

## АНАЛИЗ МОРФОСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ НА ФОНЕ РАЗЛИЧНЫХ СХЕМ ПРЕДГРАВИДАРНОЙ ПОДГОТОВКИ У ПАЦИЕНТОК С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Илизарова Н.А.<sup>2</sup>, Кулешов В.М.<sup>1,2</sup>, Маринкин И.О.<sup>1</sup>, Бгатова Н.П.<sup>3</sup>

УДК: 001.8: 618.145/3

<sup>1</sup> ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет

<sup>2</sup> МУЗ Муниципальный центр планирования семьи и репродукции

<sup>3</sup> ГУ НИИ Клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, Новосибирск

### Резюме

Прогестерондефицитное состояние – основная причина привычного невынашивания беременности. При назначении гормональной терапии в период предгравидарной подготовки (фемостон 1/10 и дюфастон 10) отмечены морфологические признаки восстановления эндометрия. На апикальной поверхности покровных эпителиоцитов отсутствовали реснички и микроворсинки; в структуре ядер отмечались внутриядерные канальцы и признаки активации ядрышек; в цитоплазме присутствовали гигантские митохондрии и скопления гликогена; имели место признаки апокриновой секреции, что соответствовало лютеиновой фазе менструального цикла.

**Ключевые слова:** невынашивание, прогестерон, эпителиоциты.

### ANALYSIS OF MORPHOSTRUCTURAL CHANGES OF ENDOMETRIUM AFTER VARIOUS REGIMENS OF PREPARATION OF PREGNANCY IN PATIENTS WITH HABITUAL MISCARRIAGE OF PREGNANCY

Ilizarova N.A., Kuleshov V.M., Marinkin I.O., Bgatova N.P.

Progesterone deficiency is a principal cause of habitual miscarriage of pregnancy. At prescription of hormonal therapy during the pregnancy preparation period (fomostone 1/10 and dufastone 10) the morphological signs of endometrium reduction are noted. The cilia and microvillus were absent on the apical surfaces of integumentary epitheliocytes; the intranuclear tubules and signs of nucleolus activation were marked in the structure of kernels; at cytoplasm the huge mitochondria and glycogen accumulation were present; the signs of apocrine secretion had a place accordingly a lutein phase of the menstrual cycle.

**Keywords:** miscarriage, progesterone, epitheliocytes.

Проблему привычной потери плода нельзя решить в процессе беременности. Частота самопроизвольных выкидышей составляет от 15 до 20%. Полагают, что в статистику не входит большое количество очень ранних и субклинически протекающих выкидышей [2]. Объективно назвать причину прерывания беременности мы можем лишь при наличии несовместимых с жизнью генетических нарушений эмбриона, что бывает достаточно редко. Во всех остальных случаях – причина привычного невынашивания беременности (ПНБ) только предполагается или вовсе остается неизвестной. Среди известных причин ПНБ ведущее место занимают эндокринные и иммунологические факторы, доля которых в сумме составляет около 67% [2, 4, 5].

Оптимизация организма для наступления и поддержания беременности осуществляется одним гормоном – прогестероном. Все изменения во всех системах организма, направленные на развитие и нормальное протекание беременности, зависят от прогестерона. Подготовка репродуктивной системы для инициации и поддержания беременности прогестероном заключается в дифференцировке стромального компонента эндометрия, стимуляции секреции желез и накоплении в них базальных вакуолей, изменении гамма секреции белков эндометрием и обеспечении «покоя» миометрия [4, 5].

Различные состояния могут быть причиной формирования прогестерондефицитного состояния. К ним от-

носятся: неадекватное созревание фолликула, неадекватная секреция фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), нарушения в секреции лютеинизирующего гормона (ЛГ), нарушения рецепции прогестерона, дефект ферментных систем желтого тела [1, 2, 4, 5]. Все вышеперечисленные этиологические факторы морфологи объединяют под термином – недостаточность лютеиновой фазы (НЛФ), который используют при морфологической оценке состояния эндометрия в постовуляторный период [4, 7].

