

Л.М. Семенюк

ДЕЯКІ РЕЦЕПТОРНО-ІМУННІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕНДОМЕТРІЮ ЗА РІЗНИХ ФОРМ ДОМІНУВАННЯ АНДРОГЕНІВ

*Український науково-практичний центр ендокринної хірургії,
трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, Київ*

ВСТУП

Сьогодні не викликає сумнівів поліетіологічність чинників невиношування вагітності. Проблема звичних втрат вагітності наразі набула особливого значення у зв'язку зі зростанням кількості невдач, пізніх гестаційних ускладнень, ризику інфікування, а також перинатальної патології у цієї категорії хворих [1]. До чинників із доведеною значущістю у формуванні звичних втрат вагітності належать: брак лютеїнової фази (БЛФ), гіперсекреція лютеїнізуючого гормону (ЛГ), дисфункція щитоподібної залози, декомпенсований цукровий діабет (ЦД), полікістозні яєчники, гіперпролактинемія [2]. На даний час багато аспектів діагностики та лікування ендокринної патології на тлі невиношування переглянуто. Так, до причин БЛФ відносять різноманітні порушення: гормональні (гіпотиреоз, гіперпролактинемія, гіперандрогенія), хронічний цервіцит, ендометрит, автоімунні процеси [2, 3]. Серед гормональних порушень, що призводять до переривання вагітності, значне місце посідає гіперандрогенія. Гіперандрогенію називають хворобою століття, від якої потерпають близько 10% жінок репродуктивного віку [4, 5]. Зрозуміло, що вагітність на тлі домінування андрогенів можлива лише за наявності функціонального гормонального балансу та овуляційного процесу. Частота невиношування вагітності за цієї патології складає 30-76%, а клінічним маркером є вагітність, що не розвивається [5, 6].

Ендометрій – це головна структура у реалізації імплантації. Адекватні стан ендометрію та його прегравідарна трансформація є необхідними умовами для нормального розвитку вагітності, надто в її першому триместрі [6, 7]. Є експериментальні результати вивчення впливу андрогенів на ендометрій: фракції андрогенів справляють різний вплив на процеси диференціювання клітин. Зокрема, відзначено, що тестостерон посилює процеси клітинного диференціювання, а дегідротестостерон (ДТТ) стимулює проліферативні зміни ендометрію [2]. У жінок гіперандрогенний вплив на ендометрій

вивчався лише за синдрому полікістозних яєчників [5, 6], його класичної форми, яка супроводжується хронічною ановуляцією, порушенням продукції естрадіолу, дефіцитом прогестерону, що заважає оцінювати «чистий» вплив андрогенів на ендометрій. Вивчення структури ендометрію у жінок із гіперандрогенією має надзвичайну актуальність з огляду на імунні аспекти раннього гравідарного процесу, адекватна реалізація яких дозволяє віднайти ту толерантність між генетично чужорідним ембріоном і материнським організмом, яка забезпечить повноцінність імплантаційного періоду.

Мета роботи – вивчення впливу різних форм гіперандрогенії на процеси фолікулогенезу в яєчниках, імуно-морфологічні та функціональні характеристики ендометрію, особливості системного імунітету у жінок із порушенням репродуктивної функції та овуляторним менструальним циклом.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Проведено дослідження вмісту андрогенів у крові 259 жінок фертильного віку в аспекті підготовки до безпечного материнства. Домінування андрогенів діагностовано у 139 жінок, серед них за тестами функціональної діагностики овуляторний цикл виявлено у 41 пацієнтки (29,5%), а рівень прогестерону у крові в лютеїнову фазу відповідав референтним значенням (до 18 нмоль/л). Ці жінки склали основну групу дослідження. Вік обстежених становив від 18 до 39 років. Залежно від джерела гіперандрогенії (ГА) жінок розподілили на 2 групи. До 1-ї групи увійшли 29 жінок із некласичною формою вродженої гіперплазії кори надниркових залоз (ВГКНЗ), зумовленою недостатністю 21-гідроксилази або 3- β -ол-дегідрогенази [2, 8], а також 9 жінок із синдромом інсулінорезистентності (група змішаної ГА – ЗГА). Критерієм діагностики недостатності 21-гідроксилази було підвищення вмісту в крові 17-ОН-прогестерону (понад 4,8 нмоль/л у фолікулінову фазу та понад 7,9 нмоль/л у лютеїнову фазу циклу) [9]. Недостат-

ність 3- β -ол-дегідрогенази визначали за підвищеного рівня дегідроепіандростерону (ДГЕА – понад 25 нмоль/л) і нормального рівня андростендіону (А) [10]. Синдром інсулінорезистентності діагностували за наявності нормоглікемії, гіперінсулінемії натще (понад 25 мкМ/мл) або після навантаження глюкозою (понад 40 мкМ/мл) [7]. До 2-ї групи увійшли жінки з підвищеним вмістом у крові лише ДГТ і нормальними рівнями інших андрогенів, що свідчить про периферичне походження ГА (ПГА).

