

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ПІНОПОДІЙ В ЕНДОМЕТРІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ПІДТРИМКИ ЛЮТЕЇНОВОЇ ФАЗИ ЦИКЛУ У ПРОГРАМАХ ЕКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ЗАПЛІДНЕННЯ

А. С. ЛУЦЬКИЙ

Харківський національний медичний університет, Україна

Вивчено особливості формування піноподій в ендометрії залежно від способу підтримки лютеїнової фази при лікуванні безпліддя методом екстракорпорального запліднення. Доведено, що у пацієнок, яким підтримку лютеїнової фази проводили високоочищеним прогестероном для підшкірного застосування у дозі 25 мг (1 мл) 1 раз на добу та 90 мг внутрішньопіхвового прогестерону у вигляді гелю, дає найкращі результати при формуванні піноподій.

Ключові слова: піноподії, підтримка лютеїнової фази, ендометрій, екстракорпоральне запліднення.

Підвищення частоти настання вагітності у циклах допоміжних репродуктивних технологій є одним з актуальних питань сучасної репродуктології [1]. У теперішній час показано, що низький рівень імплантації ембріонів пов'язаний з відсутністю синхронності між дозріванням ендометрію, розвитком бластоцист, зниженням рецептивності ендометрію і залежить від схеми застосування препаратів для контрольованої оваріальної стимуляції [2].

Адекватний морфофункціональний стан ендометрію є одним з основних чинників, що забезпечують успішну імплантацію заплідненої яйцеклітини і розвиток ембріона. Різні патоморфологічні зміни ендометрію можуть призвести до порушень рецептивності, дефектів імплантації, безпліддя або ранньої втрати вагітності [3].

Період, коли ендометрій залишається рецептивним для нідації бластоцисти, отримав назву «вікна імплантації» [4]. Їх активація характеризується значними ультраструктурними змінами ендометріальних епітеліальних клітин. У цей період плазмові мембрани епітелію ендометрію втрачають мікроворсинки й апікальні поверхні клітин формують куполоподібні випинання – піноподії [5]. Кількість і якість піноподій вказують на рецептивну фазу ендометрію [6]. Утворення піноподій, що з'являються у середині лютеїнової фази (ЛФ), є головним показником якості ендометрію, у зв'язку з чим оцінку їхнього стану було запропоновано як один із маркерів рецептивності ендометрію [7].

Піноподії проходять три стадії: спочатку розвиваються, потім стають розвиненими (зрілими) і врешті-решт регресують. Такі, що розвиваються, з'являються у період «вікон імплантації» і є ектоплазматичними випинаннями поверхневих ендометріальних епітеліальних клітин, які поєднуються зі зменшенням числа коротких товстих мікроворсинок [8]. Розвинені (зрілі) піноподії – випинання досягають своєї максимальної величини і утворюють складки, нагадуючи квіти або гриби,

у яких кількість мікроворсинок різко зменшується або вони повністю зникають. Кількість зрілих піноподій служить предиктивним фактором імплантації. Якщо піноподії займають більше 50% поверхні ендометрію, їх оцінюють як виражені у великій кількості, якщо 20–50% – відносять до помірно виражених, менше 20% – вважають нечисленими [9].

При скануючій електронній мікроскопії (СЕМ) піноподії визначаються у 78% біопсії ендометрію на 5-й день після овуляції у жінок із регулярним менструальним циклом (МЦ).

При екстракорпоральному заплідненні (ЕКЗ) у стимульованих циклах зростає кількість фолікулів, тому концентрація естрадіолу значно вище порівняно з прогестероном, що призводить до зниження секреції лютеїнізуючого гормону (ЛГ) [10]. При цьому страждає ЛФ, підтримка якої забезпечується препаратами прогестерону.

Метою нашого дослідження було вивчення особливостей формування піноподій в ендометрії залежно від способу підтримки ЛФ при лікуванні безпліддя методом ЕКЗ.

