УДК 618.14-002:618.39-021.3-079.7

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ЭНДОМЕТРИЯ КАК ОСНОВА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ БЕСПЛОДИЯ

Широкова Д.В.[1], Калинина Е.А.[1], Полина М.Л.[1], Петров Ю.А.[2]

[1]ГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая,, e-mail: rudn@rudn.ru
[2]ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» 344022 г. Ростов-на-Дону, пер.Нахичеванский,29.,e-mail:okt@rostgmu.ru

Выполнено исследование гистологической структуры эндометрия 460 женщин с бесплодием различного генеза. Установлена низкая частота соответствия его архитектоники фазе «имплантационного окна» (9,1%) с наибольшей частотой дисхронизма пролиферации эндометрия (38,5%) за счет когорты с сочетанным бесплодием. Хронический эндометрит (ХЭ) выявлен у 37,2% женщин с выделением его гистероскопических типов, подтверждаемых морфологически: гипопластического (47,4%) и гиперпластического (52,6%). По результатам гистологического исследования секреторные преобразования эндометрия при ХЭ отсутствовали, микробная контаминация преобладала при заключении о дисхронизме пролиферации слизистой (у 84,8% женщин с гиперпластическим типом) и гипопластичности (у 62,7% - с гипопластическим). После комплексной дифференцированной терапии бесплодия с учетом гистологических особенностей эндометрия нормализации состояния, адекватного «фазе имплантации», удалось достигнуть у 96,9% женщин, при базовом курсе реабилитации – только у 62,8%.

Ключевые слова: бесплодие, гистологическое исследование эндометрия, дисхронизм пролиферации эндометрия, типы хронического эндометрита, микробная контаминация эндометрия

MORPHOFUNCTIONAL VARIABILITY ENDOMETRIAL AS THE BASIS DIFFERENTIATED TREATMENT OF INFERTILITY

Shirokova G.V.[1], Kalinina E.A.[1], Paulina M.L.[1], Petrov Y.A.[2]

1 GBOU VPO "Russian Peoples' Friendship University, 117198, Moskou, Ul. Maclay, 6, e-mail: rudn@rudn.ru
2GBOU VPO "Rostov State Medical University" 344022, Rostov-on-Don, per.Nahichevansky 29. e-mail: okt@rostgmu.ru

The research of the histological structure of endometrial 460 women with infertility of various origins. Set at a low rate of compliance of its architectonic phase "implantation window" (9.1%) with the greatest frequency diskhronizma proliferation of the endometrium (38.5%) due to the combined cohort with infertility. Chronic endometritis (CE) was detected in 37.2% of women with the release of his hysteroscopic types confirming morphologically: hypoplastic (47.4%) and hyperplastic (52.6%). According to the results of histological examination secretory transformation of the endometrium while ChE absent microbial contamination prevailed at the conclusion of the diskhronizme mucosal proliferation (at 84.8% of women with hyperplastic type) and hypoplastic (at 62.7% - with hypoplastic). After a comprehensive differentiated treatment of infertility based on histological features of endometrial normalization of adequate "implantation phase", was achieved at 96.9% of women in the basic course of rehabilitation - only 62.8%

Keywords: infertility, histological examination of the endometrium, endometrial proliferation diskhronizm, types of chronic endometritis, endometrial microbial contamination

Векторизация репродуктивной медицины в рамках сложившейся демографической ситуации (низкой рождаемости, непрестанного снижения количества детей и подростков) должна быть направлена на разрешение дискуссионных аспектов проблемы бесплодия. Удручающим показателям инфертильности по РФ, не отражающим всей катастрофичности ситуации, вторит мировая статистика, согласно которой проблемы с зачатием испытывают более 100 млн супружеских пар [1, 2,5].

