

РОЛЬ ЭНДОМЕТРИЯ В ГЕНЕЗЕ БЕСПЛОДИЯ

Ж.К. Сейдахметова

Приведены данные гистероскопии, гистологического и иммуно-гистохимического исследований состояния эндометрия у пациенток с эндокринным фактором бесплодия. Выявлен существенный дисбаланс стероидной рецепции и пролиферативных процессов в эндометрии, особенно на фоне относительно нормального профиля сывороточных гормонов, который свидетельствует о повреждении рецепторного аппарата на тканевом эндометриальном уровне.

Ключевые слова: эндокринное бесплодие; эндометрий; стероидная рецепция; пролиферативная активность; Ki 67.

Эндометрий является наиболее специализированной тканью с особой, биологически обусловленной чувствительностью к стероидным гормонам, поэтому для оценки эндокринного статуса женщины необходимо его исследование.

Иммуно-гистохимический анализ ткани эндометрия, полученной при биопсии эндометрия во время гистероскопии, выявил определенные корреляционные взаимосвязи между изменениями эндометрия пролиферативной фазы и экспрессией рецепторов к эстрогену и проге-

стерону в ядрах эпителия желез и стромальных клеток; между изменениями, происходящими в эндометрии секреторной фазы и экспрессией эндометриальных рецепторов.

Целью исследований явилось определение роли эндометрия у пациенток с эндокринной формой бесплодия.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели мы исходили из следующих последовательных этапов выполнения работы:

1 этап. Изучение объекта исследований: тщательный сбор анамнеза, оценка объективного состояния, гормонального статуса пациенток с эндокринным фактором бесплодия.

2 этап. Гистероскопия, биопсия эндометрия (фракционное выскабливание полости матки), гистологическое исследование и иммуногистохимический анализ ткани эндометрия, с определением эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, маркера пролиферации белка Ki 67.

3 этап. Разработка алгоритма обследования пациенток с эндокринным фактором бесплодия, обеспечивающего высокий уровень оказания специализированной медицинской помощи данному контингенту больных.

Исследование проводилось в Национальном научном центре материнства и детства – гормональный статус пациенток, гистероскопия, биопсия эндометрия, гистологический анализ и на базе патологоанатомического отделения Карагандинского онкологического диспансера – подтверждение гистологического анализа, иммуногистохимический анализ ткани эндометрия.

1 этап. Объектом исследования явились 77 пациенток с эндокринным фактором бесплодия, выделенные из общего числа пациенток с бесплодием за период наблюдения 2008–2009 гг. Из них с первичным бесплодием выявлено 64% пациенток, 36 % пациенток – с вторичным бесплодием.

Пациентки были распределены на группы: по паритету бесплодия, по возрастному фактору, по длительности бесплодия, по нарушению менструального цикла, по нарушению гормонального статуса, по метаболическим нарушениям.

Возраст больных колебался от 24 до 40 лет, в среднем составил $28,2 \pm 4,2$ года.

Исследование гормонального фона проведено всем 77 пациенткам с эндокринным фактором бесплодия радиоиммунологическим методом с использованием наборов реактивов фирмы “Immunotech” (Чехия).

2 этап. Методы исследования: гистероскопия с биопсией или выскабливанием эндометрия, гистологическим и иммуногистохимическим анализом эндометрия в пролиферативной фазе и ранней фазе стадии секреции.

Гистероскопия проведена всем пациенткам с использованием эндоскопической аппаратуры фирмы K. Storz.

Гистероскопия с оценкой состояния эндометрия проводилась с целью выяснения соответствия состояния эндометрия фазе менструального цикла, выявления недостаточности секре-

торной фазы, гипопластического эндометрия, гиперпластического эндометрия, атрофического эндометрия, смешанного эндометрия, наличие ткани эндометрия в стадии пролиферации и секреции со взятием биоптата или соскоба эндометрия на гистологическое исследование для подтверждения гистероскопического диагноза [1, 2, 3, 4].

Гистологическое исследование: тканевые образцы в виде срезов толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование гистологических препаратов производилось в световом микроскопе при увеличении от $\times 50$ до $\times 400$.

Иммуногистохимические реакции проведены в серийных парафиновых срезах пероксидазно-антипероксидазным методом с демаскировкой антигенов в термостате с температурой до 97 градусов в течение 30 минут. В качестве первичных антител применяли мышинные моноклональные антитела к PR (к прогестероновым рецепторам), к белку Ki 67 (фактору пролиферации эндометрия), к ER (эстрогеновым рецепторам) фирмы “Novocastra”. Ядра докрашивали гематоксилином Майера, ставили положительные и отрицательные контроли. Для оценки сбалансированности гормональных влияний на эндометрий рассчитывали соотношение процента клеток, экспрессирующих ER и PR в эпителии и строме [5, 6, 7, 8].