На сегодняшний день важным является поиск оптимальной схемы предгравидарной подготовки пациенток с НЛФ и ПНБ в анамнезе, для создания нормальных условий инициации и протекания беременности через естественные механизмы, без полипрогмазии нивелировать эндокринологические нарушения.

Цель исследования – изучение морфоструктурных изменений в эндометрии и изучение эффективности коррекции НЛФ на фоне различных схем предгравидарной подготовки пациенток с ПНБ.

### Материалы и методы

В Муниципальном центре планирования семьи и репродукции г. Новосибирска были обследованы и получили лечение 80 женщин с ПНБ в анамнезе. Обследование и лечение осуществлялось с информированного согласия пациенток. По объему и характеру проведенного лечения пациентки были разделены на 3 группы:

I группа – 20 пациенток, которым была назначена метаболическая терапия [4].

II группа – 30 пациенток, получавших дидрогестерон (дюфастон, Solvey Pharma) в дозировке 20 мг с 16 по 25 день менструального цикла в сочетании с метаболической терапией.

III группа – 30 пациенток, которым в предгравидарную подготовку включали циклическую гормональную терапию: фемостон 1/10 (10 мг 17-β- эстрадиола и 10 мг дидрогестерона (дюфастон, Solvey Pharma) в течение 28 дней с 1 дня менструального цикла + дюфастон (10 мг дидрогестерона) в течении 10 дней с 16 по 25 день менструального цикла (д.м.ц.) в сочетании с метаболической терапией.

В качестве контроля были обследованы 15 пациенток с сохраненной репродуктивной функцией, готовящиеся к ЭКО и ИКСИ вследствие мужского фактора бесплодия.

В ходе исследования до и после лечения всем пациенткам определяли уровень ФСГ, ЛГ, эстрадиола (5–7 д.м.ц.) и прогестерона (22–24 д. м. ц.) в крови, проводили тесты функциональной диагностики на 22-24 д.м.ц., морфофункциональное состояние эндометрия оценивали по данным биопсии, производимой на 22–24 д.м.ц.

Морфофункциональное состояние эндометрия оценивали на 22–24 день менструального цикла по биоптатам. Биоптаты эндометрия фиксировали в 1% растворе OsO<sub>4</sub> на фосфатном буфере, дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. Из полученных блоков готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм, окрашивали толудиновым голубым, изучали с помощью светового микроскопа и выбирали необходимые участки для исследования в электронном микроскопе. Из отобранного материала получали ультратонкие срезы толщиной 35–45 нм на ультратоме LKB-Nova, контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата, цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1010.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel. Вычисляли среднее арифметическое значение (M) и ошибку среднего арифметического значения (m). Достоверность изменений средних арифметических значений сравниваемых групп определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Достоверными считали результаты при p<0,05.

### Результаты исследования и их обсуждение

Значение средних показателей ФСГ и ЛГ в сыворотке крови у пациенток с ПНБ до терапии составляли  $2,5 \pm 0,2$  mIU/ml и  $10,6 \pm 0,3$  mIU/ml, соответственно. На фоне применения метаболической терапии эти показатели практически не изменились: ФСГ возрос до  $3,5 \pm 0,2$  mIU/ml, ЛГ снизился до  $10,3 \pm 0,4$  mIU/ml. Во второй группе, где применялся дюфастон во II фазу менструального цикла, ФСГ увеличился до  $4,67 \pm 0,3$  mIU/ml, ЛГ снизился до  $7,92 \pm 0,2$  mIU/ml. Сывороточные по-

казатели ФСГ и ЛГ в третьей группе, на фоне бифазной терапии приблизились к контролю (рис. 1).

