

Э. В. Вартамян¹, М. В. Самойлов^{2,3}, К. Г. Серебrenникова², К. А. Цатурова¹

¹ Клиника вспомогательных репродуктивных технологий «Дети из пробирки»
ул. Ленская, 15, корп. 1, Москва, 129327, Россия

² Центральная клиническая больница РАН
Литовский бульвар, 1а, Москва, 119333, Россия

³ Российский государственный медицинский университет
ул. Островитянова, 1, Москва, 117977, Россия

E-mail: info@baby-ivf.ru

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ЭНДОМЕТРИЯ К СТЕРОИДНЫМ ГОРМОНАМ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ

В работе изучены особенности экспрессии рецепторов эндометрия к эстрогенам и прогестерону у женщин с неудачными попытками ВРТ в анамнезе. В исследование были включены 130 пациенток с сочетанными факторами бесплодия, у которых было установлено преобладание одного основного. Из 130 пациенток методом целенаправленной выборки были сформированы четыре сопоставимые по исходным клиническим данным группы. Проводились иммуногистохимическое исследование эндометрия и оценка степени выраженности экспрессии рецепторов эндометрия к эстрогенам и прогестерону. Показано, что при повышенных показателях ЭР к стероидным гормонам в эндометрии увеличивается вероятность наступления беременности в программах ВРТ. А при отсутствии и / или понижении ЭР к стероидным гормонам в эндометрии уменьшаются положительные результаты программ ВРТ.

Ключевые слова: экспрессия рецепторов, эндометрий, стероидные гормоны.

Во всем мире отмечается возрастающий интерес к развитию вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), что связано с все большей актуальностью проблемы бесплодия [1].

Оценка распространенности данного состояния в настоящее время неточна. Считается, что от 8 до 15 % супружеских пар в течение репродуктивного периода имеют данную проблему. При расчете на общую популяцию это значит, что в мире насчитывается более 100 млн супружеских пар, для которых проблема бесплодия является причиной личных страданий и влечет за собой распад семьи [2].

В России в настоящее время также сложилась модель суженного воспроизводства населения, характеризующаяся резким падением суммарного коэффициента рождаемости с 2,0 до 1,3; снижением доли повторных рождений с 51 до 41 % [3]. Известно, что при частоте бесплодных браков, равной 15 % и выше (критический уровень), про-

блема бесплодия приобретает государственное значение. По данным многих исследователей, частота бесплодного брака в России составляет 15–17 % и имеет тенденцию к росту [4]. Учитывая высокий процент бездетности, лечение бесплодия следует рассматривать как резерв рождения желанных детей, перспективного увеличения репродуктивного потенциала населения.

Эффективность лечения бесплодия при помощи современных ВРТ достигла в лучших центрах мира 30–40 % в расчете на одну попытку, что превосходит «эффективность» естественного зачатия, особенно после попыток восстановления естественной фертильности человека [5].

Одним из важных факторов, ограничивающих успех ВРТ, при наличии жизнеспособных эмбрионов, являются нарушения имплантации [6].

Цель работы – установить иммуногистохимические (ИГХ) особенности экспрессии рецепторов (ЭР) к стероидным гормонам

слизистой оболочки эндометрия у пациенток с неудавшимися попытками ВРТ.

Материал и методы

В исследование были включены 130 пациенток, с сочетанными факторами бесплодия, у которых было установлено преобладание одного основного. Из 130 пациенток методом целенаправленной выборки были сформированы четыре сопоставимые по исходным клиническим данным группы.

В I группу вошли 47 пациенток, с трубно-перитонеальным фактором бесплодия.

II группу составили 28 пациенток с эндокринными факторами бесплодия.

III группа – 33 пациентки с эндометриозом.

IV группу (сравнения) составили 22 женщины, страдающие бесплодием в браке, обусловленным мужским фактором.

