

УДК 618.177-06:618.664-008.6

© Е. Н. Носенко, А. И. Саенко, И. Г. Постолук, 2013.

РЕЦЕПТОРНЫЙ СТАТУС ЭНДОМЕТРИЯ У БЕСПЛОДНЫХ ЖЕНЩИН С НЕУДАЧНЫМИ ПОПЫТКАМИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В АНАМНЕЗЕ

Е. Н. Носенко, А. И. Саенко, И. Г. Постолук

Научно-исследовательский институт медицинских проблем семьи (директор – профессор А. В. Чайка),
Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького; 83003, Украина, г. Донецк, пр. Ильича, 16;
E-mail: chaika@dsu.edu.ua

THE RECEPTOR STATUS OF ENDOMETRIUM IN INFERTILE WOMEN WITH UNSUCCESSFUL ATTEMPTS OF ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES IN ANAMNESIS

O. M. Nosenko, A. I. Sayenko, I. G. Postolyuk

SUMMARY

We have analyzed the receptor status characteristics of the endometrium in infertile women who had unsuccessful attempts to assisted reproductive technology (ART) in anamnesis. We observed 62 infertile women with unsuccessful attempts of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/PE) and 30 fertile women in the control group. The hormone receptor expression in the endometrium was investigated by immunohistochemistry using the test systems «Dakocytomation En Vision» (U.S.), HRP (horseradish peroxidase) and mouse monoclonal antibodies (MAbs) to the estrogen receptor- α (clone 1D5, DAKO), P4 (clone 16&SAN27, Novocastra). To assess the expression of estrogen receptor- α and P4 the immunoreactivity index was calculated using the formula $IRS=SI \times PP$, where the IRS is the immunoreactivity index, SI is the total optical intensity of staining, PP is the percentage of positively stained nuclei. We have found that such women had changes in the expression of the steroid hormone receptors in the endometrium. The products of the steroid estrogen receptor- α and P4 in the glands increased, while production of the estrogen receptor- α in the stroma did not changed significantly, P4 receptors in the stroma were reduced. We recommend preceding further ART attempts in patients with failed IVF attempts / PE in the clinical history with an assessment of the steroid receptivity of the endometrium during the implantation window in order to make appropriate adjustments.

РЕЦЕПТОРНИЙ СТАТУС ЕНДОМЕТРИЯ У БЕЗПЛІДНИХ ЖІНОК З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ В АНАМНЕЗІ

О. М. Носенко, А. І. Саенко, І. Г. Постолук

РЕЗЮМЕ

У статті проаналізован особливості рецепторного статусу ендометрія у безплідних жінок з невдалими спробами допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) в анамнезі. Під спостереженням знаходилося 62 безплідні жінки з невдалими спробами екстракорпорального запліднення та переносу ембріона (ЕКЗ/ПЕ) і 30 плідних групи контролю. Вивчення експресії рецепторів стероїдних гормонів в ендометрії проводили імуногістохімічним методом з використанням тест-систем «Dakocytomation En Vision» (США), HRP (пероксидази хрому) і мишачих моноклональних антитіл до рецепторів естрогенів- α (клон 1D5, DAKO), P4 (клон 16&SAN27, Novocastra). Для оцінки експресії рецепторів естрогенів- α і P4 розраховували індекс імунореактивності за формулою $IRS=SI \times PP$, де IRS – індекс імунореактивності, SI – загальна оптична інтенсивність фарбування, PP – відсоток позитивно забарвлених ядер. Встановлено, що у безплідних жінок з невдалими спробами ДРТ спостерігаються зміни експресії рецепторів стероїдних гормонів в ендометрії. Продукція стероїдних рецепторів естрогенів- α і P4 в залозах збільшена, тоді як продукція рецепторів естрогенів- α в стромі достовірно не змінена, а рецепторів P4 в стромі знижена. Автори рекомендують перед проведенням подальших спроб ДРТ пацієнткам з невдалими спробами ЕКЗ/ПЕ в анамнезі проводити оцінку стероїдної рецептивності ендометрія в період вікна імплантації та здійснювати відповідну корекцію.

Ключевые слова: бесплодие, рецепторы прогестерона, рецепторы эстрогенов- α , окно имплантации, вспомогательные репродуктивные технологии, неудачные попытки.