Роль инфекциологии в генезе традиционно выделяемых типов бесплодия (трубно-перитонеальный фактор, эндокринный, сочетанный, эндометриоз-ассоциированный, мужской) остается неоднозначной, вопреки обсуждению в многочисленных научных исследованиях. Возрастание частоты бесплодия и хронической тазовой боли при половых инфекциях и воспалительных заболеваниях органов малого таза имеет четкие предпосылки: снижение барьерной функции нижних отделов генитального тракта (недостаточность локальных факторов иммунной защиты) формируется как логическое следствие неоправданного применения дезинфектантов и антибиотиков, обусловливающих радикальную перестройку вагинального биотопа и фармакологическую резистентность микробов. Постсанационная элиминация представителей нормальной влагалищной флоры в условиях механического воздействия (внутриматочных манипуляций) способствует повреждению биологических «затворов» и активации условно-патогенной флоры, с дальнейшей реализацией микробной инвазии эндометрия в условиях иммунодефицита. Губительна не только травма эндометрия, но и длительное ношение внутриматочного контрацептива, все чаще ассоциируемого с прогредиентным ростом вагинозассоциированных инфектов [3,10].

Традиционное представление об инфекционном триггере воспалительного процесса в эндометрии дополнило мнение, что выраженность сопутствующего ему дисбаланса гормональной и иммунной систем определяется совокупностью факторов - состоянием макроорганизма, массивностью инфицирования и вирулентностью инфекта [4]. Степень корреляции биологической активности микробного фактора – колонизации органов репродуктивного тракта, инфицированности или инициации хронического эндометриального воспаления, особенно на фоне диагностически значимых титров условно-патогенной флоры, малоизучена и требует фундаментального анализа причастности выявленных нарушений к развитию бесплодия.

Причины, сопряженные со сложностью микробиологической диагностики, выявления персистирующего в эндометрии микробного агента и уточнения причастности представителей вагинальной и цервикальной флоры к его инфицированию многообразны.

Активное обсуждение роли хронического эндометрита (ХЭ) как причины невынашивания, в том числе неразвивающейся беременности (НБ), неудачных попыток вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [3,6] указывает на необходимость комплексного анализа механизмов генеза репродуктивных потерь и инфертильности, характера эндометриальных повреждений и нарушения локальных биологических сигналов. Сообщается о персистенции в эндометрии более 20 видов представителей условно-патогенной флоры: 129 штаммов, в том числе облигатных анаэробов - 61,4% (бактероиды, эубактерии, пептострептококки и др.), микроаэрофилных бактерий - 31,8%, факультативных

анаэробов - 6,8% (стрептококки группы В и Д, эпидермальный стафилококк). Однако потенциально неблагоприятная роль персистирующих в эндометрии инфектов дискутируется – от инфицированности эндометрия до гистологической верификации ХЭ - у 73,1% женщин с невынашиванием и 30,8% - с НБ [4]. Замечания о некоторой субъективности гистологического исследования как метода прогнозирования рецептивности эндометрия при бесплодии определили приоритет в оценке состоятельности фазы «окна имплантации» экспрессии стероидных гормонов. Однако нельзя не указать на неоднородность результатов иммуногистохимического исследования, вероятно, ввиду различий систем количественной оценки рецепторов [7].

Несмотря на утверждения о неполноценности циклических преобразований слизистой в присутствие воспалительных заболеваний органов малого таза, имеются данные о соответствии в присутствие бактериальной обсемененности морфологической структуры эндометрия фазе менструального цикла [1], и наоборот, патологической реакции слизистой при иммуногистохимической оценке рецепторного статуса [7].

Неоднозначность данных о наличии и характере патоморфологии эндометрия при его микробной контаминации препятствует концентрации лечебно-диагностических «усилий» на преодолении инфекционно-воспалительных причин бесплодия.

Цель исследования: оценить характер морфологической структуры эндометрия у женщин с бесплодием, в том числе - при его микробной контаминации и хроническом эндометрите.

Материалы и методы исследования. С учетом поставленной цели проспективно обследован контингент бесплодных женщин (n=460); в зависимости от генеза инфертильности выделены группы: I (n=126) – с трубно-перитонеальным бесплодием (ТПБ), II (n=98) – эндометриоз-ассоциированным, III (n=77) – эндокринным, IV (n=159) – сочетанным (трубно-перитонеальный фактор, миома матки, доброкачественные опухоли и опухолевидные образования яичников).

