

О. І. Парницька

## Порушення формування «вікна імплантації» у пацієнток із гіперпластичними процесами ендометрія

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України», м. Київ

**Ключові слова:** ендометрій, гіперпластичні процеси, скануюча електронна мікроскопія, циліарні клітини, «вікно імплантації».

Дослідили 180 зразків ендометрія жінок репродуктивного віку, які мали невдалі спроби лікування методом екстракорпорального запліднення із наступним перенесенням ембріона в порожнину матки. Гістологічно в цих біоптатах ендометрія виявили різні патологічні стани: просту гіперплазію ендометрія (I група), поліпи ендометрія (II), дисхроноз розвитку ендометрія (III). Слід відзначити, що під час скануючої електронної мікроскопії ендометрія пацієнток I та II груп із наявністю гіперпластичних процесів патологічні зміни війчастих клітин превалювали над порушеннями у формуванні піноподій у порівнянні з III групою. Отже, у пацієнток I та II груп із невдалими спробами екстракорпорального запліднення та гіперпластичними процесами ендометрія виявлено як ізольовані, так і поєднані з порушенням формування піноподій патологічні зміни циліарних клітин, що може створювати механічну перешкоду для імплантації ембріона на стадії апозиції та адгезії, навіть якщо «імплантаційне вікно» відкрите вчасно.

### Нарушение формирования «окна имплантации» у пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия

О. И. Парницкая

Исследовали 180 образцов эндометрия женщин репродуктивного возраста с неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения с последующим перенесением эмбриона в полость матки. Гистологически в этих биоптатах эндометрия определили разные патологические состояния: простую гиперплазию эндометрия (I), полипы эндометрия (II) и дисхроноз развития эндометрия (III). Следует отметить, что при проведении сканирующей электронной микроскопии эндометрия пациенток I и II групп с наличием гиперпластических процессов патологические изменения циллиарных клеток преобладали над нарушением формирования ютеродомов в сравнении с III группой. Таким образом, у пациенток I и II групп с неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения и гиперпластическими процессами эндометрия обнаружены как изолированные, так и сочетанные с нарушением формирования пиноподий патологические изменения циллиарных клеток, что может создавать механическое препятствие имплантации эмбриона на стадии аппозиции и адгезии даже при своевременном открытии «имплантационного окна».

**Ключевые слова:** эндометрий, гиперпластические процессы, сканирующая электронная микроскопия, циллиарные клетки, «окно имплантации».

*Патология.* – 2013. – №3 (29). – С. 12–15

### «Implantation window» disturbance in patients with hyperplastic processes of endometrium

О. І. Парницька

This study was aimed to investigate the endometrial peculiarities in case of hyperplastic processes by scanning electron microscopy and to reveal changes in pinopodes formation and pathological signs of ciliated cells. We investigated 180 endometrial specimens from women with simple hyperplasia (I gr.), endometrial polyps (II gr.) and asynchronous endometrium (III gr.) by scanning electron microscopy. We revealed isolated pathological changes of ciliated cells and its conjunction with pinopodes formation in women with simple hyperplasia (I group) and polyps (II group) as compared to endometrium of the III group. We observed that significant increasing of ciliated cells quantity, ciliar hyperplasia and irregular distribution in women with simple hyperplasia of endometrium can cause breaking of embryo implantation (apposition and attachment) even in case of regular pinopodes formation.

**Key words:** endometrium, endometrial hyperplasia, scanning electron microscopy, ciliated cells, «implantation window».

*Pathologia.* 2013; №3 (29): 12–15

Гіперпластичні процеси ендометрія є великою та різноманітною групою захворювань, що у більшості випадків пов'язані із гормональними порушеннями, зокрема з тривалою дією естрогенів за відсутності впливу прогестинів.

Останніми дослідженнями встановлено, що важливим моментом в імплантації бластоцисти є рецептивність ендометрія, бо імплантацію можна розглядати як успішну синхронну взаємодію двох процесів: розвитку ембріона та дозрівання ендометрія. У зв'язку з цим зрозумілим стає важливість морфологічного стану ендометрія для успішної імплантації та роль патологічних змін слизової оболонки матки у формуванні дефектів імплантації, неплідності та ранніх втрат вагітності [1,3,8].