Для визначення оптимальної схеми підтримки ЛФ було відібрано повністю обстежених, соматично і гінекологічно здорових 50 жінок, які стали донорами ооцитів (основна група). Усім пацієнткам проводили ультразвуковий моніторинг із метою визначення динаміки зростання фолікулів. Коли фолікули досягали діаметра 12–14 мм, то починали введення антагоніста гонадотропін-рилізінг гормону. Через 35–36 год після тригера фінального дозрівання ооцитів жінкам-донорам проводили трансвагінальну пункцію фолікулів. У день пункції починали підтримку ЛФ. На 5-ту добу після забору ооцитів у донорів для морфологічного дослідження брали ендометрій, отриманий при пайпель-біопсії, з метою визначення ефективності різних схем підтримки ЛФ. До контрольованої групи увійшли 10 жінок-донорів, які перебували у природному МЦ, їм підтримка ЛФ не проводилася.

Пацієнок основної групи було розподілено на п'ять підгруп залежно від схеми проведення підтримки ЛФ. У підгрупу 1-а увійшли жінки, які приймали дидрогестерон по 10 мг 3 рази на день перорально; у підгрупі 1-б використовували високоочищений прогестерон для підшкірного застосування, який вводився по 25 мг (1 мл) одноразово на добу, і 90 мг внутрішньопіхвового прогестерону у вигляді гелю; у підгрупі 1-в застосовували мікронізований прогестерон у капсулах по 200 мг 3 рази на добу *per os*; у підгрупі 1-г — призначали внутрішньопіхвовий гель, що містить 90 мг прогестерону, щодня 2 рази на добу; у підгрупі 1-д жінки отримували 1 мл 2,5%-вого прогестерону двічі на день внутрішньом'язово.

На 5-ту добу після отримання ооцитів жінкам виконувалася пайпель-біопсія ендометрію з метою проведення СЕМ. Дослідження з визначення піноподій в ендометрії відбувалися на базі лабораторії електронної мікроскопії компанії «Нанотехнології в медицині» (м. Київ).

Зразки ендометрію занурювали в 2,5%-вий розчин глутарового альдегіду на фосфатному буфері і витримували так 24 год, потім вони фіксувалися в 4%-вому розчині осмію на фосфатному буфері, зневоднені розчином ацетону на дистильованій воді у зростаючих концентраціях (від 20 до 100%), висушували у вуглекислому газі, покривали золотом (150-200 А). СЕМ проводилася на мікроскопі JEOL Superprobe 733 (Японія) зі збільшенням $\times 2000$.

СЕМ дає змогу досліджувати особливості структури ендометрію у пацієнок із невдалими

ЕКЗ, визначити найбільш оптимальний день для проведення ембріопереносу, виключити причини відсутності імплантації, пов'язані з дисфункцією ендометрію, скоригувати схему підтримки ЛФ.

У контрольній групі розвинені піноподії спостерігались у 5 (50,0%) жінок. Вони формувалися у часовому проміжку ЛГ +6/7, що відповідає нормальному розвитку піноподій, та виявлялися як випинання на поверхні клітин, які супроводжувалися редукцією мікрворсинок (рис. 1). Їх верхівки зливаються, формуючи гладеньку і тонку мембрану у результаті повного зникнення виступів. Піноподії, що розвиваються, зафіксовано у 2 (20,0%) випадках. У 3 (30,0%) жінок були регресуючі піноподії, у яких випинання зменшуються та маленькі верхівки мікрворсинок з'являються знову на мембранах клітин (табл. 1). Кількісний розподіл мікрворсинок в ендометрії жінок контрольної групи у день передбачуваного «вікна імплантації» визначалися у малій кількості (табл. 2).

У підгрупі 1-а основної групи розвинені піноподії траплялися у 3 (30,0%) випадках, у 4 (40,0%) спостереженнях формування піноподій було регресуючим та відставало від нормального розвитку, ще у 3 (30,0%) жінок — визначалося раннє формування піноподій.

Піноподії були різними за формою (30,0%) і розмірами (60,0%) у переважній більшості пацієнок (рис. 2). Половина жінок (50,0%) мали помірну кількість мікрворсинок на поверхневому шарі маткового епітелію, 20,0% — їх велику кількість та 20,0% — малу (табл. 2). У 10,0% пацієнок спостерігались ділянки без піноподій.