Выполнено: микробиологическое исследование отделяемого цервикального канала, аспирата из полости матки, ДНК диагностика возбудителей заболевания, гистероскопическое (офисная гистероскопия), патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование эндометрия. Выделение гистероскопических типов ХЭ – гиперпластического и гипопластического осуществлялось на основании группирования признаков (толщины, окраски и структуры слизистой, выраженности сосудистого рисунка) в присутствие хронического воспалительного процесса с последующим гистологическим анализом соскоба эндометрия на 7-10 день менструального цикла (м.ц.)(в среднюю и позднюю фазу пролиферации эндометрия).

С целью оценки соответствия состояния эндометрия фазе м.ц. выполняли его биопсию в фазу «имплантационного окна» (пайпель-биопсия с помощью аспирационной кюретки Pipelle de Cornier на 20-22 день м.ц.). Материалы биоптатов фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, заключали в парафин, делали срезы толщиной 5 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону в эпителии и строме эндометрия («Dako», Дания) проводили в ступенчатых парафиновых срезах пероксидазно-антипероксидазным методом с демаскировкой антигенов в СВЧ-печи. Для определения маркера плазматических клеток CD138 использовали моноклональные антитела «Novocastra Lab. Ltd» (Великобритания).

Комплекс реабилитации включал традиционные компоненты схемы лечения хронических воспалительных заболеваний органов малого таза (ХВЗОМТ) - эрадикационную противомикробную терапию, противоспаечную, улучшение трофики эндометрия), так и патогенетически обусловленную типом ХЭ (циклоферон, виферон, плазмаферез) - при гиперпластическом; иммуноактивирующую терапию - гипопластическом (гоновакцину или пирогенал через день до повышения температуры тела). Курс антибактериальной терапии с целью элиминации инфекционного агента проводили с учетом чувствительности выявленной микрофлоры к антибиотикам, при необходимости назначали противовирусные препараты. С целью устранения нарушений микроархитектоники и восстановления рецептивного профиля эндометрия в зависимости от выявленных стигм его повреждения на втором этапе в схему комплексной реабилитации включали заместительную гормональную терапию, фитоэстрогены, дидрогестерон, индинол (3-6 месяцев). Эффективность реабилитационных мероприятий оценивали через месяц (после базового курса – частичная реабилитация) и шесть (комплексная восстановительная терапия) с контролем элиминации инфекционных инфектов, восстановления микроценоза влагалища и микроархитектоники эндометрия.

Для статистической обработки результатов исследования в качестве основного программного обеспечения использовали пакет прикладных программ STATISTICA for Windows, Release 9.0 компании StatSoft Inc., США (2010). Все полученные данные были обработаны методом вариационной математической статистики. Достоверность различий оценивали, используя t-критерий Стьюдента и $\chi 2$. Различие между сравниваемыми величинами признавалось достоверным при $p<0,05$ ($t>2,0$).

Результаты исследования и их обсуждение

При детализации гистологических характеристик состояния эндометрия в фазу «имплантационного окна» его соответствие фазе секреции было установлено только у 9,1%

всех женщин с бесплодием. Позднюю стадию фазы пролиферации определяли у 44,9% женщин с эндометриозом, 29,6% – с сочетанным бесплодием ($p<0,05$) и в четыре раза реже – с ТПБ (11,1%)($p<0,05$). При эндокринном бесплодии аналогичное морфологическое заключение отличало 28,6% женщин. Дисхронизм пролиферации эндометрия (неполноценная фаза секреции с асинхронным развитием желез в стадии поздней пролиферации и начала ранней секреции) выявлен у 23,5% женщин с эндометриозом, трети (в среднем, 32,9%) – с ТПБ и эндокринным бесплодием, 47,2% ($p<0,05$) – с сочетанным бесплодием. Гипоплазия эндометрия преобладала при ТПБ (46,0%), что достоверно чаще, чем при сочетанном бесплодии (13,8%)($p<0,05$). Подобную гистологическую картину также наблюдали у 31,6% женщин с эндометриозом и 26,0% – с эндокринным бесплодием.