Групу контролю склали 30 жінок фертильного віку, середній вік яких становив у середньому $29,2 \pm 3,6$ року, з нормальним, овуляторним менструальним циклом. До дослідження не включали жінок із запальними процесами геніталій, аутоімунними та алергічними захворюваннями, а також з ендометріозом, і тих, які отримують комбіновані оральні контрацептиви (КОК).

Функцію яєчників контролювали за результатами тестів функціональної діагностики, УЗД органів малого таза, гормонального обстеження: визначення у крові рівнів пролактину (Прл), фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), ЛГ, естрадіолу (E_1) у фолікулінову фазу, E_2 і прогестерону (П) у лютеїнову фазу менструального циклу. Андрогеновий профіль включав визначення рівнів тестостерону вільного (Тв) і загального (Т), А, ДГЕА, ДГТ у крові.

Пайпель-біопсію ендометрію виконано у 47 пацієнток. Вивчення гістологічної структури ендометрію проводили за загальноприйнятою методикою. Експресію рецепторів естрогенів (РЕ) і прогестерону (РП), фенотиповий склад лімфоцитів ендометрію визначали імуногістохімічним дослідженням із використанням зв'язин-біотинпероксидазного методу та моноклональних антитіл фірми Моуоса 51на (Велика Британія). Дослідження субпопуляцій лімфоцитів CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ у сироватці крові виконували на проточному цитофлюориметрі EPC5 XL (ConHerCorporation,

США) з моноклональними антитілами фірми Becktar (США), дослідження цитокінів проводили методом ІФА з тест-системою фірми «Цитокин» (Росія).

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою непараметричних критеріїв Манна-Уїтні, кореляційний аналіз – із визначенням коефіцієнта значущості розбіжностей за критерієм Пірсона. Результати наведено у вигляді Me (min-max).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Вміст андрогенів у крові обстежених жінок наведено у таблиці 1.

Як видно з таблиці 1, у жінок групи ЗГА були вірогідно більшими рівні Т, Тв, ДГЕА, А, ДГТ порівняно зі здоровими. За результатами кореляційного аналізу визначено прямий кореляційний зв'язок ($r=0,60$; $p<0,05$) між рівнями Тв і ДГТ у крові, що є показником стимулюючого впливу Т на активність 5 α -редуктази та продукцію ДГТ [8]. Це є свідченням порушення периферичної продукції ДГТ і його метаболізму. У таблиці 2 наведено результати визначення гормонального профілю (Прл, ФСГ, ЛГ, естрадіол – E_1 , Пу фолікулінову фазу, E_2 , Пу лютеїнову фазу менструального циклу) в обстежених.

За показниками гормонального профілю вірогідних порушень у жінок обох груп не виявлено. Вміст прогестерону в крові відповідає овуляторному менструальному циклу. Попри нормальний базальний рівень гонадотропінів і повноцінний овуляторний цикл, у жінок обох груп за результатами ехографічного обстеження встановлено вірогідне відставання розмірів домінантного фолікула (середній діаметр 16 мм) у групі ЗГА та у середньому 17 мм – у групі ПГА ($p<0,05$) порівняно з групою контролю (середній діаметр 20 мм – 16-23 мм). У жінок із ГА обох груп між діаметром домінантного фолікула та рівнем ДГТ у крові спостерігався зворотний кореляційний зв'язок ($r=-0,72$; $p<0,01$).