Концентрация прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови до лечения была либо в пределах нормы, либо незначительно снижена. На фоне метаболической терапии наблюдался небольшой рост половых гормонов, особенно эстрадиола. На фоне применения только дюфастона зафиксированы следующие значения половых стероидов: эстрадиол –  $98,9 \pm 2,1$  pmol/l, прогестерон –  $59,1 \pm 0,8$  pmol/l. После бифазной гормональной терапии – уровень эстрадиола и прогестерона приблизился к нормативным значениям: эстрадиол –  $369 \pm 7,9$  pmol/l, прогестерон –  $60,7 \pm 0,1$  pmol/l (рис. 2, 3).

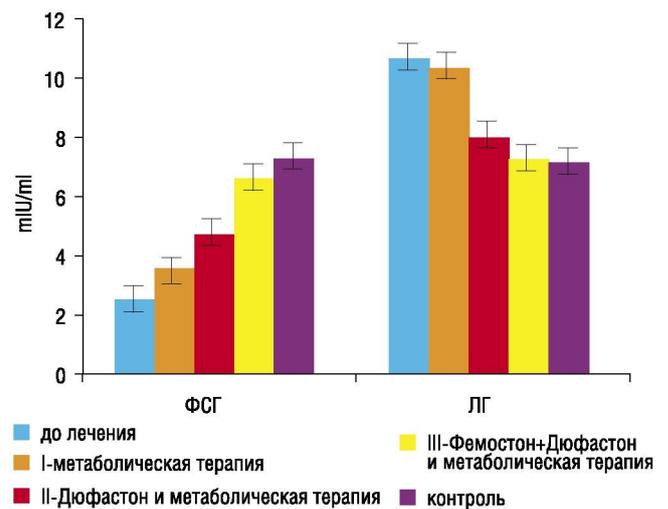


Рис 1. Изменение уровня ФСГ и ЛГ на фоне различных схем прегравидарной подготовки (доверительный интервал  $\pm 0,5$ )

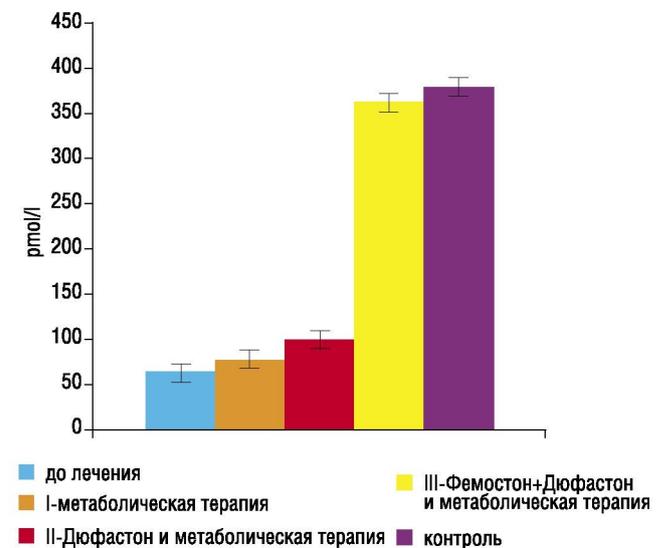


Рис 2. Изменение уровня эстрадиола на фоне различных схем прегравидарной подготовки (доверительный интервал  $\pm 0,5$ )