Иммуногистохимическая оценка рецептивного статуса указывала на разнонаправленный характер повреждений микроархитектоники эндометрия у 90,9% больных с бесплодием, выраженный в той или иной степени.

При гистероскопическом исследовании у 37,2% бесплодных женщин был выявлен и впоследствии подтвержден морфологически ХЭ, с выделением его гипопластического (47,4%) и гиперпластического (52,6%) типа. Полученные результаты обосновывают проведение гистероскопии при бесплодии, что диссонирует с рекомендациями Европейского общества репродукции человека и эмбриона о целесообразности данного исследования только при сомнениях в наличии внутриматочных структурных нарушений [8]. Подтверждение адекватности заключений о наличии ХЭ получено при иммуногистохимической маркировке биоптатов с выделением CD 138 – маркера плазматических клеток.

Детальное гистологическое изучение эндометрия бесплодных женщин с ХЭ показало отсутствие заключений о наличии образцов с секреторными изменениями на 21-22 день м.ц. Поздняя стадия фазы пролиферации наблюдалась только при гиперпластическом типе - у двух третей (63,3%), заключение о гипофункциональном эндометрии – только при гипопластическом его варианте (72,8%). Дисхронизм пролиферации при гиперпластическом типе ХЭ выявляли в 1,3 раза чаще (36,7% и 27,2% соответственно), чем при гипопластическом, при котором доминировали изменения, свойственные гипофункции эндометрия (72,8%).

Показатель микробной контаминации эндометрия составил 52,2%, причем в 62,9% образцов выявлен рост условно-патогенных микроорганизмов, в 13,3% - Ureaplasma urealyticum, 5,8% - Chlamydia trachomatis, в 18% - Herpes simplex virus.

Изучение характеристик эндометрия показало минимальное соответствие образцов слизистой матки фазе секреции, причем при его микробной контаминации в полтора раза

меньше, чем при стерильных образцах (7,5% против 11,4%), однако без достоверных различий между группами. Полноценные секреторные изменения при инфицировании слизистой встречались только в отдельных группах, однако реже, чем в отсутствие микробной обсемененности: в четыре раза – при сочетанном бесплодии (4,8% против 18,5%, $p<0,05$), ТПБ – в два раза (8,6% против 15,4%). Количество заключений о поздней стадии фазы пролиферации в образцах биоптатов достоверно преобладало при неинфицированной слизистой во всех группах, кроме контингента с ТПБ (11,0%): при эндометриозе – в пять раз (51,0%, $p<0,05$), миоме матки – практически в четыре раза (37,2%, $p<0,05$), сочетанном – в шесть раз (59,3%, $p<0,05$).

При микробной контаминации эндометрии количество заключений о соответствии его морфологии поздней стадии фазы пролиферации было наименьшим у женщин с сочетанным бесплодием - практически в четыре раза в сравнении с показателем при неинфицированной слизистой (59,3% и 13,3% соотв., $p<0,05$). Дисхронизм пролиферации в образцах эндометрия при его инфицировании наблюдали преимущественно при сочетанном бесплодии: 56,2% против 3,7% ($p<0,05$). Суммарный показатель данного морфологического феномена преобладал при его микробной контаминации (54,2%, против 21,8%, $p<0,05$). Заключение о гипофункции слизистой матки при инфицированном эндометрии достоверно преобладало у женщин с эндометриозом – в 2,5 раза (44,7% против 19,6%, $p<0,05$). Аналогичная тенденция была выявлена при эндокринном бесплодии (32,4% против 20,9%), однако различия не были статистически значимыми. Частота подобного морфологического заключения была одинаково высока при ТПБ, независимо от факта микробной контаминации слизистой (42,9% и 47,3%) и в группе с сочетанным бесплодием (18,5% и 11,4%).