Перед імплантацією у тканинах, що складають секреторний ендометрій, зокрема залозистий і покривний епітелій, стромальні клітини і судини, позаклітинний матрикс, відбуваються різноманітні морфологічні, клітинні й молекулярні зміни, деякі з них є дуже нетривалими [9].

У фазу секреції значно змінюються контури епітеліальних клітин. Існує думка, що під впливом естрогенів відбувається збільшення їхньої висоти. Імовірно, це

явище зумовлене змінами в конфігурації мікрофіламентів – з'являються їхні довгі впорядковані нитки, що містяться в поверхневих відділах клітин [2].

Є суперечливі дані щодо змін морфології циліарних клітин протягом менструального циклу. Ендометріальний епітелій складається з двох типів клітин, які легко можна розрізнити під час скануючої електронної мікроскопії біопсійних зразків ендометрія: циліарних і секреторних. Циліарні клітини мають війки – мікроскопічні волосоподібні структури діаметром майже 250 нм.

Секреторні клітини епітелію мають мікроворсинки – тонкі пальцеподібні випинання плазматичної мембрани на поверхні клітин. Кожна мікроворсинка містить 20–30 паралельних актинових філаментів, які тягнуться від її верхівки до клітинної кори.

Секреторні клітини, на відміну від циліарних, трансформуються, а саме утворюються піноподібні структури [3].

Піноподії формуються в секреторних клітинах за рахунок того, що апікальні мембрани поверхневого епітелію ендометрія втрачають мікроворсинки й утворюють гладенькі випини. На початку лютеїнової фази піноподії дуже маленькі або їх немає. Сформовані піноподії можна побачити на 20–21 день циклу, коли вони ізольовані й часто розташовуються навколо вічок ендометріальних залоз. Між 22–26 днями піноподії формують маленькі групи або поєднуються у більші зони [1].

У фаховій літературі опубліковано суперечливі дані щодо часу появи та тривалості терміну існування піноподібних структур. А. Acosta та співавт. (2001) вважають, що протягом останніх днів менструального циклу (27–28 день) все ще можна спостерігати великі зони злиття піноподій, а також доповідають, що час існування піноподій виходить за рамки імплантаційного вікна. Л. Агаджанова та співавт. (2003) свідчать про відсутність цих структур в усіх дослідженнях після 23 дня менструального циклу [1,4,5].

У деяких жінок можна визначити сформовані піноподії в обох біопсійних зразках ендометрія, які взято у семиденний термін протягом секреторної фази менструального циклу.

А. Psychoyos, G. Nikas і В. Lessey вказують на стабільність розвитку піноподій протягом нормального і стимульованого менструального циклу. Розрізняють піноподібні структури, котрі розвиваються, повністю сформовані піноподії та структури, що регресують [6,7].

#### **Мета роботи**

Вивчити особливості ендометрія в умовах гіперпластичних процесів за допомогою скануючої електронної мікроскопії з виявленням характерних змін у динаміці формування піноподій і патологічних змін циліарних клітин.

#### **Матеріали і методи дослідження**

Вивчили 180 зразків ендометрія жінок репродуктивного віку, які мали невдалі спроби лікування методом екстракорпорального запліднення із наступним перенесенням ембріона в порожнину матки. Гістологічно

в цих біоптатах ендометрія виявили різні патологічні стани: просту гіперплазію ендометрія (I група), поліпи ендометрія (II), дисхроноз розвитку ендометрія (III), тому матеріал поділили на 3 групи відповідно. Датування ендометрія здійснювали за критеріями Noyes (1953). Забір матеріалу здійснювали шляхом подвійної біопсії в середню стадію секреторної фази. Надалі ендометрій цих жінок досліджували методом скануючої електронної мікроскопії.

Матеріал відмивали від крові у фізіологічному розчині, фіксували в 1,25% розчині глутарового альдегіда на 0,1 М фосфатному буфері (рН=7,4) та дегідрували етиловим спиртом у зростаючих концентраціях (від 50 до 96%) – по 10 хвилин у кожній порції. У 96% спирті матеріал зберігали в морозильній камері при -20°C до наступного етапу.