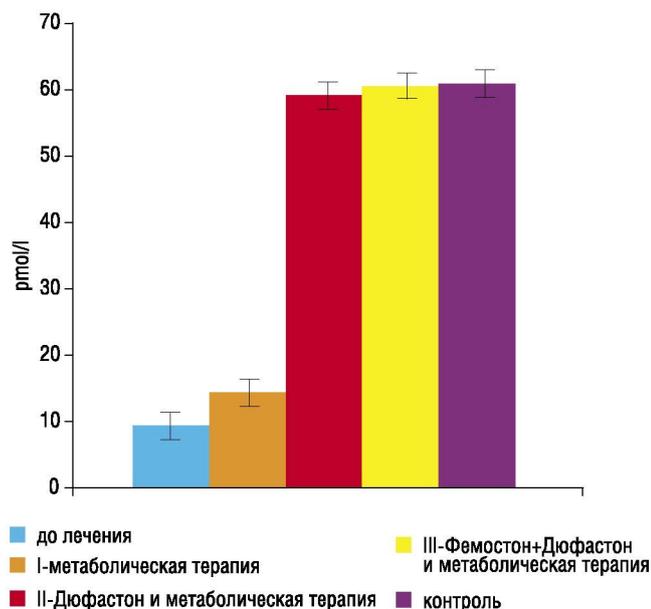


Рис 3. Изменение уровня прогестерона на фоне различных схем прегравидарной подготовки (доверительный интервал  $\pm 0,5$ )

Известно, что нормальное развитие эндометрия и его изменения в течение лютеиновой фазы менструального цикла являются жизненно важными для успешной имплантации и наступления беременности. Различные патологические изменения эндометрия (в частности, его неполноценная секреторная трансформация) могут привести к дефектам имплантации и повторным абортam на ранних сроках беременности в спонтанных циклах, циклах лечения [7, 8], а также циклах программ вспомогательных репродуктивных технологий [9, 10].

В течение предимплантационной фазы менструального цикла различные компоненты эндометрия: железистый эпителий, покровный эпителий, стромальные клетки, стромальные сосуды и межклеточная матрица претерпевают морфологические, клеточные и молекулярные изменения [11]. Все изменения являются гормонозависимыми, так как эндометрий обладает высокой чувствительностью к действию гормонов благодаря наличию в цитоплазме и ядрах его клеток большого числа рецепторов эстрогенов и прогестерона [12].

Только во время секреторной фазы видны 3 характерные структурные черты желез эндометрия: гигантские митохондрии, гликогеновые отложения и система ядерных каналов [10].

В эндометрии женщин контрольной группы отмечали гипертрофию эпителиоцитов. Клетки имели цилиндрическую форму с признаками апокриновой секреции. Ядра эпителиоцитов были овальной формы и располагались в базальной части клеток. Отмечали небольшое количество межэпителиальных лимфоцитов.

Наблюдалось расширение и разветвление маточных желез. В цитоплазме эпителиоцитов интенсивно окраши-

вался гликоген. Отмечали выделение секрета в просвет желез матки.

В строме эндометрия отмечали явление отека и диффузное расположение соединительно-тканых клеток. Близко к железам и к базальной мембране эпителия желез подходили спиральные артерии, просвет которых был заполнен эритроцитами. При электронно-микроскопическом изучении образцов эндометрия было показано, что эпителиоциты поверхностного эпителия имели ровную апикальную поверхность с короткими микроворсинками и признаками апокриновой секреции (рис. 4).

В цитоплазме эпителиоцитов наблюдали небольшое количество митохондрий, цистерны комплекса Гольджи и гранулярного эндоплазматического ретикулума, свободные полисомальные рибосомы, гранулы гликогена и лизосомы (рис. 4).

При исследовании ультраструктурной организации эпителиоцитов маточных желез было выявлено накопление в цитоплазме клеток гликогена. В ядрах эпителиоцитов отмечали наличие внутриядерных канальцев. В цитоплазме эпителиоцитов наблюдали электронно-плотные митохондрии, среди которых встречались увеличенные в размере гигантские митохондрии (рис. 5).

Все перечисленные структурные признаки, отражающие состояние эндометрия, соответствовали описанной в литературе средней стадии фазы секреции менструального цикла, и являлись основой для создания благоприятных условий для имплантации и питания бластоцисты.