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) эндометрия: ИГХ-реакции проводили в ступенчатых парафиновых срезах пероксидазно-антипероксидазным методом с демаркировкой антигенов в СВЧ-печи. Для визуализации реакций применяли универсальный пероксидазный набор LSAB+kit («Dako», США). Негативные контрольные реакции проводили с мышьиной и кроличьей сывороткой (нормальный мышьиный и кроличий иммуноглобулин). Ядра докрашивали гематоксилином Майера. Использовали мышьиные моноклональные антитела к ЭР (клон 1D5, «Dako», PPG5/10 «Diagnostic BioSystems», США) и прогестероновым (P) (клон 1 A6 «Dako», США) рецепторам.

Анализ ИГХ-реакций проводили под увеличением объектива $\times 400$, в участках соскобов и биоптатов с преобладающими диагностическими проявлениями. Интенсивность ИГХ-реакции к ЭРП в ядрах клеток эпителия желез и стромы оценивали методом гистологического счета H-score по формуле

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

где a – процентное содержание слабо окрашенных, b – умеренно окрашенных, c – сильно окрашенных ядер клеток.

Степень выраженности ЭР эндометрия к эстрогенам (ЭРЭ) и ЭР эндометрия к прогестерону (ЭРП) оценивали следующим образом: 0–10 баллов – отсутствие экспрессии, 11–100 – понижение экспрессии, 101–200 –

средняя экспрессия, 201–300 – сильная экспрессия. ЭР оценивалась методом гистологического счета H-score.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 6» по стандартным методикам описательной статистики.

Результаты исследования и обсуждение

Для уточнения причин неудавшихся попыток ВРТ, как нами отмечалось выше, всем пациенткам исследованных групп в день предполагаемого «окна имплантации» проводилось ИГХ и морфологическое исследование эндометрия.

Недостаточная секреторная трансформация эндометрия (НСТЭ), по данным морфологического исследования, была диагностирована у 10 (21,3 %) пациенток в первой, у 12 (42,9 %) во второй ($p < 0,01$) и у 7 (21,3 %) в третьей группе соответственно.

Полипсы эндометрия (ПЭ) были выявлены в первой группе у 7 (14,9 %) пациенток, во второй – у 3 (10,7 %), в третьей – у 9 (27,3 %) ($p < 0,01$) соответственно.

Гиперплазия эндометрия (ГЭ) была диагностирована у 6 (12,8 %) пациенток в первой, у 7 (25,0 %) во второй и у 10 (30,3 %) в третьей группе ($p < 0,01$) соответственно.

Хронический эндометрит (ХЭ) был выявлен у 10 (21,3 %) пациенток в первой ($p < 0,05$), у 5 (17,9 %) во второй и у 5 (15,2 %) в третьей группе.

Достоверные различия по результатам ИГХ эндометрия в уменьшении показателей ЭР к стероидным гормонам были выявлены во второй группе пациенток ($p < 0,05$) и составили: ЭРП в строме эндометрия $190,8 \pm 16,4$, в эпителии эндометрия $109,9 \pm 20,0$ ($p < 0,05$); ЭРЭ в строме эндометрия $119,0 \pm 21,3$ ($p < 0,05$), в эпителии эндометрия $160,5 \pm 29,2$ баллов (см. табл. ниже). В остальных группах обследованных пациенток эти показатели в среднем статистически не различались ($p > 0,05$).

Отсутствие и / или понижение ЭРП и ЭРЭ желез и стромы эндометрия было диагностировано у 61 (56,5 %) пациентки групп наблюдения: у 28 (25,9 %) в первой ($p < 0,01$); у 12 (11,1 %) во второй, у 21 (19,5 %) в третьей группе.

Отсутствие и / или понижение ЭРП и ЭРЭ в эндометрии у пациенток первой группы

Результаты иммуногистохимического исследования
биоптатов эндометрия ($M \pm m$)

Группа ($n = 130$)	Экспрессия рецепторов (в баллах)			
	к прогестерону в эндометрии		к эстрогенам в эндометрии	
	эпителий	строма	эпителий	строма
I группа ($n = 47$)	187,9 ± 12,7	146,9 ± 11,5	131,6 ± 12,6	159,7 ± 14,6
II группа ($n = 28$)	190,8 ± 16,4	109,9 ± 20,0 *	119,0 ± 21,3 *	160,5 ± 29,2
III группа ($n = 33$)	190,5 ± 7,2	167,1 ± 22,4	123,8 ± 18,7	146,6 ± 18,7
IV группа ($n = 22$)	190,9 ± 22,7	176,9 ± 11,5	151,6 ± 12,6	170,5 ± 29,2

Примечание: * – достоверность различий ($p < 0,05$).

