

УДК 618.177:618.145-007-61-018:612.621.9

© В. Э. Дорошенко, 2012.

АПОПТОЗ В ЭНДОМЕТРИИ У БЕСПЛОДНЫХ ЖЕНЩИН С КОМПЛЕКСНОЙ НЕАТИПИЧЕСКОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ (КНГЭ) В ПЕРИОД ОКНА ИМПЛАНТАЦИИ

В. Э. Дорошенко*Научно-исследовательский институт медицинских проблем семьи (директор – профессор А. В. Чайка), Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, г. Донецк.*

APOPTOSIS IN ENDOMETRIUM IN INFERTILE WOMEN WITH COMPLEX NONATYPICAL HYPERPLASIA (CNHE) FOR THE IMPLANTATION WINDOW

V. E. Doroshenko

The article presents the characteristics of apoptotic activity in glands and stroma in the endometrium of infertile women of reproductive age with CNHE during the implantation window. The author prove that during the implantation window in the endometrium of patients with CNHE processes of the apoptosis in the glands were not significantly different, and in the stroma only slightly higher than those in the control.

АПОПТОЗ В ЭНДОМЕТРИЇ У БЕЗПЛІДНИХ ЖІНОК ІЗ КОМПЛЕКСНОЮ НЕАТИПОВОЮ ГІПЕРПЛАЗІЄЮ (КНГЕ) В ПЕРІОД ВІКНА ІМПЛАНТАЦІЇ

В. Е. Дорошенко

У статті представлено особливості апоптотичної активності в залозах і стромі ендометрію у безплідних жінок репродуктивного віку з КНГЕ у період вікна імплантації. Авторами доведено, що при КНГЕ в період вікна імплантації процеси апоптозу в залозах достовірно не відрізняються, а в стромі незначно перевищують такі в контролі.

Ключевые слова: бесплодие, комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия, апоптоз, окно имплантации.

Активация процессов апоптоза в эндометрии в период окна имплантации выступает в роли биологического маркера адекватно подготовленного к имплантации эндометрия, так как компоненты ядер клеток участвуют в маточной секреции и пролиферации иммунокомпетентных клеток, в основном, больших гранулярных лимфоцитов, в эндометрии [1-7]. В тоже время, по данным литературы последних лет, индивидуальные реактивные свойства эндометрия, проявляющиеся нарушением соотношения процессов пролиферации и апоптоза, являются одними из основных механизмов развития КНГЭ.

Целью данного исследования стало выявление особенностей апоптотической активности в железах и строме эндометрия в период окна имплантации при его комплексной неатипической гиперплазии у женщин с бесплодием.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В ходе исследования обследовано 66 женщин репродуктивного возраста. Всем им проведена гистероскопия, забор эндометрия и иммуногистохимическое исследование образцов эндометрия.

Гистероскопия и забор эндометрия проводились на 19-22-й день менструального цикла. Основную группу О составили 36 женщин с КНГЭ и бесплодием, из которых у 20 эндометрий (группа О1) не соответствовал фазе менструального цикла и на

19-22-й день менструального цикла был пролиферативным, у 16 пациенток группы О2 в эндометрии на 19-22-й день менструального цикла отмечались секреторные изменения. В контрольную группу К вошли 30 женщин, принявших участие в программе вспомогательных репродуктивных технологий в качестве суррогатных матерей, у которых изменения в эндометрии на 19-22-й день менструального цикла соответствовали нормальной средней фазе секреции по критериям О.И. Топчиевой, что соответствует 19-22-ому дням менструального цикла по критериям R.W. Noyes.

Полученные образцы эндометрия помещали в нейтральный забуференный 10% раствор формалина (pH 7,4) и фиксировали в течение 24 часов. После дегидратации кусочки заливали в парафин по стандартной методике. На ротационном микротоме Microm HM325 с системой переноса срезов STS («Carl Zeiss», Германия) изготавливали серийные гистологические срезы толщиной 4 мкм, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике.

Для выявления клеток, находящихся в процессе апоптоза, использовался набор «ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit» производства «Chemicon/Millipore» (США), который основан на TUNEL-методе, т.е. выявлении дефрагменти-

рованных участков ДНК апоптотических клеток. Эти участки определялись с помощью фермента терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы (tdt), который «пришивал» модифицированные олигонуклеотиды, меченные пероксидазой хрена, к свободным 3'ОН-группам в местах фрагментации ДНК. В результате этого взаимодействия образовывались стойкие комплексы меченых олигонуклеотидов с концевыми участками фрагментированной ДНК, которые затем визуализировались с помощью DAB-хромогена. Таким образом, ядра клеток, находящиеся в процессе апоптоза, приобретали коричневый цвет. Для визуализации гистологической структуры исследуемой ткани обработанные срезы докрашивали метиловым зеленым.

Микроскопию препаратов и морфометрические исследования проводили на микроскопе Olympus AX70 Provis («Olympus», Япония) с помощью программы анализа изображения Analysis 3.2 Pro («Soft Imaging», Германия), согласно рекомендациям производителя программного обеспечения.

Производили подсчет позитивно окрашенных клеток в трех полях зрения и рассчитывали процент положительных клеток по отношению ко всем клеткам. Расчет производился на не менее, чем 1000 клеточных элементов.

