

УДК [618.14-07:618.177]:[577.175.632+577.175.64]

Лызикова Ю.А.

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Lyzikova Yu.

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Клинико-морфологические особенности эндометрия при бесплодии: оценка экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов

Clinical-Morphological Features of Endometrium in Infertility: Evaluation of Expression of Estrogen Receptors and Progesterone Receptors

Резюме

Введение. Высокая частота бесплодных браков, низкая эффективность вспомогательных репродуктивных технологий, обуславливает научный интерес к проблеме рецептивной функции эндометрия у пациенток с бесплодием.

Цель. Определить экспрессию рецепторов к эстрогену и прогестерону в эндометрии у пациенток с бесплодием.

Методы. В рамках проспективного «случай-контроль» исследования обследовано 55 пациенток репродуктивного возраста. Биопсию эндометрия у пациенток производили на 7–9-й день после овуляции. Иммуногистохимическое окрашивание проводили с использованием первичных антител к рецептору эстрогена и прогестерона.

Результаты. Всего обследовано 55 пациенток репродуктивного возраста. В основную группу вошли 40 (72,73%) пациенток с бесплодием, группу сравнения составили 15 (27,27%) здоровых пациенток, проходивших прегравидарную подготовку. Экспрессия эстрогеновых рецепторов в эндометрии у пациенток с бесплодием составила в железах 95,50 (92,65; 98,15), в группе сравнения 70,55 (67,95; 74,63) ($z=4,82$, $p<0,001$), в строме желез 90,00 (90,20; 99,90) и 76,70 (70,10; 88,75) соответственно ($z=3,76$, $p<0,001$). Экспрессия рецепторов эстрогена в поверхностном эпителии желез у пациенток с бесплодием составила 99,00 (90,80; 100,00), в группе сравнения – 88,70 (83,80; 95,35) ($z=1,65$, $p<0,001$). При сравнении экспрессии рецепторов прогестерона у пациенток обеих групп не выявлено статистически значимых различий.

Обсуждение. У пациенток с бесплодием отмечена интенсивная экспрессия эстрогеновых рецепторов как в поверхностном эпителии, так и в строме желез эндометрия, что свидетельствует о локальной гиперэстрогении.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у пациенток с бесплодием нарушения репродуктивной функции развиваются на фоне локальной гиперэстрогении, что ухудшает прогноз наступления беременности. Оценка экспрессии эстрогеновых рецепторов у данного контингента пациенток должна быть необходимым этапом обследования перед планированием беременности, особенно с использованием вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: хронический эндометрит, бесплодие, эстрогеновый рецептор, прогестероновый рецептор.

Abstract

Introduction. The high frequency of infertile marriages, low efficiency of assisted reproductive technology, causes scientific interest to the problem of receptive function of the endometrium in patients with infertility.

Purpose. To determine the expression of estrogen and progesterone receptors in the endometrium in patients with infertility.

Methods. 55 patients of reproductive age were examined in a prospective case-control study. Endometrial biopsy in patients was performed on 7–9 days after ovulation. Immunohistochemical staining was performed using primary antibodies to estrogen and progesterone receptors.

Results. 55 patients of reproductive age were examined. The main group consisted of 40 (72.73%) patients with infertility, the control group consisted of 15 (27.27%) healthy patients who were examined for pregravid preparation. Expression of estrogen receptors in the endometrium of patients with infertility has made in glands 95.50 (92.65; 98.15) in the comparison group 70.55 (67.95; 74.63) ($z=4.82$, $p<0.001$) in the stroma of the glands of 90.00 (90.20; 99.90) and 76.70 (70.10; 88.75), respectively ($z=3.76$, $p<0.001$). The expression of estrogen receptors in the superficial epithelium of the glands in patients with infertility was 99.00 (90.80; 100.00), in the comparison group – 88.70 (83.80; 95.35) ($z=1.65$, $p<0.001$). The expression of progesterone receptors in the endometrium in patients of both groups did not differ significantly.

Discussion. The intense expression of estrogen receptors both in the surface epithelium and in the stroma of the endometrial glands revealed in patients with infertility, which indicates local hyperestrogenia.

Conclusion. The results show that in patients with infertility reproductive disorders develop due to the local hyperestrogenia, which worsens the prognosis of pregnancy. Evaluation of estrogen receptor expression in this cohort of patients should be a necessary stage of examination before planning pregnancy, especially with the using of assisted reproductive technologies.