было в 29,6 % ($p < 0,05$) и в 30,0 % ($p < 0,05$) наблюдений. Так, у пациенток второй группы отсутствие и / или понижение ЭРП и ЭРЭ наблюдалось в 29,0 ($p < 0,05$) и 13,9 %, в третьей группе – в 39,4 ($p < 0,01$) и 24,2 % ($p < 0,05$) наблюдениях. В связи с этим для улучшения состояния и показателей рецепторного статуса эндометрия всем пациенткам групп наблюдения с пониженными показателями ИГХ проводилось комплексное лечение, в зависимости от показателей ЭР.

Исходный гормональный статус обследованных пациенток с эндокринным фактором бесплодия имел статистически достоверное различие средних концентраций андрогенов (в первой фазе цикла) и прогестерона (Пр) (во второй фазе цикла). Нарушение рецепторного статуса эндометрия было установлено у 56,5 % пациенток. При анализе соотношения между уровнем Пр в плазме крови и ЭРП в эндометрии в день предполагаемого «окна имплантации» у исследованных пациенток была выявлена зависимость.

Следует полагать, что отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, характеризующийся неоднократными внутриполостными и внутриматочными вмешательствами, а также сопутствующие заболевания, сопряженные с репродуктивной системой, могли стать причиной нарушения рецепторного статуса эндометрия, которое отрицательно отражалось на процессах реализации

репродуктивной функции пациенток в рамках программы ЭКО при «хорошем» качестве переносимых в полость матки эмбрионов.

Одной из основных причин неэффективности программы ВРТ является нарушение состояния рецепторного статуса эндометрия

[7], а также наличие внутриматочных патологий, которые были выявлены у пациенток групп наблюдения во время проведения лечебно-диагностической гистероскопии и по результатам морфологического исследования биоптатов, взятых из слизистой эндометрия. Поэтому важен поиск новых медикаментозных и немедикаментозных средств [8], улучшающих исход повторных попыток ВРТ и уменьшающих репродуктивные потери у пациенток, имеющих в анамнезе неудавшиеся попытки.

Полисистемный характер нарушений у пациенток с трубно-перитонеальным, эндокринными и эндометриоз-ассоциированным факторами бесплодия, с отягощенным акушерским и гинекологическим анамнезом, с неоднократными хирургическими вмешательствами, поставил перед нами задачу поисков новых методов алгоритмированной диагностики и лечения пациенток с различными факторами бесплодия, с подготовкой эндометрия к очередной программе ВРТ.

Таким образом, ИГХ определение ЭР к стероидным гормонам в эндометрии у паци-

енток с бесплодием и неудавшимися попытками в анамнезе имело прогностическое и клиническое значение.

Нарушение рецепторного статуса эндометрия (ЭР к стероидным гормонам) по результатам ИГХ-исследования наблюдалось у половины пациенток исследованных

групп и составляло 56,5 % наблюдений: у 28 пациенток первой группы – 25,9 % наблюдений, у 12 (11,1 %) – второй, у 21 (19,5 %) – третьей группы. В группе сравнения нарушения ЭР стероидных гормонов в эндометрии не отмечались, и результаты ИГХ-исследования указывали на среднюю и высокую ЭР.

Применение ИГХ-исследования эндометрия уменьшает материальные затраты на проведение дорогостоящего метода преодоления бесплодия – ВРТ [9] в не подготовленном цикле и является маркером снижения отрицательных результатов ВРТ [8].

Дифференцированная оценка ЭР эпителия и стромы эндометрия в подгруппах пациенток с разными факторами бесплодия также продемонстрировала ряд выраженных отличий при разных результатах ВРТ. Было установлено, что у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия, у которых результат ВРТ был положительным, достоверно ($p < 0,05$) выше уровни чувствительности стромы эндометрия к П и Э (соответственно $199,4 \pm 12,5$ и $142,0 \pm 12,3$ балла), тогда как у пациенток подгруппы Б значения этих показателей были соответственно $177,2 \pm 10,3$ и $115,4 \pm 14,0$ балла.

