

© Е.Л. Кобицкая,
Н.А. Татарова, В.М. Михайлов,
Ю.М. Розанов

Государственная медицинская академия
им. И.И. Мечникова: кафедра акушерства,
гинекологии и перинатологии № 2,
Санкт-Петербург;
Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

ОСОБЕННОСТИ СООТНОШЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ГИБЕЛИ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ ПЛОДНОГО ЯЙЦА НА ПЕРЕДНЕЙ И ЗАДНЕЙ СТЕНКАХ МАТКИ

■ Децидуальная ткань выполняет специализированные функции в течение беременности, которые обеспечивают её прогрессирование и развитие эмбриона. Эти специализированные функции обеспечиваются участием нескольких типов клеток. Децидуальные клетки развиваются в маточном эпителии и формируют новый клеточный барьер между организмом матери и плодом. Проллиферативная активность клеток эндометрия передней и задней стенок матки различным образом изменяется в ответ на имплантацию. Имплантация плодного яйца на заднюю стенку матки служит сигналом для усиления пролиферативной активности клеток эндометрия передней стенки. В отличие от этого, имплантация плодного яйца на переднюю стенку матки не сопровождается усилением пролиферативной активности клеток эндометрия задней стенки матки. Прогрессирование беременности и начало процесса плацентации сопровождается снижением пролиферативной активности клеток эндометрия задней стенки матки. Плацентация на переднюю стенку матки приводит к повышению уровня гибели клеток эндометрия передней стенки матки.

■ **Ключевые слова:** децидуальная ткань; пролиферативная активность клеток эндометрия; образование плаценты; имплантация

Имплантация зародыша и образование плаценты являются важнейшими этапами развития млекопитающих. При беременности в матке возникают существенные структурные изменения со стороны всех её компонентов (в первую очередь эндометрия), которые обуславливаются имплантацией плодного яйца, интенсивным ростом зародыша и формированием плаценты. Ведущая роль в регуляции начальной гравидарной трансформации эндометрия принадлежит жёлтому телу яичников, которое служит основным продуцентом прогестерона в 1-ом триместре беременности. Развёртывание прогестеронового эффекта в структуре эндометрия во многом зависит от особенностей тканевого распределения половых гормонов. Отсюда становится понятным, почему первые признаки лютеинового эффекта возникают в артериолах слизистой оболочки матки. Эти признаки выражаются в быстром увеличении общей площади артериально-капиллярного русла и активной артериальной гиперемии эндометрия, что способствует образованию отёка стромы эндометрия. К моменту имплантации бластоцисты в эндометрии имеется развитая система спиралевидных артериол и пилообразных железистых крипт на фоне незавершённой децидуальной трансформации клеток стромы, которые в связи с этим обозначаются предецидуальными клетками [1]. Имплантация плодного яйца является сигналом для начала процесса децидуализации эндометрия независимо от места имплантации [16]. Предецидуальные изменения касаются, прежде всего, клеток эндометрия, лежащих под эпителием и вокруг спиральных артерий [17]. Имеются исследования о зависимости структурной трансформации эндометрия от области васкуляризации различных слоёв эндометрия. В частности, децидуальная реакция в первую очередь возникает в месте имплантации эмбриона.

Успех имплантации зависит от взаимодействия плодного яйца с эпителием матки и подготовленности эндометрия. Подготовленность эндометрия включает в себя степень развития спиральных артерий и пролиферативную активность эндометрия. Эти процессы определяют формирование полноценного маточно-плацентарного комплекса в период имплантации и плацентации [2,3,5–7,11,14]. Исследования, проведенные на кафедре акушерства, гинекологии и перинатологии № 2 Государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова, показали связь прогрессирования плацентации с интенсивностью развития спиральных артерий эндометрия и местом имплантации плодного яйца на передней или задней стенках матки.

В результате проведённой работы установлено, что толщина децидуализирующегося эндометрия при имплантации плодного яйца на заднюю стенку матки достоверно выше, чем толщина децидуализирующегося эндометрия при имплантации на переднюю стенку матки. Однако при имплантации плодного яйца на заднюю

стенку матки, диаметр неизменённых спиральных артерий достоверно выше, чем диаметр неизменённых спиральных артерий при имплантации плодного яйца на переднюю стенку матки. Поэтому имплантация на заднюю стенку матки предпочтительнее с точки зрения подготовленности децидуализирующегося эндометрия к формированию полноценного маточно-плацентарного кровообращения, вследствие большего диаметра неизменённых спиральных артерий эндометрия задней стенки матки по сравнению с передней стенкой [3].