Keywords: chronic endometritis, infertility, estrogen receptor, progesterone receptor.

■ ВВЕДЕНИЕ

В последние годы возрастает интерес к изучению состояния рецептивности эндометрия у пациенток с различной гинекологической патологией. Высокая частота бесплодных браков, низкая эффективность вспомогательных репродуктивных технологий обуславливают научный интерес к проблеме рецептивной функции эндометрия у пациенток с бесплодием. До настоящего времени эта проблема диагностики актуальна, поскольку не существует метода, позволяющего предвидеть наступление беременности и исход наступившей беременности. Для выяснения состояния эндометрия были использованы различные методы – от морфологической оценки до определения эндометриальной рецептивности [1]. Большинство публикаций посвящены изучению роли уровня прогестерона в сыворотке и экспрессии рецепторов прогестерона в эндометрии в патогенезе репродуктивных потерь [2]. Изучение экспрессии рецепторов эстрогена проводится, как правило, в диагностике онкологических заболеваний и не проводится у бесплодных

пациенток [3]. Однако полноценное развитие эндометрия осуществляется в результате совместного взаимодействия эстрогена и прогестерона. Наличие прогестерона является предпосылкой для развития эндометрия и имплантации эмбриона, однако трансформация эндометрия в секреторную фазу происходит как дополнение к предыдущему пику эстрадиола в фазу пролиферации. Экспрессия рецепторов эстрогена в эндометрии достигает своего пика во время пролиферативной фазы и снижается после овуляции под действием прогестерона [4, 5]. Новые молекулярно-биологические методы исследования, в частности иммуногистохимические, позволяют диагностировать патологические изменения в эндометрии на клеточном уровне и дать подробные ответы о морфофункциональном состоянии эндометрия [6].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить экспрессию рецепторов к эстрогену и прогестерону в эндометрии у пациенток с бесплодием.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данная работа являлась проспективным исследованием «случай – контроль». Критерии включения и исключения из исследования представлены в табл. 1.

Таким образом, в исследование включено 55 пациенток репродуктивного возраста (40 пациенток – основная группа, 15 – группа сравнения). Средний возраст обследованных пациенток основной группы составил 29,00 (26,00; 30,08) года, в группе сравнения 26,80 (25,54; 29,00) года. Всеми пациентками, участвовавшими в исследовании, было подписано добровольное информированное согласие.

Биопсию эндометрия у пациенток обеих групп производили с помощью аспирационной кюретки ProfiCombi («Симург», Беларусь) на 7–9-й день после овуляции, в зависимости от длительности менструального цикла. В качестве материала для исследования использовались образцы эндометрия. Биоптаты фиксировали в 10%-м нейтральном формалине с фосфатным буфером. Проведенный материал заливали в парафиновые блоки. На роторном микротоме Microm HM 304 E (Thermo Scientific, Германия) из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3–4 мкм, которые в дальнейшем монтировались на

Таблица 1
Критерии отбора пациенток в исследование

Критерии включения	Критерии исключения
Возраст пациенток от 18 до 45 лет	Возраст пациенток менее 18 и более 49 лет
Отсутствие/наличие бесплодия	Прием гормональных препаратов на момент исследования
Отсутствие врожденных пороков репродуктивной системы	Врожденные пороки репродуктивной системы
Отсутствие воспалительных заболеваний органов малого таза	Острые воспалительные заболевания органов малого таза
Отсутствие злокачественных новообразований в анамнезе	Злокачественные новообразования в анамнезе

предметные силанизированные стекла Thermo SuperFrost (Thermo Scientific, Германия). Иммуногистохимическое окрашивание проводили согласно стандартным протоколам с использованием первичных антител к рецептору эстрогена (Estrogen receptor), рецептору прогестерона (Progesterone receptor). Срезы заключали под предметные стекла с использованием монтирующей среды Biomount (BioOptica, Италия). Исследование экспрессии изучаемых иммуногистохимических маркеров проводилось в 3 неперекрывающихся полях зрения, при увеличении $\times 400$ с использованием микроскопа Nikon Eclipse 50i, цифровой фотокамеры DS-F1 и пакета программ NiS-Elements (Nikon, Япония). Нормальность распределения числовых параметров определялась с использованием критерия Колмогорова – Смирнова. Результаты были количеством DAB-позитивных клеток в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 400$. Результаты были представлены в виде Me (25%; 75%). Сравнительный анализ между группами исследования проводился с использованием методов непараметрической статистики. Для определения статистической значимости различий анализируемых групп применяли тест Манна – Уитни. При анализе качественных признаков в группах сравнения использовался двусторонний критерий Фишера. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Обработку данных проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism v 7.0 и Statistica 8.0 [7].