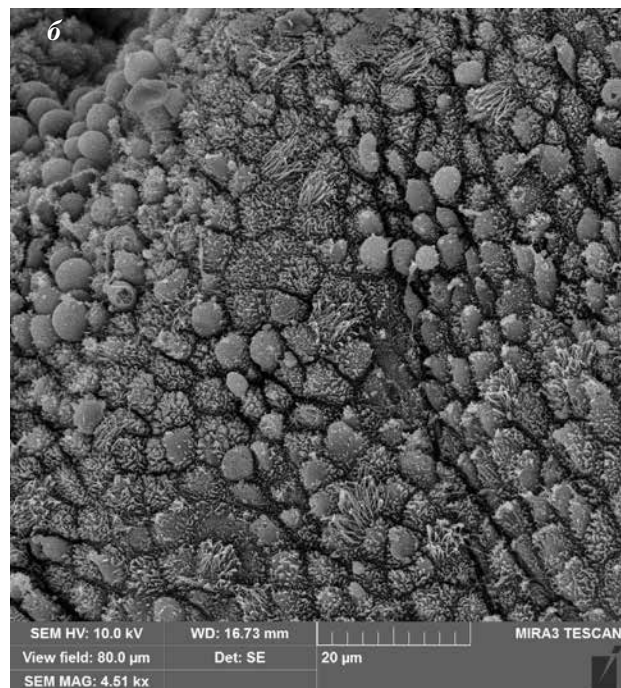
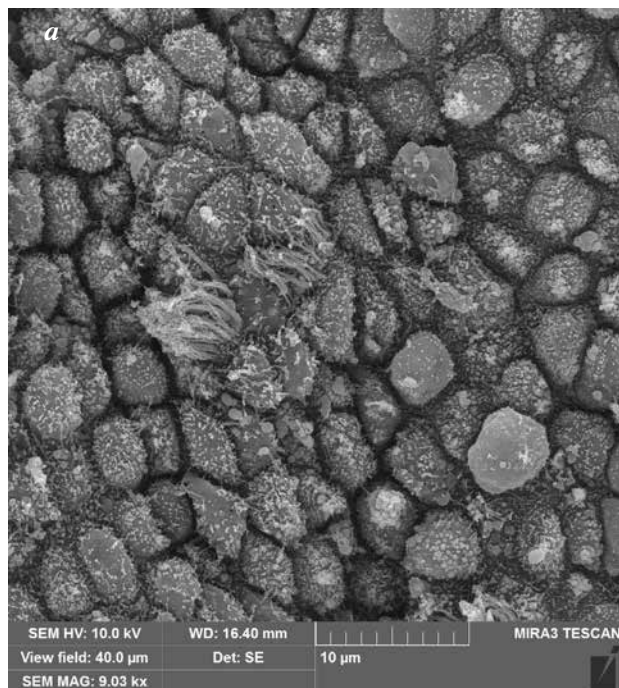


Рис. 1. Піноподії на 22-й день менструального циклу у пацієнок контрольної групи: *а* — переважна кількість зрілих піноподій, поодинокі регресуючі піноподії; *б* — переважна кількість розвинених піноподій, поодинокі піноподії, що розвиваються, одиничні різні форми. СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм

Таблиця 1

Розподіл піноподій в ендометрії жінок у день передбачуваного «вікна імплантації» залежно від проведення схеми підтримки лютеїнової фази, n (P±p, %)

Групи	Розподіл піноподій в ендометрії											
	що розвиваються		розвинені (зрілі)		регресуючі		наявність ділянок відсутності		різні форми		різні розміри	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
Контрольна, n = 10	2	20,0±0,22	5	50,0±0,85	3	30,0±0,31	0	0,00±0,00	0	0,00±0,00	0	0,00±0,00
Основна:												
1-а, n = 10	3*	30,0±0,31	3*	30,0±0,44	4	40,0±0,55	1	10,0±0,13	3	30,0±0,24	6	60,0±0,92
1-б, n = 10	2	20,0±0,17	6	60,0±0,62	2	20,0±0,25	0	0,0±0,00	1	10,0±0,22	0	0,0±0,00
1-в, n = 10	3	30,0±0,52	2*	20,0±0,34	5*	50,0±0,64	1	10,0±0,13	4	40,0±0,91	3	30,0±0,45
1-г, n = 10	4*	40,0±0,11	3*	30,0±0,42	3	30,0±0,25	2	20,0±0,52	5	50,0±0,37	1	10,0±0,15
1-д, n = 10	3	30,0±0,12	3*	30,0±0,24	4*	40,0±0,72	1	10,0±0,11	4	40,0±0,93	3	30,0±0,41