Успехи технологии культивирования клеток и тканей позволили перейти к анализу развития клеточных популяций децидуализирующегося эндометрия *in vitro*.

Однако вопросу об изменении процессов пролиферации и гибели клеток эндометрия в связи с имплантацией и плацентацией при физиологически протекающей беременности *in vivo* в современной литературе уделяется недостаточно внимания. Актуальность изучения пролиферации клеток эндометрия и клеточной гибели (апоптоза) велика вследствие того, что клетки эндометрия являются растущей популяцией. Её клетки-предшественники не обладают свойствами стволовых клеток [10,18]. Известно, что большие децидуальные клетки (БДК), которые формируют основную массу клеточной популяции децидуальной ткани, выходят из пролиферации и прекращают синтез ДНК [10]. Однако в течение беременности дифференцированные децидуальные клетки, подлежащие к трофобласту, гибнут, что позволяет рассматривать популяцию децидуальных клеток, как популяцию обновляющегося типа [18]. Поэтому важно изучить соотношение процессов пролиферации и гибели на каждом этапе функционирования клеток децидуальной ткани.

В этой связи исследования, которые помогут прояснить роль этих процессов в зависимости от места локализации плодного яйца в период имплантации и плацентации, представляются весьма актуальными и современными.

Целью исследования является анализ изменений пролиферативной активности и гибели (апоптоза) клеток эндометрия в процессах имплантации и плацентации при физиологической беременности в зависимости от имплантации зародыша на передней или задней стенках матки.

Материалы и методы

Материал для исследования был получен от 40 беременных женщин в возрасте от 18 до 42

лет. Первую группу наблюдений составили 12 женщин со сроком гестации с момента зачатия до 8 недель беременности включительно. Вторую группу наблюдений составили 28 женщин со сроком беременности от 8–9 недель до 12 недель. Каждое исследование проводилось с учётом места имплантации плодного яйца по передней или по задней стенке матки. Децидуальную ткань для исследования брали из abortивного материала по локализации места имплантации плодного яйца и из противоположной стенки матки. Для изучения содержания ДНК и пролиферативной активности в клетках децидуальной оболочки приготавливали взвесь клеток путем механического измельчения с последующей последовательной обработкой материала трипсином (0,5 мг/мл; 30 минут) и коллагеназой (1 мг/мл; 60 минут). Изучение содержания ДНК проводили с помощью метода проточной цитометрии в Институте цитологии РАН под руководством в. н. с. Розанова Ю.М [9, 12]. Для каждой пробы клеточной суспензии проводили несколько измерений через разные интервалы времени после начала цитохимической обработки. При математической обработке ДНК-гистограмм определялись следующие параметры:

1) коэффициент вариации для диплоидных клеток эндометрия, формирующих G1(0) пик, который показывает вариабельность содержания ДНК в клетках эндометрия;

2) долю клеток эндометрия, находящихся в фазе синтеза ДНК (S-фаза клеточного цикла), по которому судили о пролиферативной активности клеток децидуальной ткани;

3) долю клеток эндометрия, находящихся в фазе клеточного цикла G1(0);

4) долю клеток эндометрия, находящихся в фазе G2 клеточного цикла;

5) долю фрагментированных клеток эндометрия, находящихся в стадии гибели (апоптоза) [9].

Все полученные результаты цитологических исследований были обработаны статистически с вычислением средних величин ошибки $X \pm S_x$, критерия Стьюдента и показателя достоверности различия (P). Различия считали достоверными при $p < 0,01$. Все полученные результаты обработаны на персональном компьютере с использованием прикладных статистических программ «STATGRAPHICS».

Результаты и обсуждение

Уровень пролиферативной активности клеток эндометрия до имплантации был неизвестен. Поэтому за исходный уровень для пролиферативной активности и других параметров клеточного

Таблица 1

Уровень пролиферативной активности клеток эндометрия при имплантации и плацентации, $X \pm Sx$, %

Имплантация	Доля клеток в фазе S клеточного цикла	Имплантация	Плацентация
По передней стенке матки	по передней стенке матки	$7,3 \pm 1,2$	$7,7 \pm 1,6$
	по задней стенке матки	$3,9 \pm 0,6$	$9,0 \pm 1,3$
По задней стенке матки	по передней стенке матки	$7,3 \pm 1,0$	$6,8 \pm 1,1$
	по задней стенке матки	$8,2 \pm 1,0$	$5,8 \pm 0,6$