3 этап. На основании проведенных исследований в 2008 и 2009 гг. разработан алгоритм обследования пациенток с эндокринным фактором бесплодия.

На *первом этапе* при объективном осмотре пациентки основное внимание было обращено на анамнез заболевания, характер и длительность нарушения менструального цикла, избыточный вес, степень ожирения, имеющиеся кожные проявления: себорею, акне, гирсутизм.

При исследовании гормонального фона необходимо обратить внимание на соотношение ЛГ/ФСГ (чаще оно выше 2), количественный состав ДГЭАС, кортизола, тестостерона, пролактина [9, 10].

На *втором этапе* проводилась гистероскопия с оценкой состояния эндометрия со взятием биоптата или соскоба эндометрия, в зависимости от выраженности изменений эндометрия.

В зависимости от *третьего этапа* исследования – гистологического подтверждения данных диагнозов с выявлением патологии эндометрия, иммуногистохимического анализа ткани эндометрия с выявлением патологии экспрессии

эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, с нарушением экспрессии маркера пролиферации белка Ki 67 – переходим к *четвертому этапу* исследования: коррекции гормональных нарушений с гистероскопическим, гистологическим и иммуно-гистохимическим контролем за состоянием эндометрия с целью раннего восстановления репродуктивной функции.

Результаты исследования. По данным проведенной гистероскопии для бесплодия эндокринного генеза характерна мозаичная картина, подтвержденная гистологическим методом исследования: гиперплазия эндометрия выявлена у 22% пациенток, смешанный эндометрий (эндометрий пролиферативной фазы и секреторной фазы) – у 10,4%, гипопластический эндометрий – у 1,3%, диспластический эндометрий – у 3,9%, атрофический эндометрий – у 1,3%, недостаточность секреторной фазы – у 22% пациенток.

По данным иммуно-гистохимического анализа эндометрия были выявлены существенные различия при исследовании фактора пролиферации – белка Ki 67 – в железах и строме эндометрия (см. таблицу). Наиболее высокие показатели фактора пролиферации и в железах, и в строме эндометрия закономерно выявлены при гиперплазии эндометрия. При недостаточности лютеиновой фазы эндометрия экспрессия в клетках эпителия желез была в 3,8 раз выше нормальных значений, а в клетках стромы – в 1,8 раз выше нормы.

Пролиферативная активность (экспрессия белка Ki67) в эндометрии пациенток с бесплодием

Вид патологии	Окрашенных ядер, %			
	эпителий желез	p	клетки стромы	p
Норма	0,7±0,2		3,7±3,74	
Бесплодие первичное	34,7±5,11	<0,05	6,9±1,32	<0,05
Бесплодие вторичное	39,7±6,12	<0,05	7,7±2,02	<0,05

Как видно из таблицы, более выраженные изменения пролиферативной активности отмечены в железах эндометрия, с увеличением экспрессии белка Ki 67 более, чем в 49 раз при первичном бесплодии и более, чем в 56 раз при

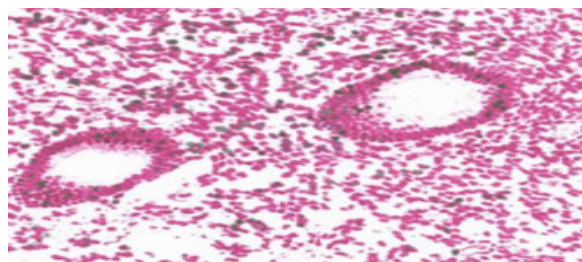
вторичном бесплодии; в строме эндометрия – с увеличением экспрессии

Ki 67 в 2 раза при первичном бесплодии и в 2,2 раза выше нормальных показателей при вторичном бесплодии. Повреждение стероидной рецепции стромы отражает важное звено в патогенезе бесплодия, так как считается, что строма играет решающую роль в успешной имплантации плодного яйца.

Выявленный дисбаланс стероидной рецепции и пролиферативных процессов в эндометрии свидетельствует о повреждении рецепторного аппарата на тканевом эндометриальном уровне.