* p < 0,05 порівняно з контрольною групою. Те саме у табл. 2.

Таблиця 2

Кількісний розподіл мікрворсинок в ендометрії жінок у день передбачуваного «вікна імплантації» залежно від проведення схеми підтримки лютеїнової фази, n (P±p, %)

Група	Кількість мікрворсинок					
	велика		помірна		мала	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
Контрольна, n = 10	0	0,00±0,00	0	0,00±0,00	3	30,0±0,44
Основна:						
1-а, n = 10	2	20,0±0,22	5	50,0±0,87	2*	20,0±0,18
1-б, n = 10	0	0,00±0,00	0	0,00±0,00	4	40,0±0,26
1-в, n = 10	2	20,0±0,37	2	20,0±0,21	5*	50,0±0,52
1-г, n = 10	2	20,0±0,41	3	30,0±0,51	3	30,0±0,24
1-д, n = 10	3	30,5±0,68	2	20,0±0,28	4	40,0±0,52

www.imj.kh.ua

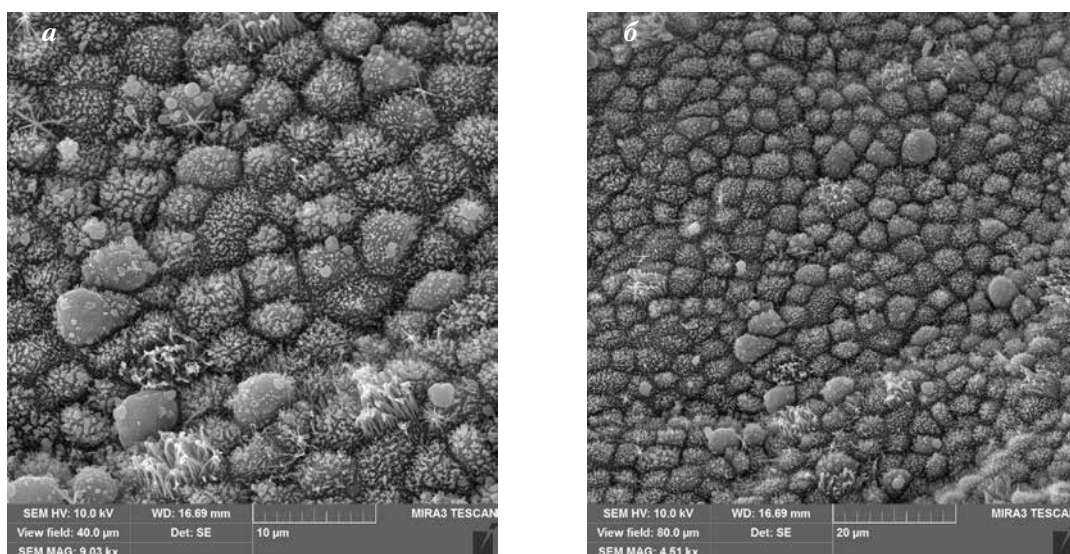


Рис. 2. Піноподії на 22-й день менструального циклу у пацієнтки підгрупи 1-а: а – достатня кількість зрілих піноподій та таких, які розвиваються; б – спостерігаються поодинокі регресуючі піноподії, їх переважна кількість – різних розмірів та форм, помірна кількість циліарних клітин. СЕМ. ×2000. Шкала барів = 5 мкм