Таблица 2

Доля клеток эндометрия в фазе апоптоза при имплантации и плацентации, $X \pm Sx$, %

Имплантация	Доля фрагментированных клеток	Имплантация	Плацентация
По передней стенке матки	по передней стенке матки	$8,3 \pm 0,8$	$16,8 \pm 2,4$
	по задней стенке матки	$9,8 \pm 1,6$	$13,4 \pm 2,3$
По задней стенке матки	по передней стенке матки	$11,4 \pm 3,3$	$14,9 \pm 1,7$
	по задней стенке матки	$13,3 \pm 3,2$	$13,4 \pm 1,6$

цикла был принят показатель пролиферативной активности клеточной популяции задней стенки матки при имплантации зародыша на переднюю стенку. В этом случае уровень пролиферативной активности клеток эндометрия на задней стенке матки составил $3,9 \pm 0,6$ %. В случае имплантации на заднюю стенку матки пролиферативная активность клеток эндометрия задней стенки возрастала до $8,2 \pm 1,0$ % ($p < 0,01$). При имплантации плодного яйца на переднюю стенку матки, пролиферативная активность клеток эндометрия передней стенки матки возрастала до $7,3 \pm 1,2$ %. Особенностью реакции матки на имплантацию является то, что при имплантации на заднюю стенку матки в пролиферативный процесс вовлекаются клетки эндометрия передней стенки матки, тогда как при имплантации на переднюю стенку матки рост пролиферативной активности был ограничен только клетками эндометрия передней стенки матки. Таким образом, при имплантации пролиферативная активность клеток эндометрия возрастает в зависимости от места имплантации (табл. 1). Место имплантации различным образом сказывается на пролиферативных процессах, протекающих на передней и задней стенках матки при последующей плацентации.

При имплантации на задней стенке матки плацентация сопровождается достоверным подавлением пролиферативной активности клеток эндометрия задней стенки до $5,8 \pm 0,6$ % по сравнению с моментом имплантации, где пролиферативная активность клеток эндометрия задней стенки матки составляет $8,2 \pm 1,0$ % (достоверное различие при $p < 0,01$). Снижение пролиферативной активности является следствием клеточной дифференцировки, имеющей место при плацентации. При имплантации на передней стенке матки последующая плацентация не сопровождается снижением пролиферации клеток передней стенки матки ($7,7 \pm 1,6$) (см. табл. 1).

Динамика развития программированной гибели клеток (апоптоза) представлена долей фрагментированных клеток. В исследовании определен базальный уровень этого показателя, за который принята доля фрагментированных клеток эндометрия на задней стенке матки при имплантации на переднюю стенку и составляет $9,8 \pm 1,6$ %. Результаты показали, что плацентация сопровождается достоверным увеличением доли фрагментированных клеток как на месте плацентации, так и на противоположной стенке матки. Но особенно активно в период плацентации при имплантации на переднюю стенку матки реагирует децидуализирующийся эндометрий этой же локализации с увеличением показателя доли фрагментированных клеток с $8,3 \pm 0,8$ % до $16,8 \pm 2,4$ % (достоверно при $p < 0,01$). Увеличение уровня гибели при плацентации на передней стенке возможно является причиной сохранения высокого уровня пролиферативной активности клеток передней стенки матки, как механизма компенсации клеточной потери при плацентации. Данные результаты представлены в табл. 2.

Исследование доли клеток эндометрия, находящихся в стадии G1 клеточного цикла, по сравнению с уровнем клеточной популяции задней стенки матки при имплантации на переднюю, который составляет $93,1 \pm 1,7$ %, позволяет сделать вывод, что усиление пролиферативной активности клеток децидуализирующегося эндометрия в связи с плацентацией, сопровождается снижением доли клеток в фазе G1 на задней стенке матки при имплантации на неё до $86,1 \pm 2,5$ % ($p < 0,01$). Эндометрий задней стенки матки при имплантации на переднюю стенку матки в период плацентации также реагирует снижением доли клеток в фазе G1 до $87 \pm 1,4$ % по сравнению с базальным клеточным уровнем $93,1 \pm 1,7$ % (достоверно при $p < 0,01$). Уменьшение доли клеток объясняется вступлением клеточных популяций эндометрия

Таблица 3

Доля клеток эндометрия в фазе G1 клеточного цикла при имплантации и плацентации, $X \pm Sx$, %