У женщин, перенесших экстракорпоральное оплодотворение и перенос эмбриона (ЭКО/ПЭ), имплантация может не состояться даже тогда, когда эмбрионы очевидного хорошего качества. В среднем, около 70,00% практически здоровых эмбрионов внутритрубно исчезают, не давая никаких признаков прикрепления трофобласта и продукции хориониче-

ского гонадотропина человека. Этот факт поднимает вопрос о состоянии эндометрия как факторе, определяющем успех/неудачи имплантации [4-7].

Прогестерон с его геномным и негеномным действиями играет важную роль в подготовке слизистой оболочки матки к имплантации, а также в регулировании миграции и инвазии трофобласта. Геномное

действие прогестерона осуществляется при посредничестве классических ядерных рецепторов прогестерона, PR-A и PR-B. В дополнение к их геномному действию, ядерные рецепторы прогестерона могут также вызвать быстрые цитоплазматические сигнальные события. Мембраносвязанные рецепторы прогестерона причастны к быстрому негеномному действию прогестерона. Геномное и экстра-ядерное действия прогестерона имеют решающее значение для адекватной децидуализации и имплантации. Прогестерон играет важную роль в создании рецептивности эндометрия, блокируя пролиферативный эффект эстрогенов, индуцируя гены, которые позволяют эмбриону прикрепиться к эндометрию, а также действует как негативный регулятор инвазии трофобласта путем контроля активности матричных металлопротеиназ [9].

Как говорилось выше, одним из важных механизмов воздействия P_4 является селективное подавление его рецепторов. В ходе лютеиновой фазы постепенно снижается концентрация рецепторов P_4 в эпителиальных клетках, но она остаётся высокой в децидуальных клетках. Это событие является ключевым в развитии эндометрия – происходит переход от превалирования активности эпителия к активизации стромальной/децидуальной функции. Нарушение соотношения экспрессии рецепторов P_4 в строме и железах может приводить к снижению или полной потере рецептивности эндометрия к моменту имплантации плодного яйца, то есть к имплантационной недостаточности [1-3, 5-9].

Целью исследования стало изучение особенностей рецепторного статуса эндометрия у бесплодных женщин с неудачными попытками вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в анамнезе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 62 бесплодные женщины с неудачными попытками ЭКО/ПЭ и 30 условно соматически и гинекологически здоровых женщин, у которых изменения в эндометрии во время забора биопсий на 21-22-й день менструального цикла отвечали критериям R. W. Noyes и О. И. Топчиевой.

Изучение экспрессии рецепторов стероидных гормонов в эндометрии проводили иммуногистохимическим методом с использованием тест-систем «Dakocytomation En Vision» (США), HRP (пероксидазы хрена) и мышиных моноклональных антител (МАТ) к рецепторам эстрогенов- α (клон 1D5, DAKO), P_4 (клон 16&SAN27, Novocastra). Для оценки экспрессии рецепторов эстрогенов- α и P_4 рассчитывали индекс иммунореактивности по формуле $IRS=SI \times PP$, где IRS – индекс иммунореактивности, SI – общая оптическая интенсивность окрашивания, PP – процент позитивно окрашенных ядер.

Полученные результаты обрабатывали с применением компьютерной программы «Microsoft Excel».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При гистологическом исследовании образцов эндометрия от 62 женщин с неудачными попытками ЭКО/ПЭ установлено, что у 58,06% пациенток эндометрий по критериям О. И. Топчиевой и R. W. Noyes не соответствовал фазе и дню менструального цикла, был на 22-й день менструального цикла у 17,74% женщин в фазе пролиферации, у 14,52% – в ранней фазе секреции, у 9,68% – в поздней фазе секреции, у 16,13% – смешанного строения и лишь у 41,94% соответствовал средней фазе секреции. Среди обследованных женщин с неудачными попытками ЭКО/ПЭ в 25,81% случаев при гистологическом исследовании образцов эндометрия был зарегистрирован хронический эндометрит, подтверждённый наличием экспрессии синдекана (CD138+) плазмочитами, в 30,65% – полип эндометрия, в 14,52% – простая неатипическая гиперплазия, в 6,45% – комплексная неатипическая гиперплазия, в 11,29% – гипоплазия эндометрия.