Таблиця 1

Вміст андрогенів у крові обстежених

Група	Т, нмоль/л	Тв, нмоль/л	ДГЕА, нмоль/л	А, нмоль/л	ДГТ, нмоль/мл
Контроль	1,63 (0,3-2,6)	5,65 (2,3-13,9)	13,7 (1,1-21,1)	4,1 (1,0-6,4)	305,1 (166-370)
ЗГА	2,2 (0,5-4,1)*	18,4 (2,7-81)*	24,2 (4,5-51)*	5,2 (2,1– 10,0)*	495 (292-1915)*
ПГА	1,57 (0,5-3,69)	8,18 (2,4-14,7)	12,0 (5,4-24,3)	4,6 (0,9-7,9)	462 (386-800)*

Примітка: * – вірогідна різниця з контролем ($p<0,05$).

Гормональний профіль в обстежених

Група	Прл, мМО/л	ФСГ, МО/л	ЛГ, МО/л	Е ₁ , нмоль/л	Е ₂ , нмоль/л	П, нмоль/л
Контроль	352,5 (137,6-587)	6,1 (4,5-0,8)	5,3 (3,9-9,2)	394,5 (290-634)	512 (192-881)	40,2 (16,8-71,1)
ЗГА	307 (178-644)	6,1 (2,8-10)	5,4 (2,8-4,7)	293 (115,7-643,8)	457,4 (204-745,2)	33,6 (19,8-60,2)
ПГА	350 (178,5-573,3)	4,7 (3,3-10,4)	4,6 (3,5-14,4)	364,4 (198,5-54,5)	474 (166-727,4)	30,2 (19,6-64,2)

Виявлені порушення фолікулогенезу у жінок із ГА можуть зумовлюватися пригніченням імпульсної секреції гонадотропінів, що експериментально встановлено для ДГТ [7, 8]. Не виключено можливість прямого впливу андрогенів на фолікулярний апарат, адже відомо, що естрогени пригнічують, а андрогени стимулюють апоптоз гранульозних клітин [5, 8].

Андрогени як стероїдні сполуки беруть активну участь як у фізіологічній циклічній трансформації ендометрію, так і у формуванні його патологічних станів [7]. У жінок із класичною ГА яєчникового генезу характерною особливістю є переважання гіперпластичних процесів, яке, за даними деяких дослідників, сягає 70% [5, 7, 8].

За результатами гістологічного дослідження ендометрію у жінок з овуляторною формою ГА в обох групах порівняння у фолікулінову фазу циклу ендометрій відповідав проліферативному типу. У лютеїнову фазу у 39,6% випадків серед жінок із ЗГА та у 32,1% – із ПГА визначено відставання формування секреторних перетворень. Серед інших порушень визначали: у групі ЗГА – функціональний поліп і базальну гіперплазію, у групі ПГА – залозисту гіперплазію та функціональний поліп.

Експресія РЕ та РП у проліферативному ендометрії жінок із ГА обох груп відповідала такій у групі контролю. Експресію рецепторів РЕ та РП в ендометрії у секреторну фазу в обстежених наведено у таблиці 3.

Отже, попри нормальний рівень прогестерону у крові пацієток обох груп порівняння з ГА, експресія РЕ і РП перевищувала показники контрольної групи, надто у жінок із ПГА. У жінок із ЗГА виявлено зворотний кореляційний зв'язок між рівнем Тв у крові та експресією РЕ у залозистих клітинах ендометрію ($r=-0,68$; $p<0,05$), а також між рівнем Т у крові та експресією РЕ і РП у стромальних клітинах ($r=-0,61$; $p<0,05$ і $r=-0,64$; $p<0,05$ відповідно). Отримані дані відповідають результатам експериментальних праць, в яких показано, що тестостерон, подібно до прогестерону, справляє вплив на процес диференціювання клітин ендометрію [7]. Невідповідну трансформацію ендометрію у таких випадках зумовлено впливом ДГТ, який стимулює проліферацію клітин ендометрію [9]. Найбільшою мірою це проявляється у групі жінок із ПГА та ізольованим підвищенням ДГТ у крові. За результатами кореляційного аналізу у жінок цієї групи встановлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем ДГТ у крові та експресією РП у стромальних клітинах ($r=0,96$; $p<0,05$).

Морфо-функціональна трансформація ендометрію під впливом стероїдних гормонів супроводжується зміною складу імунокомпетентних клітин ендометрію (табл. 4). Зокрема, у секреторну

Таблиця 3

Експресія рецепторів естрогенів і прогестерону у стромальних (С) і залозистих (З) клітинах ендометрію у секреторну фазу в обстежених

Група	РЕС	РПС	РЕЗ	РПЗ
Контроль (n=11)	0 (0-30)	80 (0-270)	0 (0-80)	0 (0-80)
ЗГА (n=15)	70 (0-200)*	240 (0-300)	140 (0-270)*	30 (0-300)
ПГА (n=7)	150 (20-240)*	240 (20-280)*	200 (80-240)*	270 (40-280)*

Примітка: оцінку експресії РЕ проводили за системою РП і H-score; * – вірогідна різниця з контролем ($p<0,05$).