В нашем исследовании у женщин, которые получали традиционную метаболическую терапию, на апикальной поверхности эпителиоцитов железистого эпителия слизистой оболочки матки наблюдали реснички и микроворсинки. В ядрах эпителиоцитов слизистой оболочки матки женщин этой группы не отмечали внутриядерных канальцев, а в цитоплазме отсутствовали скопления гли-

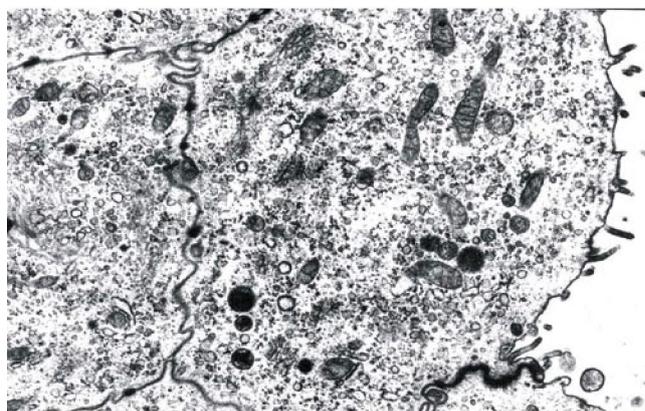


Рис 4. Ультраструктурная организация поверхностных эпителиоцитов слизистой оболочки матки пациентки контрольной группы. Ровная апикальная поверхность с короткими микроворсинками и признаками апокриновой секреции. Наличие митохондрий, цистерн комплекса Гольджи и гранулярного эндоплазматического ретикулума, свободных полисомальных рибосом, гранул гликогена и лизосом в цитоплазме. Увеличение 10000

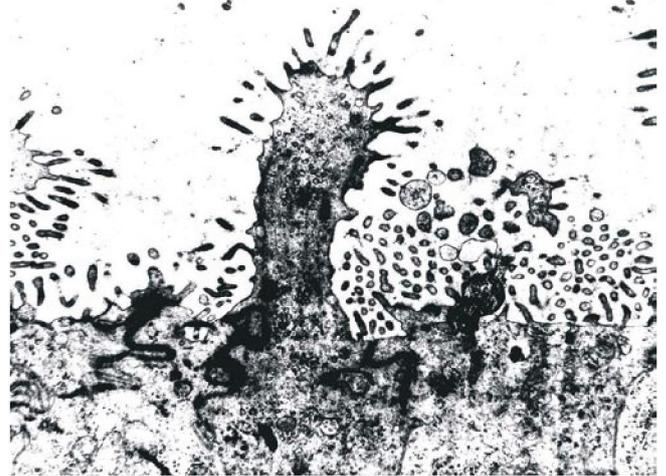


**Рис. 5.** Гигантская митохондрия в цитоплазме железистого эпителиоцита слизистой оболочки матки пациентки контрольной группы. Увеличение 12000

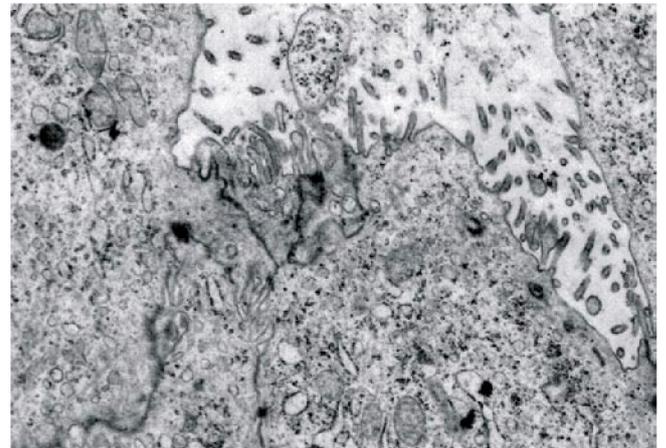
когена и гигантские митохондрии (рис. 6). Известно, что образование ресничек и микроворсинок на апикальной поверхности эпителиоцитов эндометрия происходит под влиянием эстрадиола и является препятствием для процесса nidации яйцеклетки. Наличие микроворсинок и ресничек на апикальной поверхности эпителиоцитов, отсутствие гигантских митохондрий, скоплений гликогена и внутриядерных канальцев свидетельствуют о неполноценности секреторных преобразований эндометрия в лютеиновой фазе менструального цикла у пациенток этой группы.