Заключение

1. У пациенток с бесплодием и ранее безуспешными исходами программ вспомогательных репродуктивных технологий целесообразно изучать экспрессию рецепторов эндометрия к эстрогенам и прогестерону во время предполагаемого «окна имплантации».

2. При повышенных показателях экспрессии рецепторов эндометрия к стероидным гормонам, по результатам иммуногистохимического исследования, увеличивается вероятность наступления беременности в про-

граммах вспомогательных репродуктивных технологий. При отсутствии и / или снижении экспрессии рецепторов эндометрия к стероидным гормонам уменьшается вероятность положительного результата программ вспомогательных репродуктивных технологий.

3. Проведение гормональной терапии целесообразно с учетом результатов иммуногистохимического исследования, при этом следует акцентировать внимание на понижении и / или отсутствии экспрессии рецепторов эндометрия к стероидным гормонам в день предполагаемого «окна имплантации».

Список литературы

1. Кулаков В. И. Роль охраны репродуктивного здоровья населения России // Врач. 2006. № 9. С. 3–4.
2. Boivin J., Bunting L., Collins J. A., Nygren K. G. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care // Hum Reprod. 2007. Vol. 22. P. 1506–1512.
3. Кузьмичев Л. Н., Назаренко Т. А., Микаелян В. Г., Мишинева Н. Г., Белоусова Н. Ю. Фертильность у женщин старшего репродуктивного возраста (медико-социальный анализ) // Тезисы VI Форума «Мать и дитя». М., 2004. С. 56.
4. Радзинский В. Е. Репродуктивное здоровье женщин после хирургического лечения гинекологических заболеваний // Акушерство и гинекология. 2006. № 4. С. 51–54.
5. Радзинский В. Е. Бесплодие и экстракорпоральное оплодотворение в свете контраверсии // Акушерство и гинекология. 2006. № 1. С. 60–62.
6. Корсак В. С., Забелкина О. В., Исакова Э. В. Исследование эндометрия у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием на этапе подготовки к ЭКО // Проблемы репродукции. 2005. № 2. С. 39–42.
7. Бессмертная В. С., Самойлов М. В., Бабиченко И. И., Серебренникова К. Г., Мусаева М. Г. Рецепторы к эстрогенам и прогестерону в эндометрии женщин при бесплодии // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. 2007. № 2. С. 48–51.

8. Серебренникова К. Г., Бессмертная В. С., Самойлов М. В., Шульчина И. В., Хмелевская В. Ф. Комплексная оценка состояния эндометрия при подготовке к лечению методами вспомогательных репродуктивных технологий // Материалы IV съезда акушеров-гинекологов России. М., 2008. С. 278.

9. Бессмертная В. С. Морфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия у женщин с первичным и вторичным бесплодием // Архив патологии. 2008. Т. 70, № 4. С. 31–34.

Материал поступил в редколлегию 23.06.2010

E. V. Vartanyan, M. V. Samojlov, K. G. Serebrennikova, K. A. Tsaturova

**FEATURES OF AN EXPRESSION OF RECEPTORS (ER) TO STEROID HORMONES
OF A MUCOUS MEMBRANE OF ENDOMETRIUM AT PATIENTS
WITH UNFORTUNATE ATTEMPTS ART**

In work features of an expression of receptors эндометрия to an estrogen and a progesterone at women with unsuccessful attempts ART in the anamnesis are studied. 130 patients have been included in research, with combined barrenness factors at which prevalence of one core has been established. From 130 patients the method of purposeful sample, had been generated four, comparable under the initial clinical data, groups. It was spent immunohistochemical research of endometrium and an estimation of degree of expressiveness of an expression of receptors of endometrium to an estrogen and a progesterone. It is shown that at the raised indicators ER to steroid hormones in endometrium increases probability of approach of pregnancy in programs ART. And at absence and-or decrease ER to steroid hormones in endometrium positive results of programs ART decrease.

Keywords: expression of receptors, endometrium, steroid hormones.