Висушували зразки за методом переходу критичної точки, сутність якого полягає в тому, що біологічний об'єкт, який був розташований у замкненій камері та знаходився в середовищі зрідженого газу, під тиском нагрівають до температури, що вище, ніж критична для цього середовища. При цьому відбувається його перехід до газоподібного стану, котрий не затримується дією поверхневого натягу.

При досягненні критичної точки зріджений вуглекислий газ переходить до газоподібного стану. Доки цей стан зберігається, відбувається висушування матеріалу без дії сил поверхневого натягу. Далі газ із камери випускають і витягають висушені зразки.

Оскільки всі біологічні об'єкти мають низьку електропровідність, для запобігання накопичуванню зарядів та отримання достатньо контрастної картини на поверхню зразків напиляли золото (метал із низьким ступенем окислення). Напилена плівка цього металу накопичує вторинні електрони, запобігає нагріванню об'єкта та є більш стійкою до процесів окислення. Плівки з металу була 150–200 А завтовшки.

Аналіз зразків, що підготовлені для скануючої електронної мікроскопії, виконали на мікроскопі з рентгенівською приставкою «JEOL Superprobe 733» зі збільшенням  $\times 2000$ .

#### **Результати та їх обговорення**

Просту гіперплазію ендометрія визначили в 38% зі збільшеною кількістю поперечних зрізів залоз, добре розвинутою та гіперплазованою цитогенною стромою. При цьому ендометрій не ділиться на компактний і спонгіозний шари, не спостерігали правильний розподіл залоз у стромі.

Під час дослідження епітелію залоз ендометрія із наявністю простої гіперплазії виявлено поліморфізм епітеліальних елементів, різною мірою виражений не тільки у різних відділах ендометрія, але й в різних відділах однієї залози. З клітинами маткового епітелію індіферентного та проліферативного типу траплялися світлі клітини, штифтикові.

Разом із типовими для простої гіперплазії залозами, які вислані епітелієм із багаторядним розташуванням ядер, виявили велику кількість залоз, котрі відповідали ранній або пізній стадії фази проліферації менструального циклу (рис. 1).

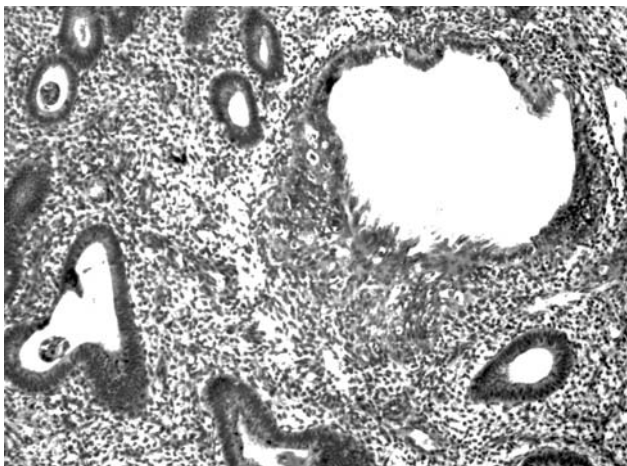


Рис. 1. Пацієнтка К. (I група). Проста гіперплазія ендометрія. Заб. гематоксилін-еозин. Ок. 10, Об. 10.

Залози різні за кількістю та формою, від 50 до 150 мкм у діаметрі. Частина залоз кистоподібно трансформована за рахунок різної інтенсивності проліферації на окремих ділянках залози.

При простій гіперплазії кількість залоз не збільшена, але за рахунок посиленої проліферації епітелію кожна залозиста трубочка стає довшою та набуває звитої форми. Це пояснює факт, що на зрізах, котрі проходять через різні завитки однієї залози, можна спостерігати ніби збільшену кількість залоз.

Залозисті та залозисто-фіброзні поліпи ендометрія становили 28% усієї патології ендометрія у виконаному дослідженні (рис. 2).