Деякі показники місцевого імунітету в обстежених

Група	Фаза проліферації			Фаза секреції		
	CD56+	CD16+	CD20+	CD56+	CD16+	CD20+
Контроль	10 (8-10) n=6	8 (5-10) n=6	0,5 (0-2) n=6	13 (10-25) n=24	10 (0-13) n=17	1 (0-3) n=13
ЗСА	8 (2-25) n=4	35 (3-50)* n=3	0,5 (0-1) n=2	8 (5-20)* n=9	37 (5-58)* n=10	3 (0-8) n=5
ПГА	2 (0-50) n=3	15,5 (0-50)* n=2	1 (0-2) n=2	4 (2-15)* n=6	21,5 (5-70) n=5	2 (0-20) n=4

Примітка: * – вірогідна різниця з контролем ($p < 0,05$).

фазу в ендометрії відзначається збільшення кількості специфічних ендометріальних клітин – NK-клітин, які несуть поверхневий маркер CD56+ [5, 7]. Саме цим клітинам належить важлива роль у плацентазії та підтримці ранніх етапів гестації [8].

У жінок із ЗГА та ПГА спостерігається вірогідне підвищення кількості CD16+NK-клітин у проліферативному та секреторному ендометрії на тлі зниження CD56+NK-клітин у фазу секреції. В обох групах порівняння визначено кореляційний зв'язок між вмістом андрогенів у крові та кількістю NK-клітин в ендометрії. Так, у жінок із ЗГА виявлено пряму кореляційну залежність між кількістю CD16+NK-клітин у секреторному ендометрії та рівнем Т ($r=0,54$; $p=0,03$) і ДГТ ($r=0,81$; $p=0,03$) у крові, а у жінок із ПГА – між рівнем Тв у крові та кількістю CD16+NK-клітин ($r=0,64$; $p=0,048$). Рецептори андрогенів на NK-клітинах відсутні. Тестостерон або його метаболіти не впливають на експресію активуючого та хомінг-рецептора.

Абсолютна та відносна кількість Т-хелперів і цитотоксичних CD8+Т-лімфоцитів у периферичній крові у жінок групи ЗГА не відрізнялися від показників групи контролю, що відповідає даним про відсутність впливу тестостерону на вміст і співвідношення CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів, тобто про пригнічуючий вплив тестостерону на індуковану проліферацію тимоцитів [5], і, ймовірно, зумовлено впливом надлишку ДГТ. Відсутність подібного впливу у жінок із ЗГА може пояснюватися впливом інших андрогенів. Крім цього, у жінок із ПГА спостерігалось підвищення відносної кількості CD4+Т-лімфоцитів у крові порівняно з показником фертильних жінок, що дозволяє припустити різну чутливість Т-хелперів і цитотоксичних CD8+Т-лімфоцитів до ДГТ.

Абсолютний і відносний вміст у крові В-лімфоцитів у жінок із ГА в обох групах був вірогідно зниженим порівняно з контролем і мав зворотний кореляційний зв'язок із рівнем ДГТ у крові ($r=-0,58$; $p=0,047$). Виявлена закономірність відповідає експериментальним даним про вплив ДГТ на лімфопоез у кістковому мозку [10].

ВИСНОВКИ

1. У жінок із порушенням репродуктивної функції та гіперандрогенією у 29,5% випадків збережено овуляторний менструальний цикл з адекватним рівнем прогестерону в секреторну фазу. Порушення фертильності на цьому тлі опосередковано пригніченням фолікулогенезу та порушенням фізіологічної трансформації ендометрію, що проявляється гіперекспресією рецепторів естрогенів і прогестерону, а також зміною фенотипового складу ендометріальних лімфоцитів із надмірним накопиченням CD16+NK-клітин.
2. Андрогени справляють самостійний, незалежний від естрогенів і прогестерону вплив на імунний і функціональний стан ендометрію.
3. Ізольована дегідротестостеронемія проявляється підвищенням відносної кількості Т-хелперів і зниженням кількості цитотоксичних CD8+Т-лімфоцитів у крові.