У пациенток, получавших на фоне метаболической терапии дюфастон, не отмечали ресничек на апикальной поверхности эпителиоцитов. Имели место признаки апокриновой секреции. Наблюдали внутриядерные канальцы, но слабовыраженными были структурные признаки активации функции ядрышек эпителиоцитов маточных желез. В цитоплазме эпителиоцитов отсутствовали гигантские митохондрии и скопления гликогена (рис. 7).

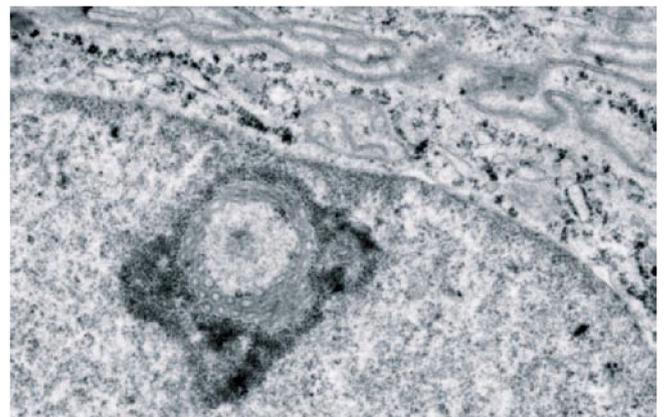
При исследовании биопсийного материала слизистой оболочки матки пациенток основной группы, которые в предгравидарной подготовке на фоне метаболической терапии получали бифазную гормональную терапию (фемостон + дюфастон), отмечали структурные признаки активации генома эпителиоцитов маточных желез. При этом хорошо выявлялись фибриллярный и гранулярный компоненты структуры ядрышка. В ядрышке появлялись пластинчатые структуры, не обнаруживаемые в данных органоидах эпителиоцитов пациенток других обследованных групп (рис. 8). В цитоплазме железистых эпителиоцитов эндометрия пациенток, получавших бифазную терапию, отмечали гигантские митохондрии, возрастало содержание гликогена и лизосом. Отмеченные структурные изменения железистых эпителиоцитов свидетельствуют об активации генома, синтетических и секреторных процессов в клетках под действием гормональной терапии. Описанная морфологическая картина соответствовала лютеиновой (секреторной) фазе менструального цикла.



**Рис. 6.** Ультраструктура эпителиоцитов слизистой оболочки матки пациентки, получавшей в связи с невынашиванием беременности метаболическую терапию. Микроворсинки и реснички на апикальной поверхности эпителиоцитов. Увеличение 6000



**Рис. 7.** Ультраструктура эпителиоцитов слизистой оболочки матки пациенток, получавших в связи с невынашиванием беременности дюфастон и метаболическую терапию. Структурные признаки апокриновой секреции. Увеличение 8000



**Рис. 8.** Пластинчатые структуры в организации ядрышка железистого эпителиоцита слизистой оболочки матки пациентки, получавшей в связи с невынашиванием беременности комплексную гормональную терапию (фемостон 1/10 + дюфастон). Увеличение 20000

У пациенток, получавших бифазную терапию, в полной мере соответствовали секреторной фазе менструального цикла и морфологические изменения стромальных клеток, межклеточного матрикса и сосудов. Во второй половине секреторной фазы цикла фибробласты эндометрия, благодаря комплексному воздействию гормонов трансформировались в псевдодецидуальные клетки. Наблюдали отек интерстиция и стаз эритроцитов в просветах кровеносных сосудов (рис. 9).

