

## РОЗДІЛ 4. МЕДИЦИНА

### §4.1 ІМУНОМОРФОЛОГІЧНІ ПАРАЛЕЛІ СТАНУ ЕНДОМЕТРІЮ ТА ЕНДОМЕТРІОМ ЯЄЧНИКІВ У БЕЗПЛІДНИХ ЖІНОК ІЗ ЗОВНІШНІМ ГЕНІТАЛЬНИМ ЕНДОМЕТРІОЗОМ

**Вступ.** Останні роки суттєво доповнені знання про ендометріоз, але точна причина цієї хвороби залишається невідомою, і, незважаючи на спірність наукових обґрунтувань прямого зв'язку між безпліддям та ендометріозом, проте це клінічно доведено та підтверджується багатьма дослідженнями [1].

Значно поглибились знання про імунологічні, гормональні, генетичні та молекулярні особливості гетеротопічного ендометрію у жінок з безпліддям.

Складна взаємодія між гормональною активністю, менструальним циклом, генетичним профілем, запальними та імунологічними факторами визначає фенотипічний прояв ендометріозу [1].

Вплив та механізми регуляції рівня естрогену на жіночі репродуктивні органи досліджено, у тому числі характер експресії та генна регуляція рецепторів естрогену, а значення естрогену у жіночій репродукції загальновідоме.

Регуляція естрогенів та андрогенів в периферичних тканинах показана Gibson DA, Simitidellis I, Collins F, Saunders РТК (2018) як ключова щодо функціонування ендометрію як під час нормального менструального циклу, так і при ендометріозі [2], проте немає даних про їх роль у перехресній взаємодії всіх типів клітин (судинними, імунними, епітеліальними та стромальними) з відповідними рецепторами, розмежуванні їх щодо метаболічних та

запальних процесах.

Неактивні стероїди, що присутні у крові, використовуються у тканинах (зокрема, ендометрії, яєчнику) та проходять метаболізм для формування місцевих фізіологічних та патологічних ефектів, відповіді щодо впливу на активацію та інгібіції стероїдів через гормональні рецептор-залежні процеси.

Відомо, що ендометріоз – це естроген-залежне захворювання, на підтвердження цієї теорії наводять приклади клінічного прояву хвороби у репродуктивному віці та пригнічення ознак ендометріозу у період менопаузи (проте, дослідження Гончаренко Г.Ю. (2019) довели клінічну значущість ендометріозу й у менопаузі [3]), ряд інших дослідників наголошують на зменшенні ризику виникнення ендометріозу у жінок з низьким рівнем естрогену (спортсменки, курці), а серед факторів ризику перераховують раннє менархе, ожиріння, гіперестрогенемію [4].

Існують повідомлення про різницю в експресії генів в нормальному та еутопічному ендометрії в ранній стадії фази секреції, оскільки є припущення про зміну переходу фази проліферації у фазу секреції у жінок з ендометріозом [5], проте ці ж автори наголошують на протиріччя результатів відносно різниці в експресії генів прогестерону в еутопічному ендометрії жінок з ендометріозом та без нього.

Дослідження Mehasseb MK, Panchal R, Taylor AH (2011) показали, що експресія естрогенових рецепторів альфа в еутопічному та ектопічному ендометрії жінок з adenоміозом значно відрізняється в середній стадії фази секреції, а рецепторів естрогену бета була значно підвищена у залозах adenomіозу на протязі всього менструального циклу [6]. Щодо рецепторів прогестерону, то їх експресія була нижча у вогнищах ектопічного ендометрію і подібна до рівня

експресії базального слою ендометрію. Результати цих досліджень автори пропонують взяти за підгунтя неповного терапевтичного ефекту прогестинів щодо менструальних симптомів.

Роль андрогенів не до кінця вивчена. У експериментах доведений вплив андрогенів на фолікулогенез, оскільки андрогени експресуються у фолікулах, що розвиваються, а виключення андрогенових рецепторів у самок щурів призводить до передчасної яєчникової недостатності [7].

Відомо, що андрогени та рецептори андрогенів необхідні не лише для забезпечення чоловічої репродуктивної функції, а важливі й у жіночій репродуктивній фізіології [8]. Вимірюванням внутрішньотканинних концентрацій стероїдів методом рідинної хроматографії та мас-спектрометрії доведено, що роль андрогену в ендометрії полягає і у дії як активних лігандів для рецепторів андрогенів, і я субстрат для біосинтезу естрогенів [9].

Розподіл та рівень андрогенових рецепторів досліджено у жіночих репродуктивних тканинах. Продукція андрогенів у жінок залежить від наднирників та експресії головних ферментів у ендометрії, що у свою чергу впиває на біосинтез та перетворення андрогенів у тканинах [10].