При изучении экспрессии стероидных рецепторов в группе контроля установлено, что во время окна имплантации в железах IRS рецепторов эстрогенов- α составлял $42,73 \pm 0,92$ усл. ед., рецепторов P_4 – $85,50 \pm 2,14$ усл. ед., Hscore рецепторов андрогенов – $0,30 \pm 0,00$ усл. ед., а в строме соответственно – $65,43 \pm 1,86$ усл. ед., $155,96 \pm 2,31$ усл. ед., $1,31 \pm 0,01$ усл. ед. Полученные данные совпадают с данными литературы.

Общей тенденцией у пациенток с неудачными попытками ЭКО/ПЭ было то, что экспрессия стероидных рецепторов эстрогенов- α и P_4 в железах превышала таковую в контроле, тогда как продукция рецепторов эстрогенов- α в строме достоверно не отличалась от таковой в контроле, а рецепторов P_4 была сниженной.

Так, в железах эндометрия при неудачных попытках ЭКО/ПЭ средний IRS рецепторов эстрогенов- α был $79,57 \pm 7,16$ усл. ед., P_4 – $91,22 \pm 7,64$ усл. ед., что составило от аналогичных показателей контрольной группы соответственно $516,85 \pm 46,33\%$, $365,10 \pm 30,58\%$. В строме эндометрия при неудачных попытках ЭКО/ПЭ регистрировалось выраженное снижение экспрессии рецепторов P_4 ($111,17 \pm 6,82$ усл. ед.) на фоне недостоверного незначительного повышения иммунореактивности рецепторов к эстрогенам- α ($73,20 \pm 6,87$ усл. ед.), что составило от аналогичных показателей контрольной группы соответственно $121,94 \pm 11,45\%$ и $71,28 \pm 4,37\%$.

При несоответствии фазе и дню менструального цикла тенденции изменений экспрессии стероидных рецепторов соответствовали выше указанным характеристикам: при соответствии эндометрия в день предполагаемого окна имплантации фазе пролиферации IRS рецепторов эстрогенов- α в железах составил от аналогичных показателей контрольной группы $620,48 \pm 130,89\%$, IRS рецепторов P_4 – $360,62 \pm 49,54\%$, в строме – $168,01 \pm 35,78\%$, $63,58 \pm 10,91\%$; при соот-

ветствии ранней фазе секреции – 652,00±153,78%, 510,56±92,01% и 124,01±36,72%, 74,84±13,38%; поздней фазе секреции – 306,45±55,87%, 282,55±68,77% и 116,82±28,18%, 53,43±9,46%; в эндометрии смешанного строения – 440,89±130,44%, 67,49±23,28% и 128,49±42,05%, 78,55±13,84%. Даже в эндометрии от пациенток с неудачными попытками ЭКО/ПЭ, в котором наблюдалось соответствие средней фазе секреции, IRS рецепторов эстрогенов-α в железах составил от аналогичных показателей контрольной группы 557,07±72,80%, P₄ – 416,92±45,65%, а в строме эндометрия – 102,19±12,36% и 78,49±6,43%.

Для эндометрия, в котором наблюдались явления хронического эндометрита, IRS рецепторов эстрогенов-α в железах составил от аналогичных показателей контрольной группы 398,37±65,01%, рецепторов P₄ – 299,94±57,19%, в строме – 84,74±8,62%, 48,87±7,02%; гиперпластических процессов эндометрия – 636,05±81,04%), 415,06±48,15% и 145,53±22,30%, 71,44±7,28%, в том числе, при полипах – 617,95±119,42%, 467,76±78,00% и 158,25±32,35%, 80,30±10,08%; при простой неатипической гиперплазии – 571,70±135,66%, 278,69±44,05% и 150,22±44,49%, 55,52±13,57%; при комплексной неатипической гиперплазии – 839,67±292,03%, 550,62±153,56% и 93,62±26,79%, 78,45±17,41%.

У пациенток без явлений хронического эндометрита и гиперпластических процессов IRS рецепторов эстрогенов-α в железах эндометрия составил от аналогичных показателей контрольной группы 498,79±84,94%, IRS рецепторов P₄ – 352,08±53,99%, соответственно в строме – 121,03±17,63%, 89,00±5,55%.

