, у 2-гу – 44 жінки без таких ознак.

Всі пацієнтки були обстежені на наявність антифосфоліпідного синдрому та спадковий поліморфізм генів схильності до тромбофілії. Діагностику антифосфоліпідного синдрому проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з використанням діагностичних наборів компанії ТОВ «НВО ДНК-Технологія» (Росія).

Для визначення стану ендометрія в усіх жінок основної групи після невдалих спроб ЕКЗ проводили забір тканини за допомогою пайпель-біопсії. Експресію рецепторів стероїдних гормонів у залозах і стромі ендометрія вивчали імуногістохімічним методом з використанням тест-систем «Dakocytomation Ep Vision» (США). Імуногістохімічну діагностику чутливості рецепторів ендометрія до прогестерону (ПГ) і естрадіолу (α -ЕД) визначали шляхом використання специфічних антитіл (ДАКО). Інтенсивність імуногістохімічних реакцій оцінювали за методом гістологічного розрахунку H-score з обчисленням середнього показника експресії (S) за формулою

$$S = 1a + 2b + 3c,$$

де a – відсоток слабо забарвлених ядер клітин; b – відсоток помірно забарвлених ядер клітин; c – відсоток сильно забарвлених ядер клітин [9].

Ступінь вираженості експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів розцінювали як: 0–10 балів – відсутність експресії; 11–100 балів – слабка експресія; 101–

200 балів – помірна; не менше ніж 201 бал – виражена [10].

Забір біопсій здійснювали на 20–22-й день менструального циклу, що відповідало нормальній середній фазі секретії менструального циклу за критеріями О.І. Топчієвої і R.W. Noyes.

З метою визначення стану гормонозалежних рецепторів пацієнткам основної групи на 20–22-й день менструального циклу виконували імуногістохімічне дослідження ендометрія.

У жінок контрольної групи досліджували ендометрій, який був отриманий при проведенні 30 штучних медичних абортів.

Зіскрібки з порожнини матки перед проведенням морфологічного дослідження ендометрія фіксували в 10% нейтральному формаліні, заливали у парафін, готували зрізи товщиною 5–7 мкм і забарвлювали їх гематоксилином і еозином за ван Гізеном. Мікропрепарати переглядали на мікроскопі «Axio-star» («Carl Zeiss», Німеччина).

Отримані результати обробляли із застосуванням комп'ютерної програми «Microsoft Excel». Статистична обробка отриманих даних проведена методами варіаційної і непараметричної статистики, за допомогою пакета прикладних статистичних програм VMDP, орієнтованих на аналіз біомедичних даних.

Результати та їх обговорення. Під час гістологічного дослідження зразків ендометрія 62 жінок з невдалими спробами ЕКЗ встановлено, що у 39 (62,9%) пацієнток ендометрій за критеріями О.І. Топчієвої і R.W. Noyes не відповідав фазі і дню менструального циклу. На 22-й день менструального циклу він мав такі особливості: у 9 (23,1%) жінок був у фазі проліферації, у 6 (15,3%) – у ранній фазі секретії, у 4 (10,3%) – у пізній фазі секретії, у 5 (12,8%) – змішаної будови, у 15 (38,5%) жінок відповідав середній фазі секретії.

У 18 (29,0%) жінок основної групи з невдалими спробами ЕКЗ під час гістологічного дослідження зразків ендометрія був констатований хронічний ендометрит, який, імовірно, має відношення до ураження рецепторного апарату циліндричного епітелію.

Хронічний запальний процес у матковій порожнині був підтверджений наявністю плазматичних клітин у циліндричному епітелії.

У жінок контрольної групи випадків хронічного запального процесу в порожнині матки не спостерігалось. Ендометрій у всіх жінок відповідав середній фазі секреції.

У 28 (45,2 %) жінок основної групи рецепторний апарат ендометрія був з помірною, а у 19 (30,6 %) – з вираженою експресією ПГ-рецепторів у стромі і епітелії залоз (рис. 1).