На важливості пошуку впливу естрогенових та андрогенових рецепторів на функції ендометрію з урахуванням внутрішньокринного метаболізму для розробки нових рецептор-селективних ліків при лікуванні ендометріозу наголошують Douglas A Gibson, Ioannis Simitsidellis, Frances Collins and Philippa T K Saunders [2] та вважають цей напрямок багатообіцяючим.

Cloke B, Christian M. довели, що передача сигналів андрогенів відіграє вирішальну роль у регуляції функцій ендометрію, що стосуються імплантациї та вагітності, а саме,

диференціюванні стромальних клітин ендометрію у децидуальні клітини [9]. Також підкреслено, що зміна циркулюючих андрогенів під час циклу у жінок репродуктивного віку вказує на роль передачі сигналів андрогенів як компонента нормальної фізіології ендометрію, а її порушення повязане з безпліддям.

Проте щодо ендометрійдних кіст яєчників у жінок з безпліддям, нами не віднайдено даних про комплексні імуноморфологічні дослідження ендометрію яєчників та ендометрію, визначення стану їх рецепторів до естрогену, прогестерону та андрогену, що і обумовило актуальність дослідження, визначило мету та методи.

Мета роботи: встановити імуноморфологічні особливості тканини ендометрію яєчників та еутопічного ендометрію жінок з безпліддям для визначення ланок патогенезу та оцінки їх прогностичного та діагностичного значення.

**Виклад основного матеріалу.** Матеріали і методи. Дослідження проводили на клінічній базі кафедри акушерства та гінекології №1 ОНМедУ, у ЦРВМ (УК) ОНМедУ та гінекологічному відділенні БМЦ ОНМедУ (м. Одеса). У програму дослідження всього було включено 130 жінок, 50 жінок основної групи з ендометріомами яєчників, яким було запропоновано авторський спосіб лікування, 50 жінок групи порівняння з ендометріомами яєчників, яким було проведено лікування відповідно до діючого протоколу, та контрольна група – 30 жінок, які проходили обстеження у репродуктивному центрі та звернулись через чоловічий фактор безпліддя у парі. Всі пацієнтки були комплексно обстежені відповідно до вимог чинних клінічних протоколів, регламентованих наказами МОЗ України №582 від 15.12.2003 та №676 від 31.12.2004.

Нами патогістологічно досліджено операційний матеріал – тканина 20 ендометріом яєчників жінок, які обстежені та отримували комплексне лікування на базі Університетської клініки Одеського національного медичного університету в період 2015 по 2018 р., віком 20-40 років з безпліддям та їх же пайпель-біоптати ендометрію, взятого на 18 - 20 день менструального циклу відповідно до критеріїв Нойєса [10].

Виконано стандартне патогістологічне дослідження (макроскопічне та мікроскопічне дослідження). Для імуногістохімічного фарбування використані поліклональні антитіла Mouse Anti Human Progesteron Receptor, Mouse Anti Human Estrogen Receptor 1 рецептор альфа та Mouse Anti Human Androgen Receptor в розведенні 1: 200. Візуалізація реакції з використанням систем детекції Reveal Polyvalent HRP-DAB Detection System та наступним дофарбовуванням гематоксиліном Майера. Оцінку результатів ІГХ-реакції проводили з використанням світлового мікроскопа Leica (Німеччина) DM 750. Зовнішнім контролем якості була тканина молочної залози.

Для оцінки експресії рецепторів естрогену, прогестерону та андрогену використали шкалу: 0-4% - негативна експресія; 5-20% - низька; 21-50% - помірна; > 50% - висока.

Статистичний аналіз результатів дослідження виконано за допомогою програми Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Результати та обговорення. Вибірка була стандартизована за віковими та клінічними параметрами. Віковий склад: 22-39 років, середній вік –  $30,5 \pm 8,5$  років. Групою порівняння були жінки без гінекологічної патології, середній вік –  $28,6 \pm 3,5$  років.

Середня тривалість захворювання коливалась у межах

від 2 до 7 років і в середньому склада 4,6 ± 2,2 років. Первина безплідність зустрічалась у 76% хворих, а у 34% – вторинна безплідність.

З клінічних проявів захворювання найчастіше пацієнтки мали скарги на хронічні тазові болі у 62% пацієнток, дисменорею – у 56%, диспареунію – у 41%. Водночас, у 17% пацієнток (крім безпліддя) інші прояви захворювання були відсутні. Серед подружніх пар з чоловічим фактором безпліддя вказані скарги не були виявлено.

Ендометрійдні кісти були виявлені у 35% випадків при ультрасонографії, що виконувалась всім пацієнткам, використовуючи трансабдомінальний та трансвагінальний датчики. Причому ендометрійдні кісти з однієї сторони було діагностовано у 72% випадків, в 28% - двосторонні. Гістологічно у всіх випадках діагноз був підтверджено. Макроскопічно ендометрійдні кісти були округлої форми, з зовнішньою поверхнею з численними вогнищами злукового процесу, мали щільну капсулу від 0,2 до 0,9 см завтовшки. Нерідко капсула ендометрійдних кіст була з'єднана злуковим процесом із матковими трубами, серозним покривом прямої кишки, задньою поверхнею матки, очеревиною матково-ректальної заглибини.