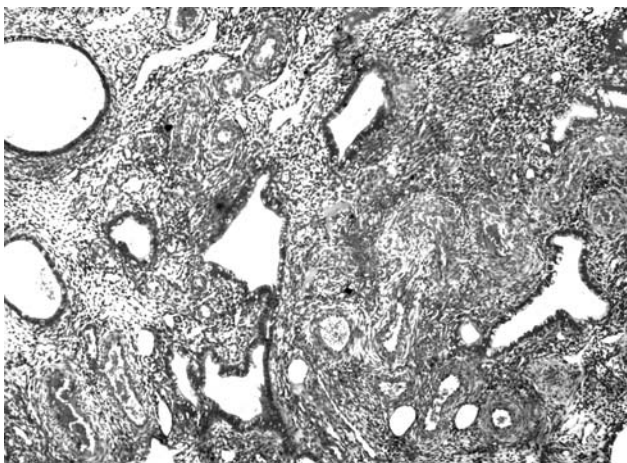


Рис. 2. Пацієнтка І. (II група). Залозисто-фіброзний поліп ендометрія, повнокров'я судин фіброваскулярного ядра. Заб. гематоксилін-еозин. Ок. 10, Об. 5.

Залози в поліпах розташовані нерівномірно, мають різні розміри та форму. Епітелій, що вкриває залози, високий призматичний, проліферативного типу, а в кистоподібних залозах – сплощений, низький призматичний. Кровоносні судини фіброваскулярного ядра поліпів мають потовщені склерозовані стінки. У стромі поліпів виявили нерівномірну лімфоцитарну інфільтрацію.

Невідповідність ендометрія хронологічному дню менструального циклу, зокрема відставання у розвитку, визначено у 34% випадків. Клітини поверхневого епітелію були циліндричними з ознаками псевдостратифікації,

залозисті структури були при цьому з ознаками відставання від хронологічного дня менструального циклу: залози були менш звивисті, діаметр їх нерівномірний (від 70 до 90 мкм), епітеліальні клітини – циліндричного типу, виявили поодинокі мітози з наявністю вакуоло (2–3 бали), ознаки повноцінної інтралюмінальної секреції не спостерігали, однак поодинокі залози ендометрію містили секрет (інтенсивність від 0 до 1 бала), що свідчить про затримку розвитку залозистих структур у цій групі.

У стромі ендометрія при цьому спостерігали зниження інтенсивності набряку (до 1 бала), що був вогнищевим, а іноді його не було зовсім. Клубки спіралеподібних артерій чітко не окреслені, явища предецидуальної реакції не визначено.

Вистілка залоз – високий циліндричний епітелій із розташованими в багато рядів овальними або дещо витягнутими ядрами, багатими на хроматин, апікальний край клітин чітко окреслений.

Цитоплазма епітеліальних клітин базofilна, траплялись також клітини із світлою прозорою цитоплазмою. Стромальні клітини дещо збільшені в об'ємі, з ацидофільною цитоплазмою. Мітотична активність у клітинах залоз і стромі становила 1–2 бали.

Дослідження біопсійних зразків ендометрія за допомогою скануючої електронної мікроскопії виконали згідно з розробленим протоколом.

Під час дослідження ендометрія за наявності простої гіперплазії (I група) виявили патологічні зміни циліарних клітин у поверхневому епітелії, зокрема збільшення кількості цих клітин, нерівномірний їх поділ (рис. 3), а також гіперплазію війок у порівнянні з ендометрієм II та III груп.

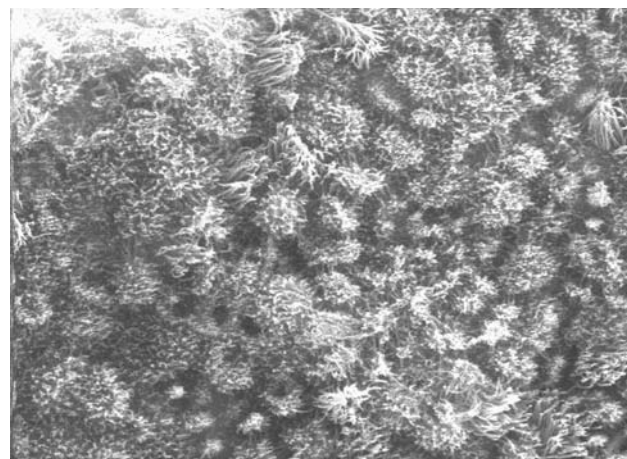


Рис. 3. Пацієнтка К. (I група). Проста гіперплазія ендометрія. Рясні, гіперплазовані циліарні клітини, відсутність формування ютеродомів. СЕМ. 36. 2000.