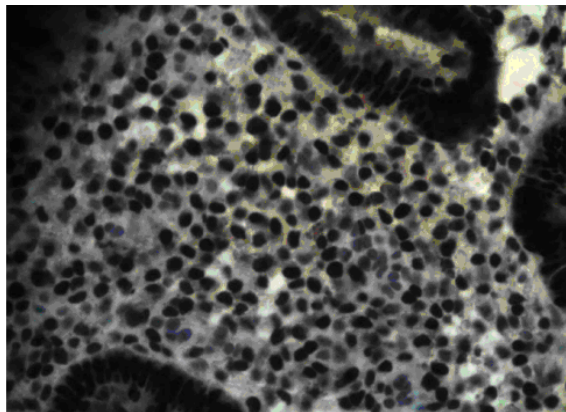


Рис. 1. Виражена експресія ПГ-рецепторів у стромі ендометрія

У 13 (20,9 %) пацієнток виявлена слабка експресія ПГ-рецепторів у стромі (рис. 2) і у 2 (3,2 %) – експресія ПГ-рецепторів в епітелії залоз відсутня.

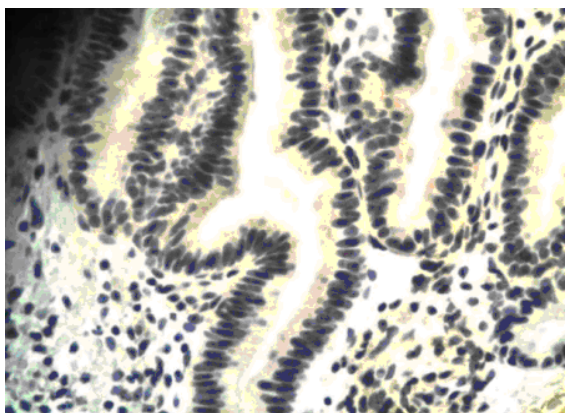


Рис. 2. Слабка експресія ПГ-рецепторів у стромі ендометрія

Слабка експресія α -ЕД-рецепторів у циліндричному епітелії (рис. 3) на 21–23-й дні менструального циклу була виявлена у переважної більшості пацієнток основної групи – 51 (82,3 %).

Дані щодо ступеня вираженості експресії естрогенових і прогестеронових рецепторів у залозистому шарі і стромі ендометрія у обстежених пацієнток подано в таблиці.

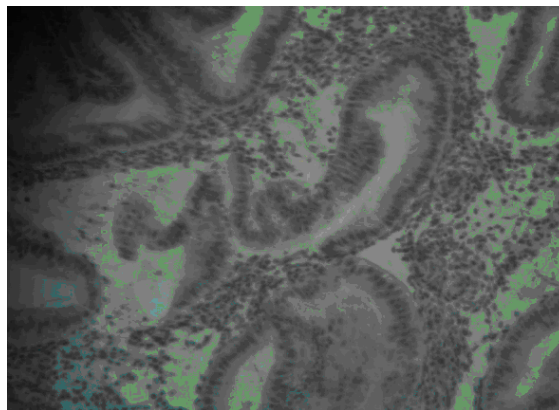


Рис. 3. Слабка експресія α -ЕД-рецепторів у залозистому шарі ендометрія

Загальною тенденцією у пацієнток з невдалими спробами ЕКЗ було те, що експресія стероїдних α -ЕД- і ПГ-рецепторів у залозах пацієнток без хронічного ендометриту була достовірно вище, ніж у жінок контрольної групи ($p < 0,001$), тоді як продукція α -ЕД-рецепторів у стромі жінок без хронічного запального процесу достовірно не відрізнялась від такої у контролі, а експресія ПГ-рецепторів була зниженою ($p > 0,05$).

У пацієнток 1-ї підгрупи з наявністю хронічного ендометриту експресія стероїдних α -ЕД- і ПГ-рецепторів у залозах була достовірно вище, ніж у контрольній групі, і становила ($368,3 \pm 44,1$) % ($p < 0,001$) і ($288,5 \pm 24,6$) % ($p < 0,01$) відповідно.

Продукція α -ЕД-рецепторів у стромі була значно знижена ($54,7 \pm 6,9$) % і достовірно відрізнялась від такої в контролі ($p < 0,01$).

Експресія ПГ-рецепторів була також достовірно низькою ($88,6 \pm 7,7$) % в порівнянні з показником у жінок контрольної групи – ($128,6 \pm 1,5$) % ($p < 0,05$).

У залозах ендометрія при невдалих спробах ЕКЗ середній показник експресії α -ЕД-рецепторів у залозистому шарі в пацієнток 2-ї підгрупи був вираженого ступеня і становив ($507,6 \pm 38,4$) % ($p < 0,001$). Експресія ПР-рецепторів у жінок цієї ж підгрупи була також вираженою і становила ($372,1 \pm 33,1$) % ($p < 0,001$).