Обсуждение результатов исследования. Учитывая, что показатели сывороточных гормонов крови у 39% обследованных находились в пределах нормы, проведенные исследования являются особенно значимыми, поскольку отражают дисбаланс гормональной регуляции стероидного рецепторного аппарата на уровне эндометрия. Экспрессия рецепторов к стероидным гормонам при различной патологии эндометрия имеет свои особенности.

Выявлено, что максимальные отклонения отмечаются при гиперплазии эндометрия, с наибольшими отличиями в показателях желез эндометрия. Чаще имеет место недостаточность лютеиновой фазы менструального цикла, отставание секреторных изменений в среднем от 4 до 7 дней. При данных гистероскопических и гистологических изменениях состояния эндометрия экспрессия эстроген-рецепторов и в эпителии желез, и в стромальных клетках превышает нормальные показатели (см. рисунок).



Рецепторы эстрогенов в строме и железах эндометрия. Фаза пролиферации. Окраска диаминобензидин-тетрахлоридом и гематоксилином. Увеличение x 400

По данным исследования максимальная чувствительность эпителия желез эндометрия к эстрогенам, в результате выраженной экспрессии рецепторов, отмечена в среднюю и позднюю

фазы пролиферации, процент клеток стромы с выраженной экспрессией рецепторов к прогестерону также постепенно увеличивается и достигает максимума к поздней стадии пролиферации и ранней стадии секреции.

Диагностированы изменения эндометрия у пациенток с эндокринным фактором бесплодия в пролиферативной фазе менструального цикла: увеличение экспрессии эстрогеновых рецепторов в строме эндометрия более чем в 2,6 раза, в железах эндометрия – более чем в 4,2 раза, увеличение уровня прогестероновых рецепторов в строме и в железах эндометрия более чем в 1,3 раза с преимущественным увеличением экспрессии рецепторов при вторичном бесплодии.

Выявлены изменения эндометрия у пациенток с эндокринным фактором бесплодия в ранней секреторной фазе менструального цикла, характеризующиеся увеличением экспрессии эстрогеновых рецепторов в строме эндометрия более чем в 1,5 раза от нормальных значений, в железах – более чем в 2,7 раза, увеличением уровня прогестероновых рецепторов в строме и в железах эндометрия более чем в 1,9 раза, с преимущественным увеличением экспрессии рецепторов при вторичном бесплодии.

Наиболее высокие показатели фактора пролиферации и в железах, и в строме эндометрия определяют степень выраженности гиперплазии эндометрия.

Таким образом, фактор пролиферации – белок Ki 67 был выявлен в виде окрашенного в коричневый цвет ядерного субстрата эпителиальных и стромальных клеток нормального эндометрия (преимущественно в поверхностных слоях) только в пролиферативную фазу и раннюю секреторную стадию менструального цикла. В данной работе определены также существенные различия экспрессии фактора пролиферации белка Ki 67 в железах и строме эндометрия (см. таблицу), с преимущественным увеличением

экспрессии пролиферативного белка в железах эндометрия в 56,7 раз выше нормальных показателей при вторичном бесплодии и в 49,6 раз выше нормальных показателей при первичном бесплодии.

Литература

1. Бессмертная В.С. Морфологическая и иммуно-гистохимическая характеристика при бесплодии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2009. С. 10–20, 25, 38.
2. Вихляева Е.М. Руководство по эндокринной гинекологии. М., 2002. С. 59–71.
3. Капнушева Л.М. Гистероскопия в диагностике и лечении внутриматочной патологии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2001. 2002 с.
4. Крищенко В.И., Щербина Н.А., Феськов А.М. Состояние эндометрия у женщин с эндокринным бесплодием // Акушерство и гинекология. 2008. № 3. С. 57.
5. Мамедалиева Н.М., Шангараева А.А. К вопросу об этиопатогенезе гиперпластических процессов эндометрия (обзор) // Акушерство и гинекология. 2007. №1. С. 29–33.
6. Перминов В.С. Иммуно-гистохимические особенности рецепторов стероидных гормонов при гиперпластических процессах в эндометрии: Методические рекомендации / Карагандинский областной онкологический диспансер. Караганда, 2010.
7. Розен В.В., Смирнов А.Н. Рецепторы и стероидные гормоны. М., 1981.
8. Феськов А.М. Эндокринное бесплодие // Акушерство и гинекология. 2006. № 2. С. 28–29.
9. Anastasiadis P.G., Skaphida P.G., Kouilaki N.G. et al. // Eur. J. Gynecol. 2000. Vol. 21. № 2. P. 131–134
10. Utsunomiya H., Suzuki T., Kaneko C. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2001. Vol. 86. № 7. P. 3436–3443.