Ізольовані патологічні зміни циліарних клітин в ендометрії I групи спостерігали в 52%, поєднання патології війчастих клітин із порушенням формування піноподій – 36%, ізольована патологія формування піноподій – 12%.

У II групі в поверхневому епітелії ендометрія за наявності поліпів спостерігали патологічні зміни війчастих клітин у поєднанні із порушенням формування піноподій – 44%, ізольовані порушення кількості та якості циліарних клітин – 38%, відокремлена патологія формування піноподій – 18% (рис. 4).

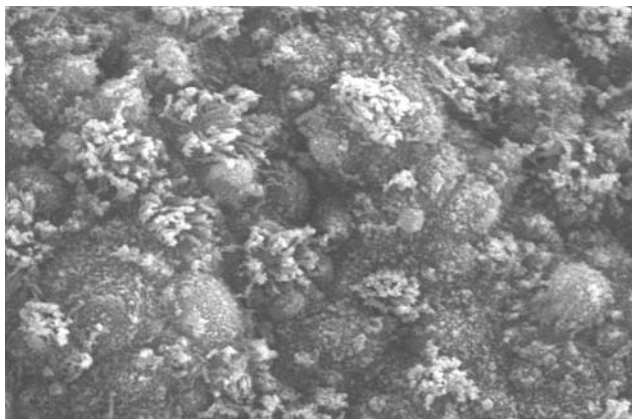


Рис. 4. Пацієнтка І. (II група). Залозисто-фіброзний поліп ендометрія. Дисхроноз розвитку піноподіальних структур. СЕМ. 36. 2000

У III групі не визначили патологічних змін циліарних клітин, однак спостерігали ізолювану патологію формування піноподій, а саме відсутність формування ютеродомів на будь-якій із стадій розвитку в обох біопсійних зразках (76%) та затримку розвитку піноподій (поява піноподій, що розвиваються, тільки у II біопсійному зразку) (24%) (рис. 5, 6).

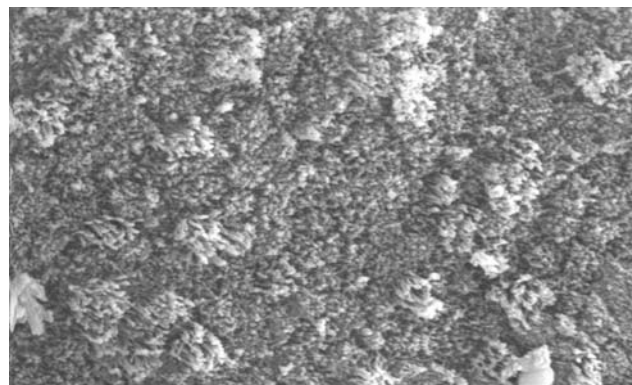


Рис. 5. Пацієнтка Д., (III група). Відставання розвитку ендометрія від хронологічного дня менструального циклу. Перший біопсійний зразок – картина «до початку формування піноподій». СЕМ. 36. 2000.

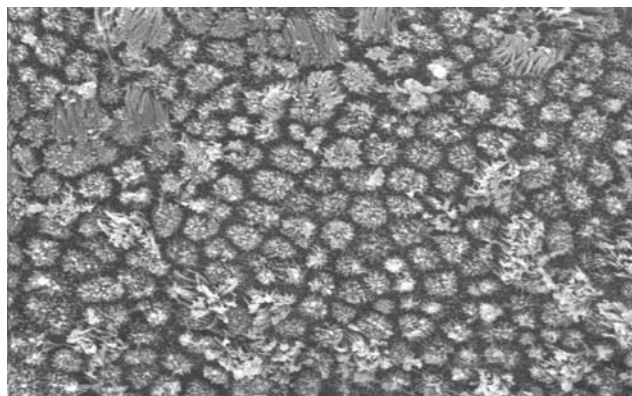


Рис. 6. Пацієнтка Д. (III група). Відставання розвитку ендометрія від хронологічного дня менструального циклу. Другий біопсійний зразок – відсутність ознак формування та росту піноподій. СЕМ. 36. 2000.