Первичные данные вносили в электронную таблицу Microsoft Excel 2003, статистическую обработку проводили в программе статобработки Primer of Biostatistics 4.03 (США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе о наличии средней фазы секреции свидетельствовали: нарастающий отек стромы с характерной картиной «оголенных ядер», извитость желез и расширение последних за счет накапливаемого в просвете секрета, однородность эпителия желез, базальное расположение светлых пузырьковидных ядер, нечеткая выраженность апикального края клеток, появление децидуальной реакции стромы вокруг сосудов, а также резко извитые спиральные артерии, образующие «клубки».

У пациенток с КНГЭ наблюдали изменение конфигурации желез и увеличение объема желез над таковым стромы, что приводило к увеличению железисто-стромального соотношения более, чем 1:1. Редко железистый силуэт был прямым, трубчатым и узким. Гораздо чаще мы сталкивались с округлой или со сложной структурой желез, которую невозможно было сравнить с какой-либо простой геометрической фигурой. КНГЭ с отсутствием секреторных изменений на 19-21-й день менструального цикла характеризовалась у пациенток группы О1 пролиферативным или пролиферирующим типом железистого эпителия, плотно сгруппированными «спинка к спинке» железами с трудно различимой (иногда отсутствующей) разделяющей стромой. В строме отсутствовали явления децидуализации.

КНГЭ с секреторными изменениями в группе О2 характеризовалась наличием псевдомногослойного эпителия желез с определяемыми супра- и субнуклеарными вакуолями, сходными с таковыми в раннюю фазу секреции, а также наличием значительного количества внутрисекреторного секрета в железах и децидуализацией стромы.

У женщин группы К в период имплантационного окна установлено, что количество клеток в состоянии апоптоза в строме ($4,67 \pm 0,27\%$) превышало таковое в железах ($2,46 \pm 0,24\%$) в 1,90 раза ($p < 0,001$).

У женщин с КНГЭ в период имплантационного окна апоптоз в строме эндометрия ($6,08 \pm 0,43\%$) встречался в 1,30 раза чаще по сравнению с контролем ($p < 0,01$), а в железах достоверно не отличался от частоты в контроле. Количество регистрируемых клеток, находящихся в состоянии апоптоза, в строме эндометрия при КНГЭ превышало таковое в железах в 2,90 раза ($p < 0,001$).

Среди обследованных пациенток с КНГЭ у 20 женщин группы О1 в период имплантационного окна в эндометрии отсутствовали секреторные изменения соответственно дню менструального цикла, и эпителий, выстилающий железы, был пролиферативного либо пролиферирующего типа. Количество клеток, находящихся в состоянии апоптоза, при КНГЭ без секреторной трансформации в период имплантационного окна в железах ($2,21 \pm 0,43\%$) было меньше такового в строме эндометрия ($6,39 \pm 0,69\%$) в 2,90 раза ($p < 0,001$). Выявлена обратная корреляционная зависимость между апоптозом в клетках стромы и апоптозом в железах эндометрия ($r = -0,50$; $p < 0,02$).

Среди обследованных пациенток с КНГЭ у 16 женщин группы О2 в период имплантационного окна в эндометрии наблюдались секреторные изменения соответственно дню менструального цикла, и эпителий, выстилающий железы, был секреторного типа. Количество клеток, находящихся в состоянии апоптоза, при КНГЭ с секреторной трансформации в период имплантационного окна в железах ($1,95 \pm 0,43\%$) было меньше такового в строме эндометрия ($5,70 \pm 0,44\%$) в 2,92 раза ($p < 0,001$).

ВЫВОДЫ

При комплексной неатипической гиперплазии в эндометрии в период окна имплантации процессы апоптоза в железах достоверно не отличаются, а в строме незначительно превышают таковые в контроле.

ЛИТЕРАТУРА

1. Носенко О. М. Диференційований підхід щодо комплексного лікування простої неатипової гіперплазії ендометрія у жінок репродуктивного віку / О. М. Носенко, Ю. О. Малова // Проблеми, досягнення і перспективи розвитку медико-біологічних наук і практичного здоров'я : сб. трудов

- / Крым. гос. мед. ун-т им. С. И. Георгиевского. – Симферополь, 2008. – Т. 144, Ч. IV. – С. 178–182.
2. Gargett B. E. Endometrial stem/progenitor cells and proliferative disorders of the endometrium / B. E. Gargett, R. W. Chan, B. E. Gargett // *Minerva Gynecol.* – 2006. – Vol. 58, №6. – P. 511–526.
3. Receptorial and mitochondrial apoptosis in normal and neoplastic human endometrium / M. Li Paola, G. Loverro, A. M. Caringella [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2005. – Vol. 15, №3. – P. 523–528.
4. Reproducibility of the Diagnosis of Atypical Endometrial Hyperplasia / R. J. Zaino, J. Kauderer, C. Liu Trimble [et al.] // *Int. J. Gyn. Cancer.* – 2006. – Vol. 106, № 4. – P. 804–811.
5. Tanaka T. Effects of anti-endometriotic therapies of Fas-mediated endometrial epithelial apoptosis / T. Tanaka // *Oncol. Rep.* – 2005. – Vol. 13, № 6. – P. 1235–1239.
6. Tanaka T. Leptin regulates the proliferation and apoptosis of human endometrial epithelial cells / T. Tanaka, N. Umesaki // *Int. J. Mol. Med.* – 2008. – Vol. 22, № 5. – P. 683–689.
7. Von Rango U. The receptive endometrium is characterized by apoptosis in the glands / U. von Rango, I. Classen-Linke, C. A. Krusche [et al.] // *Hum. Reprod.* – 1998. – Vol. 13, № 11. – P. 3177–3189.