Залежно від експресії рівня естрогенових, прогестеронових та андрогенових рецепторів в тканинах, випадки були розділені на чотири групи: (1) з високим рівнем експресії, (2) помірним рівнем і (3) низьким або (4) негативним рівнем експресії.

Дослідження довело присутність рецепторів естрогену як у клітинах строми, так і залоз еуточного ендометрію, що погоджується з даними інших дослідників, зокрема, Курик О.Г. і Каленської О.В. (2014) та Афиногенова Е. А., Черстый Е. Д. (2016) [11, 12]. Щодо кількісної оцінки реакції, то було

встановлено, що 8 випадках (44,45%) з 18 була слабка реакція, у 6 випадках – помірна (33,33%), у 4 (22,22%) висока. В ектопічних вогнищах ендометрійдних кіст яєчників було у 9 випадках з 18 (50%) верифіковано слабку експресію та в 4 (22,22%) – помірну. Високої експресії не було, проте в 5 (27,78%) випадках вона була відсутня.

Тобто (і це певною мірою відповідає даним Коган Е. А., Сидорова И. С., Низяева Н. В. та ін., 2011 щодо жінок пізнього репродуктивного періоду), у переважній більшості еутопічний ендометрій хворих з ендометрійдними кістами яєчників зберіг рецепторну активність, хоча й на невисокому рівні, проте ектопічному ендометрію виявився властивим нижчий рівень експресії естрогенових рецепторів відносно еутопічного ендометрію [13].

Щодо групи порівняння, то виразну експресію естрогенових рецепторів було виявлено у 1 випадку (5,6%), помірну у 12 випадках (66,67%), а слабку у 5 (27,78%) пацієнток. Відсутньої реакції на естрогенові рецепторі в даній групі не було.

При дослідженні експресії рецепторів прогестерону в еутопічному ендометрії жінок основної групи було виявлено помірну реакцію у 10 випадках (55,56%) з 18, та слабку в 6 випадках (33,33%). У 2 випадках (11,11%) документовано виразну експресію, а випадків з негативною експресією не було.

У клітинах ектопічного ендометрію переважна більшість (12 випадків, відповідно 66,67%) мала слабку експресію рецепторів прогестерону, у 4 випадках (22,22%) помірну та у 2 випадках (11,11%) негативну. Виразної експресії рецепторів прогестерону у тканинах ендометрійдних кіст не було.

Група порівняння мала наступні результати: у 9 випадках

(50%) помірна експресія receptorів прогестерону, у 4 випадках (22,22%) виразна та в 5 (27,78%) слабка. Негативної реакції у цих випадках не було.

Дослідження довело якісну присутність receptorів андрогену переважної більшості випадків як у клітинах строми, так і залоз еутопічного ендометрію. Щодо кількісної оцінки реакції, то було встановлено, що переважна більшість (12 випадків, відповідно 66,67%) мала слабку експресію receptorів прогестерону, у 1 випадку (5,6%) помірну та у 5 випадках (27,78%) негативну. Виразної експресії receptorів андрогену у еутопічного ендометрію не було.

При дослідженні експресії receptorів андрогену в ектопічному ендометрії жінок основної групи було виявлено слабку у 14 випадках (55,56%) з 18. По 2 випадки (по 11,11%) документовано помірну та негативну експресію, а випадків з високою експресією не було.

Щодо групи порівняння, то високої експресії андрогенових receptorів не було виявлено, у 1 випадку (5,6%) виявили помірну, у 14 випадках (66,67%) негативну та у 3 випадках (16,67%) – слабку експресію андрогенових receptorів.

Нами було встановлено, що є зниження експресії receptorів естрогену та прогестерону еутопічного ендометрію жінок в ендометрійдними кістами яєчників в порівнянні з ендометрієм жінок без генітальної патології. У переважній більшості випадків обох груп, як основної, так і порівняння, у ендометрії виявлено переважно негативну та слабку експресію андрогенових receptorів. При порівнянні receptorного стану ектопічних вогнищ (стінок ендометрійдних кіст яєчників) та ендометрію жінок без генітальної патології виявлено кореляцію кількісних показників. Водночас, рівень експресії андрогенових

рецепторів еутопічного ендометрію жінок з ендометріозом був нижчим за рівень експресії у вогнищах ендометріозу.

Отримані результати узгоджуються з думкою інших дослідників [3, 11, 14] щодо наявності естрогенового та у меншій мірі прогестеронового потенціалу вогнищ ектопічного ендометрію.