Гистологическое исследование слизистой матки, выполненное с целью дифференциации выбора терапии ХЭ у больных с бесплодием, показало ее мозаицизм в зависимости от наличия микробной контаминации. Позднюю стадию фазы пролиферации с инфицированием эндометрия наблюдали только при гиперпластическом типе хронического воспалительного процесса (43,8%), стерильную слизистую матки – в 1,3 раза чаще (56,1%). Микробная контаминация эндометрия у женщин с дисхронизмом пролиферации при гиперпластическом типе ХЭ встречалась практически в четыре раза чаще (84,8%), чем при гипопластическом (22,7%)($p<0,05$). Неинфицированную слизистую эндометрия при подобном морфологическом феномене обнаруживали у 15,2% женщин с гиперпластическим типом ХЭ и 77,3% – с гипопластическим. Суммарно, частота дисхроноза в микробно контаминированных эндометриальных образцах женщин с ХЭ составила 60,0%, стерильной слизистой - 40,0%. Гипофункция эндометрия в инфицированных его образцах встречалась практически вдвое чаще, чем у женщин без микробной обсемененности слизистой (62,7% и

37,3% соответственно), причем только при гипопластическом типе ХЭ. В целом, именно при данном варианте воспалительного процесса и контаминации слизистой матки инфектами вероятность гипофункциональной реакции отмечали практически в три раза чаще, чем дисхронизма пролиферации (62,7% против 22,7%, $p<0,05$).

Морфологическое исследование слизистой матки женщин с бесплодием показало несоответствие ее архитектоники фазе «имплантационного окна», преобладающее при эндометриальной персистенции инфектов. Подобные ассоциации чаще встречались при гипопластическом типе ХЭ и не противоречили фактам о корреляции латентного воспалительного процесса в слизистой матки с недостаточностью лютеиновой фазы, корригируемой назначением прогестерона за счет его иммуномодулирующего действия [9]. Очевидно, что детальную картину нарушений гистологической характеристики слизистой, бесспорно снижающую ее имплантационный потенциал в присутствие микробного агента, только предстоит выяснить. Наряду с уточнением роли морфологического исследования слизистой матки у контингента с бесплодием полагаем необходимым акцент на значимости прицельного взятия материала при гистероскопии – более информативного в сравнении с нередко практикуемым «слепым» забором при кюретаже слизистой матки.

Контроль излеченности ХЭ и восстановления структурно-функциональной полноценности слизистой матки при бесплодии различного генеза показал наибольшую результативность комплексной дифференцированной терапии: удалось добиться не только элиминации персистирующих эндометриальных инфектов, но и состоятельности фазы «имплантационного окна». Выявление морфологических стигм, указывающих на «остаточные» явления ХЭ, его неполную гистологическую картину после комплексной реабилитационной терапии было минимальным, преимущественно, за счет: дистрофически-атрофических повреждений эндометрия при гипопластическом типе (7,4%), очаговой гиперплазии базального слоя (6,7%) на фоне воспалительной инфильтрации стромы и эпителия (7,8%) – при гиперпластическом. При традиционной терапии ХЭ частота выявления его морфологических характеристик по результатам контрольной биопсии оказалась достоверно большей.

Сохранность ультраструктурных повреждений эндометрия отмечали после базовой восстановительной терапии, с признаками его истощения при гипопластическом типе ХЭ (нарушение экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов). В целом, после неполного курса реабилитации при бесплодии различного генеза разнонаправленная экспрессия рецепторов к стероидным гормонам (в эпителии и строме эндометрия) была отмечена у 62,8% женщин.

Принимая во внимание многоуровневость повреждений эндометрия женщин с бесплодием, отметим, что только при реализации комплексного подхода удалось добиться восстановления не только его макро-, но и микроскопических опций. Адекватную реакцию архитектоники слизистой матки, сопоставимую с «фазностью» преобразований, характерных для «окна имплантации», отмечали у 89,3% всех бесплодных женщин. Длительная реабилитация с неоднократными курсами процедур, направленных на улучшение микроциркуляции в тканях эндометрия (пелоидотерапия, физиолечение, ангиоактивные препараты, метаболический курс), потребовалась преимущественно при гипопластическом типе ХЭ с заключением о дисхронизме слизистой матки, особенно – при его исходной микробной контаминации (8,7%). Очевидно, что гистологическую вариабельность эндометрия, особенно в присутствие персистирующих микробных агентов следует рассматривать как маркер нарушения реализации гормонального эффекта, что подтверждалось результатами иммуногистохимии.