Имплантация	Доля клеток в фазе G1 клеточного цикла	Имплантация	Плацентация
По передней стенке матки	по передней стенке матки	$89,6 \pm 1,7$	$88,0 \pm 1,3$
	по задней стенке матки	$93,1 \pm 1,7$	$87,0 \pm 1,4$
По задней стенке матки	по передней стенке матки	$88,7 \pm 2,7$	$89,8 \pm 1,9$
	по задней стенке матки	$86,1 \pm 2,5$	$91,0 \pm 0,9$

Таблица 4

Коэффициент вариации пика G1 при имплантации и плацентации, $X \pm Sx$, %

Имплантация	CV G1	Имплантация	Плацентация
По передней стенке матки	по передней стенке матки	$2,4 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,2$
	по задней стенке матки	$2,5 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,1$
По задней стенке матки	по передней стенке матки	$2,40 \pm 0,01$	$2,8 \pm 0,1$
	по задней стенке матки	$3,4 \pm 0,6$	$2,8 \pm 0,1$

в процесс клеточной дифференцировки. Данные результаты представлены в табл. 3.

Полученная при исследовании методом проточной цитометрии величина показателя коэффициента вариации cv пика G1(0) в период имплантации не отличается от величины (cv G1), полученной в предыдущих исследованиях, где она составляла $2,4 \pm 0,1$ % [9]. При анализе результатов показателя коэффициента вариации пика G1(0) клеточного цикла (cvG1) определяется, что в ответ на имплантацию на заднюю стенку матки, клетки децидуализирующегося эндометрия передней стенки реагируют увеличением cv G1 от $2,4 \pm 0,01$ %. Данный показатель возрастает, в связи с периодом плацентации до $2,8 \pm 0,13$ % ($p < 0,01$), что свидетельствует о более высокой чувствительности клеточной популяции децидуализирующегося эндометрия передней стенки матки к неблагоприятным условиям имплантации и плацентации. Данные результаты представлены в табл. 4.

Выводы

1. В ответ на имплантацию плодного яйца обе стенки матки реагируют увеличением пролиферативной активности клеток эндометрия, что выражается в увеличении доли клеток, находящихся в фазе S клеточного цикла.

2. Проллиферативная активность эндометрия передней и задней стенок матки различным образом изменяется в ответ на имплантацию. Имплантация плодного яйца на заднюю стенку матки служит сигналом для усиления пролиферативной активности клеток эндометрия передней стенки матки. В отличие от этого имплантация плодного яйца на переднюю стенку матки не сопровождается усилением пролиферативной активности клеток эндометрия задней стенки матки.

3. Дальнейшее прогрессирование беременности и начало процесса плацентации на задней

стенке матки сопровождается снижением пролиферативной активности клеток децидуализирующегося эндометрия задней стенки матки. Это явление объясняется усилением дифференциации (децидуализации) клеток эндометрия задней стенки матки при формировании маточно-плацентарного кровообращения. В отличие от этого, плацентация на переднюю стенку матки не влияет на пролиферативную активность децидуализирующегося эндометрия передней стенки матки. Можно предположить, что такая особенность пролиферативной активности клеток эндометрия передней стенки матки необходима для компенсации клеточной потери в процессе плацентации.

4. Процесс плацентации на передней стенке матки приводит к повышению уровня гибели клеток эндометрия передней стенки матки, что выражается в достоверном увеличении доли фрагментированных клеток передней стенки матки.

5. В ответ на имплантацию клетки эндометрия передней стенки матки реагируют увеличением коэффициента вариации пика G1 (cvG1), что свидетельствует о высокой чувствительности клеточной популяции передней стенки матки к неблагоприятным условиям при прогрессировании беременности, по сравнению с клетками задней стенки матки. Этот процесс может быть связан с недостаточностью кровообращения передней стенки матки, в связи с меньшим диаметром неизменённых спиральных артериол децидуализирующегося эндометрия, по сравнению с задней стенкой матки.

6. Результаты данного исследования свидетельствуют о различии как течения, так и регуляции процессов пролиферации и гибели децидуальных клеток эндометрия в процессах имплантации и плацентации на передней и задней стенках матки.

Литература

1. Глуховец Б.И., Глуховец Н.Г. Патоморфологическая диагностика ранних самопроизвольных выкидышей. — СПб., 1999. — С. 13–46.