**Висновки.** Встановлено, що у переважній більшості випадків вогнища ектопічного ендометрію (тканини ендометрійдних кіст яєчників) виявляють експресію рецепторів естрогену та прогестерону, що може мати значення як щодо виникнення, так і клінічних проявів та перебігу ендометрійдних кіст яєчників.

Доведено, що у жінок з ендометрійдними кістами яєчників еутопічний ендометрій має нижчий рівень експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів, ніж у жінок без генітальної патології. Виявлено зниження рівня експресії рецепторів естрогену та прогестерону ектопічного ендометрію (тканини ендометрійдних кіст яєчників) відповідно до еутопічного ендометрію.

Водночас, рівень експресії як естрогенових, так і прогестеронових рецепторів ектопічного ендометрію суттєво нижчий за рівень експресії цих же рецепторів еутопічного ендометрію жінок обох груп (основної та порівняння).

### **Список використаних джерел:**

1. Filip L, Duică F, Prădatu A, et al. Endometriosis Associated Infertility: A Critical Review and Analysis on Etiopathogenesis and Therapeutic Approaches. *Medicina (Kaunas)*. 2020; 56(9): 460. Published 2020. Sep 9. doi:10.3390/medicina56090460

2. Gibson DA, Simitsidellis I, Collins F, Saunders

PTK. Endometrial Introcrinology: Oestrogens, Androgens and Endometrial Disorders. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(10) : 3276. Published 2018 Oct 22. doi:10.3390/ijms19103276

3. Гончаренко Г.Ю. Морфологічні особливості аденоміозу в постменопаузі: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.02 / Гончаренко Ганна Юріївна ; Харків. нац. мед. ун-т. Харків, 2019. 23 с.

4. Маржевская АМ, Рищук СВ, Гусев СН, Татарова НА. Репродуктивные нарушения у больных эндометриозом: этиология, патогенез, возможности коррекции. *БОНЦ УрО РАН.* 2014; 3: URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/reproduktivnye-narusheniya-u-bolnyh-endometriozom-etiologiya-patogenez-vozmozhnosti-korreksii> (дата доступу: 16.11.2020).

5. McKinnon B, Mueller M, Montgomery G. 2018 Progesterone resistance in endometriosis: an acquired property? *Trends in Endocrinology and Metabolism* 29 535–548. (<https://doi.org/10.1016/j.tem.2018.05.006>) (дата доступу: 16.11.2020).

6. Mehasseb MK, Panchal R, Taylor AH, Brown L, Bell SC, Habiba M. Estrogen and progesterone receptor isoform distribution through the menstrual cycle in uteri with and without adenomyosis. *Fertility and Sterility.* 2011; 95: 2228 –2235.e1, 2235.e2221. (<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.02.051>) (дата доступу: 16.11.2020).

7. Kimura S, Matsumoto T, Matsuyama R, Shiina H, Sato T, Takeyama K, Kato S. Androgen receptor function in folliculogenesis and its clinical implication in premature ovarian failure. *Trends Endocrinol Metab.* 2007; Jul; 18(5):183-9. doi: 10.1016/j.tem.2007.04.002. Epub 2007 Apr 17. PMID: 17442585.

8. Rizner TL. Estrogen metabolism and action in endometriosis. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2009;

307: 8–18. (<https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.03.022>)

9. Cloke B, Christian M. The role of androgens and the androgen receptor in cycling endometrium. *Mol Cell Endocrinol.* 2012 Jul 25;358(2):166-75. doi: 10.1016/j.mce.2011.06.031. Epub 2011 Jul 2. PMID: 21745536.

10. Noyes R.W., Hertig A.T., Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Obstet Gynecol Surv.* 1950; 5: 561-564.

11. Курик ОГ, Каленська ОВ. Імуногістохімічне дослідження гормональної активності ектопічного і еутопічного ендометрія при аденоміозі. *Науковий журнал МОЗ України.* 2014; 1 (5): 100-105.

12. Афиногенова ЕА, Черствый ЕД. Активный и неактивный аденомиоз: сравнительный анализ в очагах эктопического эндометрия (экспрессия ароматазы Р-450, рецепторов эстрогенов А и В, рецепторов прогестерона). *Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук.* 2016; 20 (2): 74-82.

13. Коган ЕА, Сидорова ИС, Низяева НВ, Демура ТА, Ежова ЛС, Унанян АЛ. Клинико-морфологические и молекулярно-биологические особенности аденомиоза при сочетании его с adenокарциномой эндометрия. *Акушерство и гинекология.* 2011; 7 (2): 46-50.

14. Унанян АЛ, Сидорова ИС, Коган ЕА, Демура ТА, Демура СА. Активный и неактивный аденомиоз: вопросы патогенеза и патогенетической терапии. *Акушерство и гинекология.* 2013; 4: 10-13.