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди пациенток основной группы у 21 (52,50%) диагностировано вторичное бесплодие, у 19 (47,50%) – первичное. Среди пациенток с вторичным бесплодием у 15 (71,43%) пациенток в анамнезе были роды, у 6 (38,57%) беременности завершились самопроизвольным выкидышем, у 3 (14,29%) была замершая беременность, у 1 (4,76%) – внематочная беременность, у 1 (4,76%) – медицинский аборт. Среди пациенток группы сравнения у 4 (26,67%) в анамнезе были роды, у 11 (73,33%) пациенток беременностей не было.

Все пациентки основной группы предъявляли жалобы на отсутствие беременности. Жалобы на нерегулярные менструации и выделения из половых путей встречались с одинаковой частотой – 6 (15,00%) среди пациенток основной группы. Тазовую боль отметили 2 (5,00%) пациентки с бесплодием, зуд в области промежности – 1 (2,50%). Среди пациенток группы сравнения жалобы на тазовую боль были у 3 (20,00%), на болезненные менструации – у 1 (6,67%). Среди пациенток основной группы у 3 (7,50%) была в анамнезе неэффективная попытка ЭКО, 6 (15,00%) пациенток проходили обследование перед применением вспомогательных репродуктивных технологий.

Анализ гинекологической патологии показал высокую частоту гинекологической патологии у пациенток обеих групп. Хронический сальпингоофорит перенесли 10 (25,00%) пациенток основной группы и 4 (26,67%) – группы сравнения. Фоновые заболевания шейки матки были у 10 (25,00%) бесплодных пациенток и у 5 (33,33%) пациенток группы сравнения. Предраковые заболевания шейки матки встречались только у пациенток основной группы – 2 (5,00%). Таким образом, у пациенток обеих групп не выявлено статистически значимых различий при анализе гинекологической патологии.

Анализируя перенесенные оперативные вмешательства, мы выявили высокую частоту внутриматочных манипуляций у пациенток основной группы: у 4 (10,00%) было выскабливание полости матки, у 3 (7,50%) – перенос эмбрионов, у 2 (5,00%) – гистероскопия с последующим выскабливанием слизистой полости матки. Таким образом, внутриматочные манипуляции были у 9 (22,50%) пациенток основной группы, у пациенток группы сравнения указанные хирургические операции не проводились ($\chi^2=4,04$; $p=0,05$).

При иммуногистохимическом исследовании эндометрия экспрессия эстрогеновых рецепторов в железах у пациенток с бесплодием составила 95,50 (92,65; 98,15), в группе сравнения 70,55 (67,95; 74,63) ($z=4,82$, $p<0,001$), в строме желез 90,00 (90,20; 99,90) и 76,70 (70,10; 88,75) соответственно ($z=3,76$, $p<0,001$). Экспрессия рецепторов эстрогена в поверхностном эпителии желез у пациенток с бесплодием составила 99,00 (90,80; 100,00), в группе сравнения – 88,70 (83,80; 95,35) ($z=1,65$, $p<0,001$).

Экспрессия рецепторов прогестерона в эндометрии у пациенток обеих групп статистически значимо не различалась. Так, экспрессия рецепторов прогестерона в железах составила 96,20 (93,30; 99,50) у пациенток основной группы и 95,90 (93,30; 96,82) у пациенток группы сравнения ($z=1,27$, $p=0,19$). У бесплодных пациенток экспрессия рецептора эстрогена в строме составила 100,00 (99,80; 100,00), у фертильных пациенток – 100,00 (100,00; 100,00) ($z=-1,37$, $p=0,17$). Исследуемые группы по уровню экспрессии эстрогена в поверхностном эпителии желез также достоверно не отличались, экспрессия у пациенток основной группы составила 100,00 (99,63; 100,00), у пациенток группы сравнения 100,00 (100,00; 100,00) ($p=0,05$).

Результаты оценки экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона представлены в табл. 2.