2. *Зароченцева Н.В.* Оптимизация прегравидарной подготовки женщин с невынашиванием беременности, обусловленной недостаточностью лютеиновой фазы // Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — М., 2004. — С. 1–5.
3. *Кахиани Е.И.* Клинико-морфометрическая оценка децидуализирующегося эндометрия при невынашивании беременности: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — СПб., 2002. — С. 1–3.
4. *Котцова Н.А., Быстрова О.А., Сулопаров Л.А., Михайлов В.М.* Изменения клеточного состава отпадающей оболочки при физиологически протекающей беременности и с поздним токсикозом. // Арх. анат. гист. эмбриол. — 1989. — Т. 97, № 11 к. — С. 76–82.
5. *Калашикова Е.П.* Клинико-морфологические аспекты плацентарной недостаточности. // Арх. пат. — 1988. — Т. L, № 5. — С. 21–23.
6. *Калашикова Е.П.* Морфофункциональные изменения плаценты при хронической недостаточности и их значение в исходе беременности для плода. // Материалы I Республиканского съезда акуш.-гин. — М. — 1990. — С. 74.
7. *Кукарская И.И.* Факторы риска и профилактика самопроизвольного аборта: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Челябинск, 2005. — С. 3–5.
8. *Михайлов В.М., Быстрова О.А., Крылова М.И.* Сравнительные ультраструктурные свойства клеток децидуальной ткани человека и крыс // Цитология. — 1986. — Т. 28. — С. 1140.
9. *Михайлов В.М., Линде В.А., Розанов Ю.М., Котцова Н.А.* Синтез и содержание ДНК в клетках децидуа человека, находящихся на разных этапах дифференцировки, по данным проточной цитометрии // Цитология. — 1992. — Т. 34, № 6. — С. 67.
10. *Михайлов В.М.* Жизненный цикл децидуальных клеток: автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. — СПб., 1998.
11. *Михнина Е.А.* Гормональная функция яичников и рецепция эстрадиола и прогестерона эндометрием у женщин с невынашиванием беременности: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — СПб., 1995. — С. 20.
12. *Розанов Ю.М.* Проточная цитометрия // Методы культивирования клеток. Л.: Наука, 1988. — С. 136–146.
13. *Федорова М.В., Калашикова Е.П.* Плацента и ее роль при беременности. — М.: Медицина, 1986. — 252 с.
14. *Цирельников Н.И.* Гистофизиология плаценты человека // Новосибирск: Наука, 1980. — 184 с.
15. *Dallenbach-Hellweg G.* Histopathology of endometrium // Heidelberg: Springer-Verlag. — 1981. — P. 359.
16. *Enders A.C., Welsh A.O.* Structural interactions of trophoblast and uterus during hemochorial placenta formation // J. Exp. Zool. — 1993. — Vol. 266. — P. 578–587.
17. *Johannison E.* Functional anatomy of uterus // In Infertility: male and female. Ed. by V. Insler and B. Lunenfeld. London: Churchill, Livingstone. — 1993. — P. 35–51.
18. *Mikhailov V.M.* Life cycle of decidual cells // International Review of Cytology. — 2003. — Vol. 227. — P. 1–47.

THE PECULIARITIES OF CORRELATION OF PROCESS OF ENDOMETRIAL CELLS PROLIFERATION AND DEATH DURING THE IMPLANTATION OF EMBRYO INTO FRONT AND BACK WALLS OF UTERUS

Kobitskaya E.L., Tatarova N.A., Mikhailov V.M., Rosanov Y.M.

■ **Summary:** The decidual tissue performs numerous functions during pregnancy to provide for the progress of pregnancy and embryo development. These numerous functions initiate the participation of several cell types in the realization of decidual functioning. Decidual cells replace uterine epithelium and form a new cell barrier between the mother and the fetus. Proliferation activity of endometrial cells of front and back walls of uterus is changing different types during the implantation. The implantation of embryo into a back wall of uterus is a signal for increasing of proliferation activity of endometrial cells into the front wall of uterus.

Unlike from this, the implantation of embryo into the front wall of uterus is not accompanied with increasing proliferation activity of endometrial cells of back wall of uterus.

While pregnancy continue the process of placentation starts and it is accompanied with decreasing of proliferation activity of endometrial cells of a back wall of uterus. The placentation into the front wall of uterus result in high level of endometrial cells death into the front wall of uterus.

■ **Key words:** decidual tissue; proliferation activity of endometrial cells; placentation; implantation