Реєструвалося зниження експресії ПГ-рецепторів у стромі ендометрія у пацієнток 2-ї підгрупи до ($99,6 \pm 9,2$) % ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем – ($128,6 \pm 1,5$) % на тлі незначного підвищення імунореактивності ре-

Ступінь вираженості експресії стероїдних рецепторів у залозистому шарі і стромі ендометрія у обстежених пацієнток, ($M \pm m$) %

Рецептори	Групи обстежених пацієнток		
	основна (n=62)		контрольна (n=30)
	1-ша підгрупа (n=18)	2-га підгрупа (n=44)	
<i>Залозистий шар</i>			
ПГ-рецептори	288,5±24,6*	372,1±33,1@	152,3±4,7
α-ЕД-рецептори	368,3±44,1@	507,6±38,4@	146,5±6,9
<i>Строма</i>			
ПГ-рецептори	88,6±7,7*	99,6±9,2*	128,6±1,5
α-ЕД-рецептори	54,7±6,9#	70,2±4,2	88,8±3,7

Примітка. Статистично значуща різниця вихідних показників з контролем: * $p < 0,001$; # $p < 0,01$; @ $p < 0,05$.

цепторів до α-ЕД-рецепторів у жінок даної групи – до (70,2±4,2) % ($p > 0,05$).

Для кожної хворої була характерна індивідуальна експресія стероїдних рецепторів. У пацієнток з хронічним ендометритом відсоток α-ЕД-рецепторів у залозах відрізнявся від аналогічних показників жінок контрольної групи і варіював від 101,3 до 800,0; ПГ-рецепторів – від 50,2 до 401,8; а у стромі ендометрія – відповідно від 42,8 до 145,9 і від 8,5 до 99,9.

При морфологічному дослідженні зіскрібків з маткової порожнини пацієнток контрольної групи у стромі судин хоріальних ворсин виявлені еритроцити плоду, що свідчило про вагітність, що розвивається, перед проведенням штучного абортів. Покривний епітелій був з двома шарами клітин – поверхневий шар синцитіотрофобласта з безперервним або переривчастим шаром клітин цитотрофобласта. В усіх жінок була в наявності перша хвиля інвазії трофобласта, що відповідає терміну 7–9 тижнів вагітності. Спостерігалася інтенсивна інвазія інтерстиціального трофобласта, його судинного аналога, майже до облітерації просвітів дрібних судин, переважно в децидуальній оболонці.

При вивченні зіскрібків з порожнини матки у пацієнток з тромбофілією після невдалих спроб ЕКЗ велика частина ворсин практично не мала судин, відмічався виражений набряк, в окремих випадках – фіброз стромі. Практично в усіх препаратах ворсини ендометрія мали ембріональний тип будови. Більшість ворсин були стоншені, з деструкцією покривного епітелію.

У тих препаратах, у яких був відсутній синцитіотрофобласт, була виявлена слабка

гіперплазія цитотрофобласта з прилеглим фібриноідом.

Порушення місцевого гемостазу визначалося у вигляді тромбозу вен, свіжих і старих гематом у децидуальній оболонці, що підтверджує системний характер гемореологічних порушень при тромбофілії.

Висновки

1. У пацієнток з тромбофілією і невдалими спробами екстракорпорального запліднення в анамнезі в період передбачуваного «вікна імплантації» спостерігаються зміни експресії рецепторів стероїдних гормонів в ендометрії: продукція α-ЕД та ПГ-рецепторів у залозах підвищується, тоді як у стромі достовірно знижується.

2. Перед екстракорпоральним заплідненням необхідно проводити дослідження зіскрібків з маткової порожнини на наявність хронічного ендометриту і вогнищ запалення, розвиток яких викликає прогресуючий перебіг тромбофілії.

3. У жінок з тромбофілією і невдалими спробами екстракорпорального запліднення в анамнезі в ендометрії спостерігаються морфологічні прояви у вигляді пошкодження ендотелію судин і його синцитіотрофобласта, роз'єднання цито- і синцитіотрофобласта, дефекти хоріальних ворсин з затримкою децидуалізації стромі ендометрія.

4. Тромбофілія є фактором, що призводить до зміни морфологічної структури ендометрія, а це, у свою чергу, до невдалих спроб екстракорпорального запліднення.

5. Перед проведенням екстракорпорального запліднення пацієнткам з невдалими спробами допоміжних репродуктивних техно-

логій в анамнезі доцільно оцінювати стероїдну рецептивність ендометрія і його мор-

фологічну структуру в період «вікна імплантації» і здійснювати відповідну корекцію.