Таким образом, у пациенток с бесплодием отмечена интенсивная экспрессия рецепторов эстрогена в эндометрии, что свидетельствует о локальной гиперэстрогении. Схожие изменения выявлены нами также у пациенток с хроническим эндометритом, ассоциированным с нарушением имплантации и вынашивания беременности [8]. Полученные данные обуславливают необходимость оценки экспрессии рецепторов

Таблица 2

Оценка экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в эндометрии у пациенток обеих групп

Показатель	Основная группа Me (25–75)	Группа сравнения Me (25–75)	P
Экспрессия рецептора эстрогена в железах	95,50 (92,65; 98,15)	70,55 (67,95; 74,63)	<0,001
Экспрессия рецептора эстрогена в строме желез	90,00 (90,20; 99,90)	76,70 (70,10; 88,75)	<0,001
Экспрессия рецептора эстрогена в поверхностном эпителии желез	99,00 (90,80; 100,00)	88,70 (83,80; 95,35)	<0,001
Экспрессия рецептора прогестерона в железах	96,20 (93,30; 99,50)	95,90 (93,30; 96,82)	0,19
Экспрессия рецептора прогестерона в строме желез	100,00 (99,80; 100,00)	100,00 (100,00; 100,00)	0,17
Экспрессия рецептора прогестерона в поверхностном эпителии желез	100,00 (99,63; 100,00)	100,00 (100,00; 100,00)	0,06

эстрогена у пациенток с бесплодием перед планированием беременности для предотвращения неблагоприятного исхода.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у пациенток с бесплодием нарушения репродуктивной функции развиваются на фоне локальной гиперэстрогении, что ухудшает прогноз наступления беременности. Оценка экспрессии рецепторов эстрогена у данного контингента пациенток должна быть необходимым этапом обследования перед планированием беременности, особенно с использованием ВРТ.

■ ВЫВОДЫ

1. У пациенток с бесплодием отмечена статистически значимая высокая экспрессия рецепторов эстрогена в железах, строме и поверхностном эпителии желез, по сравнению с фертильными пациентками ($p < 0,001$).
2. При сравнении экспрессии рецепторов прогестерона у пациенток обеих групп не выявлено статистически значимых различий.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Boss I., Fischer C., Latratch C., Skrzypczak M., Malik E., Ortman O., Treec O. (2011) Endometrial expression of estrogen receptor b and its splice variants in patients with and without endometriosis. *Arch Gynecol Obstet*, no 284, pp. 885–891.
2. Burlev N., Ilyasova I. (2015) Ekspressiya yadernykh izoform retseptorov estrogena i progesterona v endometrii u boynykh s besplodiem trubnogo proishozhdeniya: nastuplenie beremennosti posle provedeniya EKO/IKSI [Expression of nuclear estrogen and progesterone receptor isoforms in endometrium in patients with tubal infertility: pregnancy after IVF/ICSI]. *Problems of reproduction*, no 3, pp. 16–23.
3. Broi1 M., Rocha C., Meola J., Martins W., Carvalho F., Ferriani R., Navarro P. (2017) Expression of PGR, HBEGF, ITGAV, ITGB3 and SPP1 genes in eutopic endometrium of infertile women with endometriosis during the implantation window: a pilot study. *JBRA Assisted Reproduction*, no 21 (3), pp. 196–202.
4. Dasgupta M. (2017) The Estrogen and Progesterone Receptors in Endometrial Carcinoma - An Update. *Endocrinol Metab Int J*, no 5 (2), pp. 1–5.
5. Szczepańska M., Wirstlein P., Skrzypczak J., Jagodziński J. (2012) Expression of HOXA11 in the mid-luteal endometrium from women with endometriosis – associated infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, no 10, pp. 1–8.
6. Matsuzaki S., Canis M., Darcha C., Pouly J., Mage G. (2009) HOXA-10 expression in the mid-secretory endometrium of infertile patients with either endometriosis, uterine fibromas or unexplained infertility. *Human Reproduction*, no 24, pp. 3180–3187.
7. Rebrova O. (2012) *Statisticheskij analiz medicinskih dannyh. Primenenie paketa prikladnykh program STATISTICA* [Statistical analysis of medical data. The use of the software package STATISTICA]. Moscow: Media Sfera, p. 512.
8. Lyzikova Yu., Zinovkin D. (2018) Lokal'nyj i sisetmnyj gormonal'nyj disbalans u pacientok s besplodiem [Local and systemic hormonal imbalance in female patients with chronic endometritis]. *Problemy zdorov'ya i ehkologii*, no 2, pp. 24–28.