Для каждой больной была характерна своя индивидуальная экспрессия стероидных рецепторов. У пациенток с хроническим эндометритом процент IRS рецепторов эстрогенов-α в железах от аналогичных показателей контрольной группы варьировал от 101,33 до 993,00%, рецепторов P₄ – от 57,62 до 701,08%, а в строме эндометрия – соответственно от 36,48 до 140,93% и от 7,05 до 97,85%; с полипами – в железах от 110,67 до 1312,00%, от 36,01 до 779,11%, в строме – от 23,32 до 280,69%, от 6,99 до 108,55%; с простой неатипической гиперплазией – в железах от 280,00 до 1270,67%, от 36,01 до 444,98%, в строме – от 16,33 до 310,84%, от 6,99 до 107,08%; с комплексной неатипической гиперплазией – в железах от 482,00 до 1312,00%, от 110,67 до 1312,00%, в строме – от 60,80 до 126,44%, от 57,13 до 99,77%; у женщин без явлений хронического эндометрита и гиперпластических процессов – в железах от 134,67 до 1238,67%, от 20,41 до 786,71%, в строме – от 18,66 до 264,70%, от 34,88 до 108,68%.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток с неудачными попытками ЭКО/ПЭ в период предполагаемого окна имплантации наблюдаются изменения экспрессии рецепторов стероидных гормонов в эндометрии.

2. Продукция стероидных рецепторов эстрогенов-α и P₄ в железах увеличена, тогда как продукция рецепторов эстрогенов-α в строме достоверно не изменена, а рецепторов P₄ в строме снижена.

3. Перед проведением последующих попыток ВРТ пациенткам с неудачными попытками ЭКО/ПЭ в анамнезе целесообразно проводить оценку стероидной рецептивности эндометрия в период окна имплантации и осуществлять соответствующую коррекцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бессмертная В. С. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика эндометрия при бесплодии : автореф. дисс. ... канд. мед. наук : 14.00.15 / Бессмертная В. С. ; ГОУ ВПО РГМУ Росздрава. – М. : Б. и., 2009. – 28 с.

2. Евдоченко И. И. Экспрессия рецепторов стероидных гормонов эндометрия и состояние локального иммунного статуса при эндокринном бесплодии у женщин : дисс. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Евдоченко Инесса Ивановна ; Красноярская медицинская академия. – Красноярск : Б. и., 2004. – 145 с.

3. Ковязин В. А. Иммуногистохимическое исследование пролиферативных, гиперпластических и неопластических процессов в эндометрии женщин : автореф. дисс. ... канд. мед. наук : 03.00.25 / Ковязин В. А. ; Российский университет дружбы народов. – М. : Б. и., 2005. – 18 с.

4. Михнина Е. А. Морфофункциональное состояние эндометрия у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности : автореф. дисс. ... канд. мед. наук : 14.00.01 ; 14.00.36 / Михнина Е. А. ; Учреждение РАМН НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН (Санкт-Петербург). – СПб.: Б.и., 2009. – 40 с.

5. Морфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия у женщин с первичным и вторичным бесплодием: научное издание / В. С. Бессмертная, М. В. Самойлов, К. Г. Серебренникова [и др.] // Архив патологии : двухмесячный научно-теоретический журнал. – 2008. – Т. 70, № 4. – С. 31–34.

6. Endometrial morphology and modulation of hormone receptors during ovarian stimulation for assisted reproductive technology cycles / L. Detti, G. M. Saed, N. M. Fletcher [et al.] // Fertil. Steril. – 2011. – Vol. 95, № 3. – P. 1037–1041.

7. Expression of estrogen and progesterone receptors in the endometrium of fertile and infertile women / I. N. Kostyuchek, O. A. Vitkina, S. V. Nikitin [et al.] // Arkh. Patol. – 2011. – Vol. 73, № 5. – P. 30–32.

8. Gene expression profiles and structural/functional features of the peri-implantation endometrium in natural and gonadotropin-stimulated cycles / S. Mirkin, G. Nikas, J. G. Hsiu [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 89, № 11. – P. 5742–5752.

9. Halasz M. The role of progesterone in implantation and trophoblast invasion / M. Halasz, J. Szekeres-Bartho // J. Reprod. Immunol. – 2013. – Vol. 97, № 1. – P. 43–50.