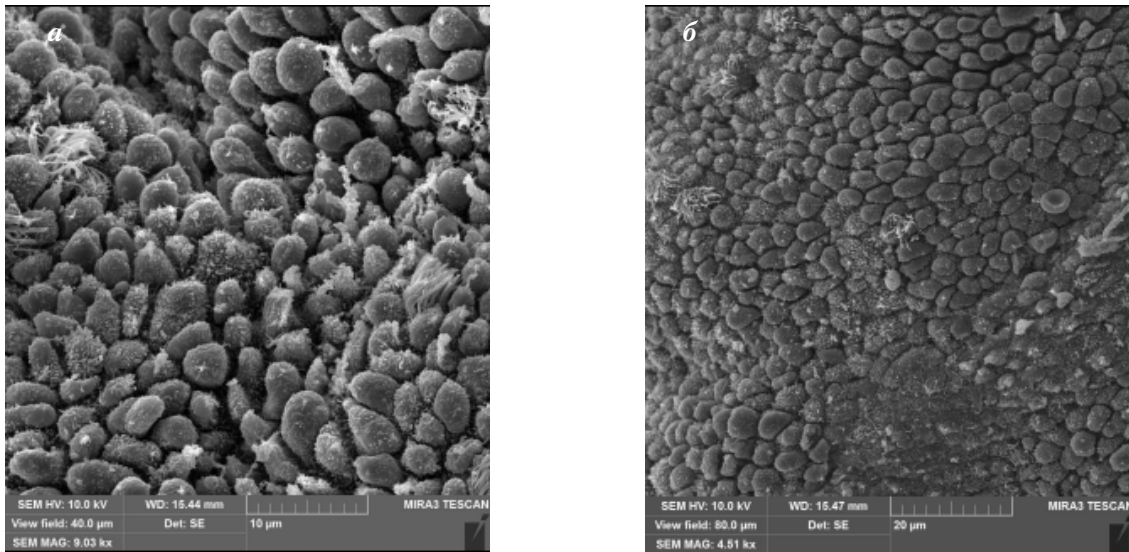


Рис. 3. Піноподії на 22-й день менструального циклу у пацієнтки підгрупи 1-б: *a* – переважна кількість зрілих піноподій, поодинокі піноподії, що розвиваються, та регресуючі; *б* – переважна кількість розвинених піноподій одного розміру, рідко трапляються різні форми. СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм

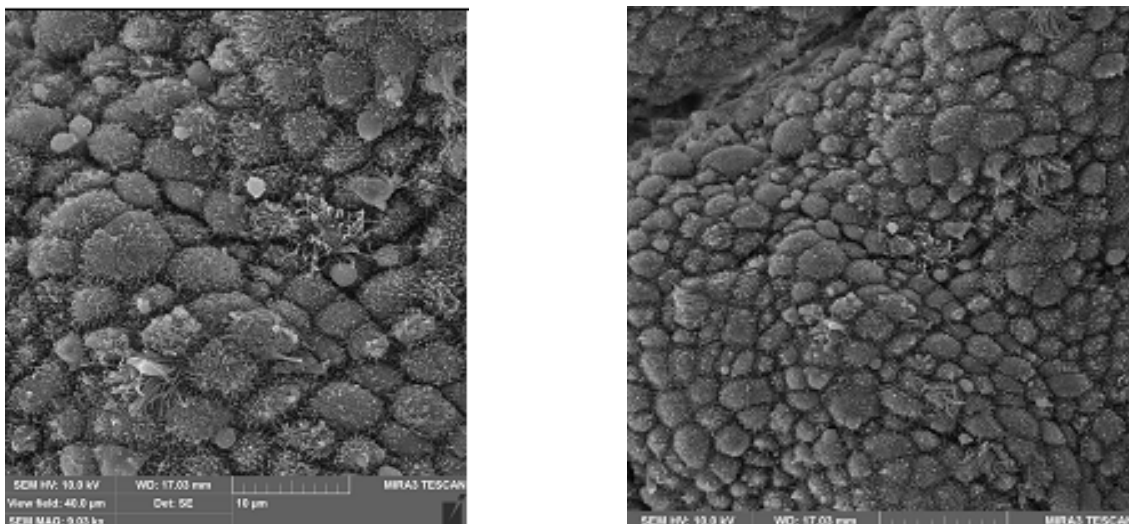


Рис. 4. Піноподії на 22-й день менструального циклу у пацієнтки підгрупи 1-в: *a* – поверхня ендометрію вкрита структурами з мікрворсинками та піноподіями, що починають регресувати; *б* – переважна кількість піноподій різного розміру та форми. Переважно мала кількість мікрворсинок в ендометрії жінок. СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм

У підгрупі 1-б зрілі піноподії спостерігаються у більшості жінок – 6 (60,0%) випадків (рис. 3). Цей показник дещо вищий, ніж у контрольній групі (50,0%), й свідчить про те, що підтримка ЛФ високоочищеним прогестероном для підшкірного застосування, який вводився по 25 мг (1 мл) 1 раз на добу, і 90 мг внутрішньопіхвового прогестерону у вигляді гелю є найбільш оптимальним методом підготовки ендометрію до імплантації. Раннє формування піноподій та регресуючі піноподії відзначалися лише у 2 (20,0%) випадках. Мікрворсинки у малій кількості в ендометрії спостерігалися у 40,0% жінок (табл. 2).

У підгрупі 1-в розподіл піноподій в ендометрії виглядав таким чином: у 50,0% випадків – регресуючі, у 20,0% – нормальні (зрілі) та у 30,0% – такі, що розвиваються (рис. 4). Малу кількість мікрворсинок на поверхневому шарі маткового епітелію мали 50,0% жінок (табл. 2).

У підгрупі 1-г кількість зрілих піноподій була достовірно нижчою, ніж у контрольній (лише 30,0%). Розподіл піноподій в ендометрії такий: у 30,0% випадків – регресуючі, у 40,0% – такі, що розвиваються (рис. 5). Мікрворсинки в ендометрії жінок у великій кількості зафіксовано у 20,0% випадків, помірної та малої кількості – по 30,0% на поверхневому шарі маткового епітелію (табл. 2).

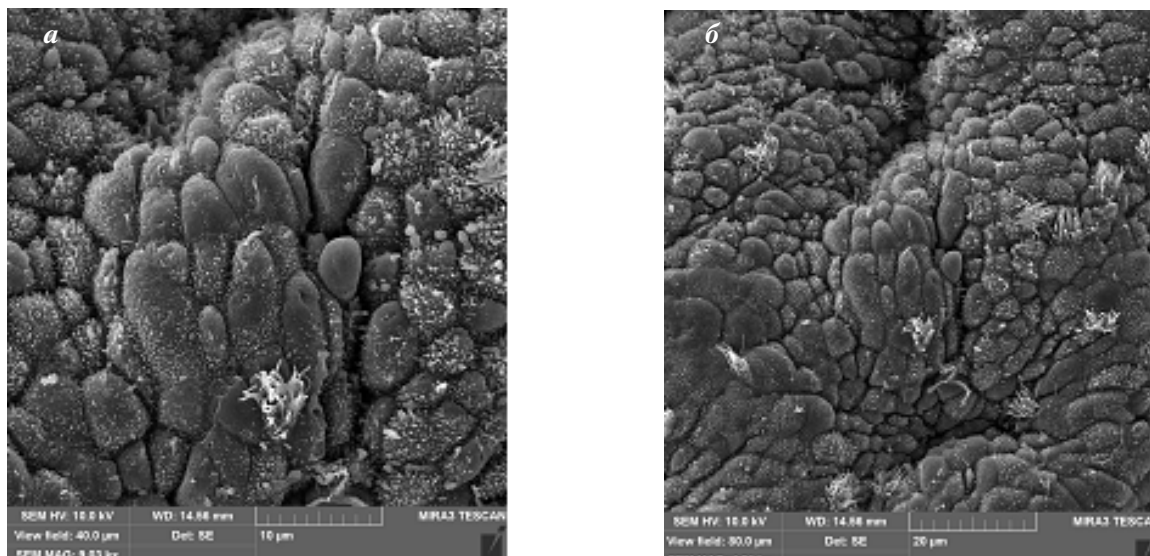


Рис. 5. Піноподії на 22-й день менструального циклу у пацієнтки підгрупи 1-г: *a* – поверхня ендометрію вкрита структурами з мікрворсинками та піноподіями, що розвиваються та починають регресувати; *б* – переважна кількість піноподій різної форми. СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм

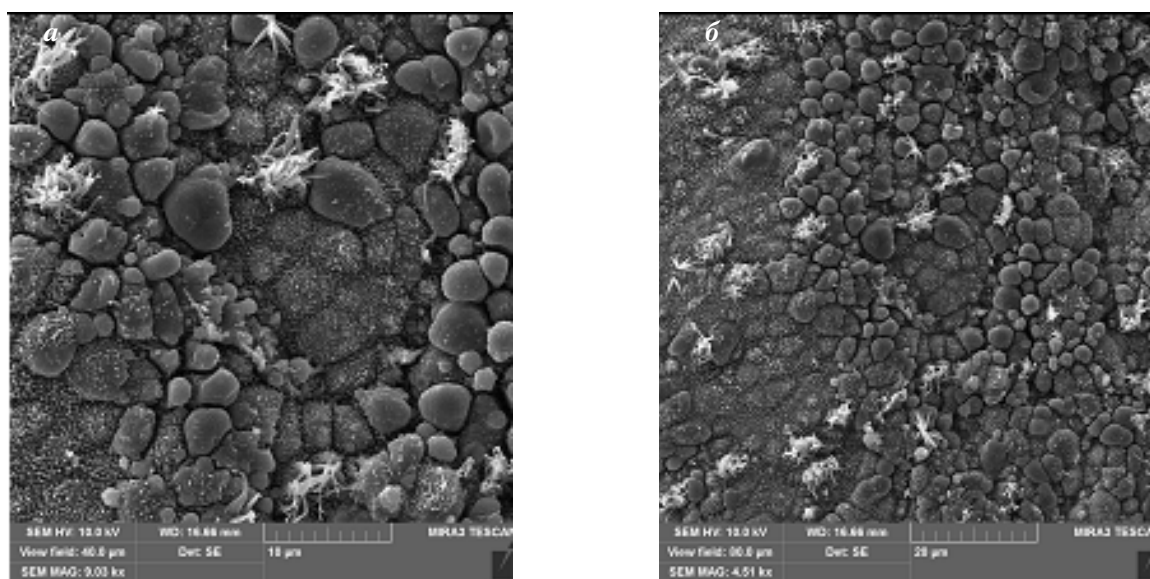


Рис. 6. Піноподії на 22-й день менструального циклу у пацієнтки підгрупи 1-д: *a* – поверхня ендометрію вкрита піноподіями, що починають свою регресію, є невелика кількість розвинених піноподій, і таких що розвиваються; *б* – наявні різні форми та розміри піноподій. Переважно мала кількість мікрворсинок в ендометрії. СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм

Таке формування піноподій може призвести до асинхронізації рецептивності ендометрію.

У підгрупі 1-д є велика кількість регресуючих піноподій – 4 (40,0%) випадки, а зрілих було достовірно менше, ніж у контрольній групі, – 3 (30,0%) (рис. 6). Кількісний розподіл мікрворсинок в ендометрії жінок виглядав як переважно мала їх кількість – 4 (40,0%), (табл. 2).

Отже, велике значення для успішного проведення ЕКЗ має процес формування піноподій, який залежить від схеми проведення підтримки ЛФ-циклу. Спільними негативними рисами при формуванні піноподій у жінок у період «вікон

імплантації» є зменшення кількості розвинених піноподій, збільшення чисельності піноподій, що розвиваються, наявність ділянок без піноподій, мозаїцизм їх розмірів, форми і стадії розвитку.

На підставі наших досліджень можна зробити висновок, що на 5-й день після аспірації ооцитів у пацієнток підгрупи 1-б нормальний розвиток зрілих піноподій визначався у 60,0% випадків. Підтримка ЛФ високоочищеним прогестероном для підшкірного застосування, який вводився по 25 мг (1 мл) 1 раз на добу, і 90 мг внутрішньопіхвового прогестерону у вигляді гелю є найбільш адекватною.