Список літератури

1. *Охтырская Т. А.* Оптимизация программы экстракорпорального оплодотворения у пациенток с риском развития тромбофилии : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.01.01 «Акушерство и гинекология» / Т. А. Охтырская. – М. : б/и, 2011. – 25 с.
2. *Пилипенко М. А.* Значение тромбофилии в формировании ранних эмбрионических потерь при проведении экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.01 «Акушерство и гинекология» / М. А. Пилипенко. – Омск, 2009. – 22 с.
3. *Cheng J. G.* Control of uterine receptivity and embryo implantation by steroid hormone regulation of LIF production and LIF receptor activity: towards a molecular understanding of the window of implantation / J. G. Cheng, C. I. Rodriguez, C. L. Stewart // *Rev. Endocrinol. Metabol. Dis.* – 2002. – V. 3, № 2. – P. 119–126.
4. Recurrent implantation failure: definition and management / C. Coughlan, W. Ledger, Q. Wang [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2014. – V. 28, № 1. – P. 14–38.
5. In-vitro model systems for the study of human embryo-endometrium interactions / C. H. Weimar, E. D. Post Uiterweer, G. Teklenburg [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2013. – V. 27, № 5. – P. 461–476.
6. The association between poor ovarian response and thrombophilia in assisted reproduction / J. S. Younis, M. Ben-Ami, I. Izhaki [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2013. – V. 166, № 1. – P. 65–69.
7. Folate-metabolizing gene variants and pregnancy outcome of IVF / M. Laanpere, S. Altmae, T. Kaart [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2011. – V. 22, № 6. – P. 603–614.
8. *Penzias A. S.* Recurrent IVF failure: other factors / A. S. Penzias // *Fertil. Steril.* – 2012. – V. 97, № 5. – P. 1033–1038.
9. A multicentre reliability of steroid receptor immunocytochemical assay quantification / R. A. McClelland, D. Wiilson, R. Leake [et al.] // *Europ. J. Cancer.* – 1991. – V. 27. – P. 711–715.
10. *Бессмертная В. С.* Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика эндометрия при бесплодии : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.15 «Патологическая анатомия» / В. С. Бессмертная. – М. : Б. и., 2009. – 28 с.

Д.Ш. Таравнех

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК С ТРОМБОФИЛИЕЙ И НЕУДАЧНЫМИ ПОПЫТКАМИ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ В АНАМНЕЗЕ

Проведено обследование особенностей структуры и функции эндометрия у 62 пациенток с тромбофилией и неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения в анамнезе, вошедших в основную группу, и у 30 здоровых женщин, которые составили контрольную группу. Для определения состояния эндометрия у всех женщин основной группы после неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения проводили забор ткани при помощи пайпель-биопсии. Исследовали морфологическую структуру эндометрия и экспрессию рецепторов стероидных гормонов в железах и строме эндометрия. У пациенток основной группы в период предполагаемого «окна имплантации» наблюдаются изменения экспрессии рецепторов стероидных гормонов в эндометрии: продукция α -ЭД и ПГ-рецепторов в железах повышается, в строме достоверно снижается. Показано, что тромбофилия является фактором, приводящим к изменению морфологической структуры эндометрия, а это, в свою очередь, к неудачным попыткам экстракорпорального оплодотворения.

Ключевые слова: тромбофилия, экстракорпоральное оплодотворение, морфологическая структура эндометрия, стероидные рецепторы.

D.Sh. Tarawneh

CHARACTERISTICS OF STRUCTURE AND FUNCTION OF ENDOMETRIUM IN PATIENTS WITH THROMBOPHILIA AND UNSUCCESSFUL IVF ATTEMPTS IN THE ANAMNESIS

The examination of the structure and features of endometrial function in 62 patients with thrombophilia and failed IVF attempts in history, that the main group, and 30 healthy women of control group. To determine the condition of the endometrium in all women of the main group after unsuccessful IVF attempts was made fabric fence using paypel biopsy. Investigation of morphological structure of endometrium and expression of steroid hormones receptors in the endometrial glands and stroma. We observed the patients of the main group in the period of the intended implantation window. The changes observed in the expression of steroid hormone receptors in the endometrium: the production of α -ED and GHG-receptors in the glands increases and in the stroma was significantly reduced. It is shown, that the thrombophilia is a factor contributing to the change in the morphological structure of the endometrium, leading to unsuccessful attempts at IVF.

Keywords: *thrombophilia, IVF, morphological structure of endometrium, steroid receptors.*

Поступила 14.09.15