ЛІТЕРАТУРА

1. Старостина Т.А. Современные вопросы патогенеза и терапии невынашивания беременности // Акушерство и гинекология. – 2002. – № 5. – С. 59-61.
2. Дубосарская З.М., Дубосарская Ю.А., Дука Ю.М., Нагорнюк В.Т. Теория и практика эндокринной гинекологии. – Днепропетровск: Лира, 2010. – С. 199-280.
3. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание бере-

- менности. – М.: МИА. – 2010. – С. 95-136.
4. *Першина Е.К.* Восстановление репродуктивной функции у больных с сочетанной формой гиперандрогении // *Врач.* – 2010. – вып. 7. – С. 46-50.
 5. *Гадиати Т.Г.* Иммуноморфологическое состояние эндометрия у женщин с бесплодием, обусловленным склерополикистозом яичников: автореф. дис... д-ра мед. наук. – М., 2000. – 31 с.
 6. *Яманов М.В.* Молекулярно-клеточные механизмы патологии имплантации при эндокринном бесплодии: автореф. дис... д-ра мед. наук. – Томск, 2004. – 45 с.
 7. *Комаров Е.К., Михнина Е.А., Великанова Л.И.* Роль инсулинорезистентности в патогенезе гиперандрогении у женщин с нарушением репродуктивной функции // *Проблемы репродукции.* – 2008. – Т. 11, № 5. – С. 25-30.
 8. *Комаров Е.К.* Репродуктивная функция у женщин с периферической гиперандрогенией // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2009. – вып. 4. – С. 57-62.
 9. *Комаров Е.К., Михнина Е.А., Давыдова Н.И.* Состояние репродуктивной функции и системного иммунитета у женщин с гиперандрогенией и полноценным овуляторным менструальным циклом // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2011. – вып. 2. – С. 42-47.
 10. *Подзолкова Н.М.* Комплексное морфологическое изучение роли инфекционных процессов в этиологии неразвивающейся беременности. – М.: Триада-Х, 2002. – 304 с.

РЕЗЮМЕ

Некоторые рецепторно-иммунные характеристики эндометрия при разных формах доминирования андрогенов
Л.Н. Семенюк

Работа посвящена исследованию особенностей фолликулогенеза, иммунного, морфологического и функционального состояния эндометрия, особенностей системного иммунитета у женщин с репродуктивными проблемами, доминированием андрогенов и овуляторным циклом. Установлено, что нарушения репродуктивной функции у женщин этой группы обусловлены угнетением фолликулогенеза, нарушением физиологической трансформации эндометрия, которая проявляется гипер-

экспрессией рецепторов эстрогенов и прогестерона, а также изменениями состава НК-клеток под влиянием избытка андрогенов. Системным проявлением доминирования андрогенов является снижение количества В-клеток в крови. Изолированная дегидротестостеронемия сопровождается снижением количества CD8+Т-лимфоцитов и повышением количества Т-хелперов в периферической крови, что свидетельствует о разной чувствительности субпопуляций Т-лимфоцитов к различным андрогенам.

Ключевые слова: доминирование андрогенов, овуляторный менструальный цикл, экспрессия рецепторов эстрогенов, прогестерона, лимфоциты, НК-клетки.

SUMMARY

Some receptor-immune characteristics of the endometrium in different forms of androgen dominance
L. Semeniuk

The paper studies the features of folliculogenesis, immune, morphological and functional status of the endometrium, particularly systemic immunity in women with reproductive problems, the dominance of androgens and ovulatory cycle. Found that reproductive dysfunction among women in this group are due to inhibition of folliculogenesis, the disturbance of physiological transformation of the endometrium, which is manifested overexpression of estrogen and progesterone receptors, as well as changes in the composition of NK-cells under the influence of androgen excess. Systemic manifestations of androgen dominance is to reduce the number of B cells in the blood. Insulated degidrotestosteronemiya accompanied by a decrease amount of CD8 + T lymphocytes and an increase in the number of T-helper cells in the peripheral blood, indicating that the sensitivity of different subpopulations of T lymphocytes to various androgens.

Key words: androgen dominance, ovulatory menstrual cycle, expression of estrogen receptors, progesterone, lymphocytes, NK-cells.

Дата надходження до редакції 25.01.2013 р.