Список літератури

1. Митюрин Е. В. Причины повторных неудач имплантации в программе экстракорпорального оплодотворения / Е. В. Митюрин, С. Г. Перминова, Т. С. Амян // Акушерство и гинекология.— 2016.— № 11.— С. 34–40.
2. Бабенко І. В. Використання модифікованого природного циклу в допоміжних репродуктивних технологіях у пацієнтів із неплідністю і зниженим яєчниковим резервом / І. В. Бабенко // Зб. наук. пр. Асоціації акушерів-гінекологів України: тези конф.— К.: Поліграфія плюс, 2013.— С. 18–19.
3. Siklosi G. S. Fundamental role of folliculo-luteal function in recurrent miscarriage / G. S. Siklosi, F. G. Banhidy, N. Acs // Arch. Gynecol. Obstet.— 2012.— № 286 (5).— P. 1299–1305.
4. A prospective randomized comparison of intramuscular or intravaginal natural progesterone as a luteal phase and early pregnancy supplement / J. Smitz, P. Devroey, Faguer [et al.] // Human Reproduction.— 1992.— № 7.— P. 168–175.
5. Fatemi H. M. The luteal phase after 3 decades of IVF: what do we know? / H. M. Fatemi // Reprod. Biomed. Online.— 2009.— Vol. 19.— P. 4331.
6. Targeted drug delivery in gynaecology: the first uterine pass effect / C. Bulletti, D. de Ziegler, C. Flamigni [et al.] // Human Reproduction.— 1997.— Vol. 12.— P. 1073–1079.
7. The luteal phase after GnRH-agonist triggering of ovulation: present and future perspectives / P. Humaidan, E. G. Papanikolaou, D. Kyrou [et al.] // Reprod. Biomed. Online.— 2012.— Vol. 24, № 2.— P. 134–141.
8. Dmitrovic R. Endometrial growth in early pregnancy after IVF/ET / R. Dmitrovic, V. Vlaisavljevic, D. Ivankovic // J. Assist. Reprod. Genet.— 2008.— Vol. 25, № 9.— P. 453–459.
9. Ludwig M. Evaluation of an optimal luteal phase support protocol in IVF / M. Ludwig, K. Diedrich // Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica.— 2001.— № 80.— P. 452–466.
10. Crinon 8% vaginal progesterone gel results in lower embryonic implantation efficiency after in vitro fertilization-embryo transfer / M. A. Damario, V. T. Goudas, D. R. Session [et al.] // Fertility and Sterility.— 1999.— Vol. 72.— P. 830–836.

**ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПИНОПОДИЙ В ЭНДОМЕТРИИ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОДДЕРЖКИ ЛУТЕИНОВОЙ ФАЗЫ ЦИКЛА
В ПРОГРАММАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ**

А. С. ЛУЦКИЙ

Изучены особенности формирования пиноподий в эндометрии в зависимости от способа поддержки лютеиновой фазы при лечении бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения. Доказано, что у пациенток, которым поддержку лютеиновой фазы проводили высокоочищенным прогестероном для подкожного применения в дозе 25 мг (1 мл) 1 раз в сутки и 90 мг интравагинального прогестерона в виде геля, дает лучшие результаты при формировании пиноподий.

Ключевые слова: пиноподии, поддержка лютеиновой фазы, эндометрий, экстракорпоральное оплодотворение.

**PECULIARITIES OF PINOPODS FORMATION IN ENDOMETRIUM DEPENDING
ON LUTEAL PHASE SUPPORT IN CYCLES OF IN VITRO FERTILIZATION**

A. S. LUTSKYI

The peculiarities of the formation of pinopods in the endometrium depending on the method of supporting the luteal phase when treating an infertility by the method of in vitro fertilization were studied. It has been proven that the patients the luteal phase of those was supported by means of the high-purified progesterone with a subcutaneous administration of 25 mg (1 ml) once daily and 90 mg of intrauterine progesterone as a gel showed the best results during pinopods formation.

Key words: pinopods, luteal phase support, endometrium, in vitro fertilization.

Надійшла 25.07.2019