## Выводы

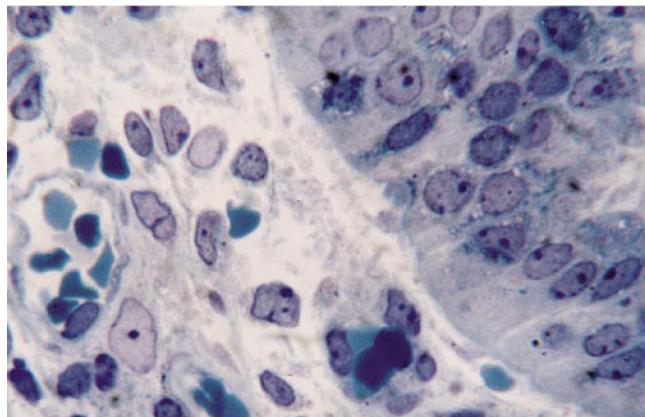
1. Использование у пациенток с ПНБ в предгравидарной подготовке комплексной гормональной терапии (фемостон 1/10 + дюфастон 10 мг) оказывает корректирующее действие на гормональный статус.

2. Предложенная схема терапии приводит к развитию структурных преобразований в эндометрии, свидетельствующих об активации генома, синтетических и секреторных процессов в эпителиоцитах маточных желез, созданию благоприятных морфофункциональных условий в строме органа для полноценной nidации плодного яйца.

3. Считаем оптимальным назначение в предгравидарной подготовке пациенткам с ПНБ, на три менструальных цикла, фемостон 1/10 + дюфастон 10 мг с 1 по 25 д. м. ц. с добавлением дюфастона 10 мг с 16 по 25 д. м. ц.

## Литература

1. Побединский Н.М. Стероидные рецепторы нормального эндометрия // Акушерство и гинекология. – 2000. – №3. – С. 5–8.
2. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности – М.: Триада-Х, 2006. – 304 с.
3. Сидельникова В.М. Актуальные проблемы невынашивания беременности. – М., -1999. – 292 с.
4. Сидельникова В.М. Неполноценная лютеиновая фаза – тактика ведения пациенток с привычной потерей беременности // Гинекология. – 2002. – №4. – С. 7–10.
5. Тихомиров А.Л., Лубнин Д.М. Привычное невынашивание беременности: причины, диагностика и современные подходы к терапии // Фарматека. – 2004. – №1. – С. 28–39.
6. Шаклеин А.В., Кулешов В.М., Бгатова Н.П. Морфологические критерии эффективности восстановления менструальной функции у женщин с невынашиванием беременности // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – №11. – С. 585–589.



**Рис. 9.** Отек интерстиция, стаз эритроцитов в просветах кровеносных сосудов, наличие псевдодецидуальных клеток. Окраска толуидиновым голубым. Увеличение 10х90

7. Хмельницкий О.К. Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний // СПб.: Сотис, 1994. – 480 с.
8. Horta J.L., Fernandez J., De Leon B., Cortes-Gallegros V. Direct evidence of luteal insufficiency in women with habitual abortion // *Obstet. Gynecol.* – 1977. – 49. – P. 705–708.
9. Klentzeris L.D., Li T.C., Dockery P., Cooke I.D. The endometrial biopsy as a predictive factor of pregnancy rate in women with unexplained infertility // *Eur J Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1992. – 45. – P. 119–124.
10. Klentzeris L.D., Barratt C. et al. A study of endometrial morphology in women who fail to conceive in a donor insemination programme // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1993. – 100. – P. 935–939.
11. Skrzypczak J., Mikolajczyk M., Szymanowski K. Endometrial receptivity // *Reprod. Biol.* – 2001. – Nov. – 1 (2). – P. 85–94.
12. Couse J.F. Korach K.S. Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us // *Endocr. Rev.* – 1999. – Vol. 20. – P. 358–417.

## Контактная информация

Илизарова Н.А.

МУЗ Муниципальный центр планирования семьи и репродукции  
630136, Новосибирская обл., Ленинский, Новосибирск, ул. Киевская, 1  
n.ilizarova@ngs.ru