#### Відомості про автора:

Парницька О.І., к. мед. н., ст. науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України», E-mail: ilyina29@yandex.ru.

Отже, протягом скануючої електронної мікроскопії поверхневого епітелію слизової матки в I та II групах пацієток із невдалими спробами екстракорпорального запліднення та наявністю гіперпластичних процесів ендометрія спостерігали не лише порушення формування «імплантаційного вікна», але й ізолювані або поєднані патологічні зміни циліарних клітин, на відміну від ендометрія жінок III групи.

#### Висновки

У жінок I групи ізолювані патологічні зміни циліарних клітин у поверхневому епітелії ендометрія спостерігали в 52%, поєднання патології в'їчастих клітин із порушенням формування піноподій – 36%, ізолювана патологія формування піноподій – 12%.

У II групі в поверхневому епітелії ендометрія за наявності поліпів визначено патологічні зміни в'їчастих клітин у поєднанні з порушенням формування піноподій – 44%, ізолювані порушення кількості та якості циліарних клітин – 38%, відокремлена патологія формування піноподій – 18%.

У III групі не встановили патологічних змін циліарних клітин у порівнянні з I та II групами, проте спостерігали ізолювану патологію формування піноподій у вигляді відсутності формування ютеродомів на будь-якій зі стадій розвитку в обох біопсійних зразках (76%) та затримки розвитку піноподій (поява піноподій, що розвиваються тільки у II біопсійному зразку) (24%).

У пацієток I та II груп із невдалими спробами екстракорпорального запліднення та гіперпластичними процесами ендометрія виявили як ізолювані, так і поєднані з порушенням формування піноподій патологічні зміни циліарних клітин, що може створювати механічну перешкоду для імплантації ембріону на стадії апоцитозу та адгезії навіть за умови своєчасного відкриття «імплантаційного вікна».

#### Список літератури

1. Агаджанова Л. Эндометриальные пиноподии как маркеры имплантации человека (обзор литературы) // Л. Агаджанова // Пробл. репрод. – 2004. – № 3. – С. 6–11.
2. Фаллер Д. Молекулярная биология клетки / Д.М. Фаллер, Д. Шилдс. – М.: Бинном, 2003. – 272 с.
3. Задорожная Т.Д. Сканирующая электронная микроскопия эндометрия у женщин с бесплодием воспалительного генеза / Т.Д. Задорожная, О.И. Ильина, И.Е. Ильин // Здоровье женщины. – 2005. – Т. 23. – № 3. – С. 128–130.
4. Acosta A. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women / A. Acosta, L. Elberg, M. Borghi // Fertil.Steril. – 2001. – Vol. 73. – № 4. – P. 788–798.
5. Aghajanova L. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium / L. Aghajanova, A. Stavreus-Evers, Y. Nicas [et al.] // Fert. and Steril. – 2003. – Vol. 79. – P. 808–814.
6. Donaghay M. Uterine receptivity: alterations associated with benign gynecological disease / M. Donaghay, B.A. Lessey // Semin.Reprod. Med. – 2007. – Vol. 25. – № 6. – P. 461–475.
7. Lessey B.A. Paracrine signaling in the endometrium: integrins and the establishment of uterine receptivity / B.A. Lessey, J.T. Arnold // Journal of Reproductive Immunology. – 1998. – Vol. 39. – № 1. – P. 105–116.
8. Nikas G. Endometrial receptivity: changes in cell-surface morphology / G. Nikas // Semin. Reprod. Med. – 2000. – Vol. 18. – P. 229–235.
9. Ozturk S. Particular functions of estrogen and progesterone in establishment of uterine receptivity and embryo implantation / S. Ozturk, R. Demir // Histol. Histopathol. – 2010. – Vol. 25. – № 9. – P. 1215–1228.