С целью профилактики реинфекции эндометрия, возможной за счет активации пула условно-патогенной флоры проводили восстановление нормоценоза гениталий с достижением адекватной концентрации лактобактерий (10^6-10^8) у 93,0% женщин.

Восстановление пластических ресурсов эндометрия через 6 месяцев констатировали у 96,9% женщин после комплексной персонифицированной терапии с учетом морфологических и иммуногистохимических маркеров его повреждения.

Выводы. Структурно-функциональная несостоятельность эндометрия бесплодных женщин, с наибольшей частотой его несоответствия гистологической характеристики секреторной фазе («окна имплантации») при длительной и нередко бессимптомной персистенции инфектов в эндометрии устраняется только после комплексной дифференцированной терапии. Реализация при бесплодии только базового восстановительного комплекса, несмотря на достижение элиминации инфектов, отличается резидуальными нарушениями микроархитектоники эндометрия с частичным восстановлением его пластических ресурсов.

Список литературы

1. Краснопольская К. В. Клинические аспекты лечения бесплодия в браке. Диагностика и терапевтические программы с использованием методов восстановления естественной фертильности и вспомогательных репродуктивных технологий: руководство / К. В. Краснопольская, Т. А. Назаренко. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2013. – 376 с.
2. Петров Ю.А. Семья и здоровье. – М.: Медицинская книга, 2014. -312 с.

3. Петров Ю.А. Результаты иммуно-микробиологической составляющей в генезе хронического эндометрита // ВестникВолгГМУ. -2011. –Т.92. -№3, - С.50-52.

4. Петров Ю.А. Микробиологические детерминанты хронического эндометрита // Известия высших учебных заведений Сев.Кавк. регион. Серия: Естественные науки. – 2011. - №6. – С.110-113.

5. Петров Ю.А., Сависько А.А., Петрова С.И. Здоровая семья – здоровые дети. – М.: Медицинская книга. – 2010. – 328 с.

6. Неразвивающаяся беременность / В. Е. Радзинский, В.И. Димитрова, И.Ю. Майскова - Москва: ГОЭТАР-МЕД. – 2009. - 200 с.

7. Myers E.R. NICHD National Cooperative Reproductive Medicine Network. Interobserver and intraobserver variability in the histological dating of the endometrium in fertile and infertile women / E.R. Myers, S. Silva, K. Barnhart // Fertil Steril. - 2004. - Vol. 82. - P. 1278–82.

8. Palshetkar N. Role of Hysteroscopy Prior to Assisted Reproductive Techniques / N. Palshetkar, H. Pai, S. Pisat // J Gynecol Endosc Surg. – 2009. – V. 1. – N 1. – P. 27–30.

9. Szekeres–Bartho J. Progestagen therapy for recurrent miscarriage / J. Szekeres–Bartho, J. Balasch // Hum Reprod Update. – 2008. – V. 14. – N 1. – P. 27–35.

10. Vaginal and endocervical microorganisms in symptomatic and asymptomatic non-pregnant females: risk factors and rates of occurrence / C. Tibaldi, N. Cappello, M.A. Latino [et al.] // Clin Microbiol Infect. - 2009. - V. 15. – N 7. – P. 670-9.

Рецензенты:

Линде В.А., д.м.н., профессор, директор Ростовского научно-исследовательского института акушерства и педиатрии, г. Ростов-на-Дону;

Авруцкая В.В., д.м.н., главный научный сотрудник, руководитель поликлинического отделения Ростовского научно-исследовательского института акушерства и педиатрии, г. Ростов-на-Дону.