

## СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С ПОТЕРЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ В АНАМНЕЗЕ С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Гулиева З.С.<sup>1</sup>, Герасимов А.М.<sup>1</sup>, Перетятко Л.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России (153012, Иваново, Шереметевский проспект, д. 8), e-mail: zalina\_igta@mail.ru

<sup>2</sup>ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России (153045, Иваново, ул. Победы, 20), e-mail: peretyatko2011@yandex.ru

В статье приведены данные о гистологических особенностях эндометрия у женщин с потерей беременности в анамнезе и недифференцированной дисплазией соединительной ткани. Группы исследования формировались по признакам наличия потерь беременности в анамнезе и НДСТ. Из исследования исключались пациентки с хромосомными аномалиями, антифосфолипидным синдромом, с пороками развития гениталий и мужским фактором. Диагноз НДСТ верифицировался по методу Милковской-Дмитровой и Каркашева. Показано, что у женщин с НДСТ более выражено несоответствие структурных изменений эндометрия дню менструального цикла, нарушено формирование сосудистого компонента, изменена экспрессия MMP-9 и TIMP-I, снижено образование COL-IV типа. Выявленные сдвиги составляют морфологический субстрат эндометриальной недостаточности, сопровождающейся функциональными нарушениями. В результате этих изменений создаются неблагоприятные условия для полноценной имплантации и начальных этапов развития эмбриона, что и приводит к развитию такого осложнения как невынашивание беременности ранних сроков.

Ключевые слова: недифференцированная дисплазия соединительной ткани, невынашивание беременности, эндометрий, металлопротеиназы – 9, виментин, коллаген IV типа, ингибитор металлопротеиназы.

## SPECIAL FEATURES OF ENDOMETRIUM IN WOMEN WITH AN EARLY MISCARRIAGE HISTORY AND WITH UNDIFFERENTIATED CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

Gulyeva Z.S.<sup>1</sup>, Gerasimov A.M.<sup>1</sup>, Peretyatko L.P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ivanovo State Medical Academy, city of Ivanovo, Russian Federation obstetrics and gynecology, medical genetic

<sup>2</sup>«Ivanovo Scientific and Research Institute of Maternity and Childhood by the name of V. Gorodkov», Russian Federation

The article studies histological features of endometrium in women with a miscarriage history, suffering undifferentiated connective tissue dysplasia (UCTD). The patient groups were formed of women with miscarriage history and UCTD. Women with chromosomal abnormalities, antiphospholipid syndrome, female genital abnormalities and male factor were excluded from the study. The diagnosis of UCTD was verified by using the method of Milkovskaya-Dimitrova and Karkashev. The study shows that women suffering UCTD manifest severe discrepancy between the structural changes of endometrium and the menstrual cycle, distorted formation of vascular component, changed expression of MMP-9 and TIMP-I, and reduced building of type IV collagen (Coll-IV). These abnormalities amount to the morphological substrate of endometrial deficiency accompanied by functional disorders. They arrest normal implantation and embryo development, which results in early miscarriage.

Keywords: undifferentiated connective tissue dysplasia, recurrent pregnancy loss, endometrium, metalloproteinases 9, vimentin, type IV collagen, metalloproteinase inhibitor.

Актуальная проблема дисплазии соединительной ткани (ДСТ) вызывает в последние годы повышенный интерес различных областей медицины. Научный интерес обусловлен колебаниями частоты недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ) от 20 % до 80,0 % и разнообразными висцеральными проявлениями [2]. С акушерско-гинекологических позиций данная проблема значима и интересна в связи с недостаточно

изученными изменениями в эндометрии во время беременности и в предгравидарный период, осложнениями беременности и родов, а также особенностями течения раннего неонатального периода [5,6]. Недифференцированную ДСТ относят к аномалии соединительной ткани, в основе которой лежит дисбаланс соединительной ткани, проявляющийся уменьшением экстрацеллюлярного матрикса в сочетании с полиморфизмом генов, регулирующих белки, и реализующийся в виде структурных и молекулярных нарушений собственной соединительной ткани [2,9].

Соединительная ткань состоит из основного вещества, представленного углеводно-белковыми комплексами, состоящими из протеогликанов и гликопротеинов. Кроме основного вещества в состав собственной соединительной ткани входят в большом разнообразии клеточные элементы, а именно фибробласты, тучные клетки, макрофаги, плазматические клетки. Основным компонентом соединительной ткани являются коллагеновые, эластиновые и ретикулярные волокна [4].

Любой дисбаланс в этой тонко настроенной системе соединительной ткани, будь то аномальная пролиферация, избыточная дегградация коллагенов, дефекты в структурных генах (протеогликанах, коллагенах, эластинах и т.д.) или аномалии в посттрансляционных модификациях, может приводить к ДСТ [1,3].

Пациенток с генетически predeterminedенной НДСТ, согласно существующему мнению, следует включать в группу риска по формированию акушерской и перинатальной патологии [5,6]. Вероятность высокой степени риска связывают с экстренными ситуациями, возникающими в течении беременности и родов и представляющими угрозу во время беременности для жизни плода, во время родов – матери [5,6].

Принимая во внимание сведения из доступных литературных источников, повреждение соединительной ткани при НДСТ совершенно не изучено в компонентах функциональной системы «мать – плацента – плод», у пациенток при беременности и родах, а также в плаценте и органах плодов/новорожденных. Изложенные в единичных публикациях сведения об осложнениях течения беременности и родов у женщин с НДСТ неоднозначны [5,6].

Морфологическое исследование ткани эндометрия играет важную роль в диагностике причин различной патологии репродуктивной системы у пациенток. Несмотря на высокие достижения современной морфологии, некоторые вопросы, касающиеся патогенеза привычного невынашивания беременности при НДСТ, остаются недостаточно изученными, что определяет необходимость проведения дальнейших исследований.

**Цель исследования:** определить гистологические особенности эндометрия у женщин с потерей беременности в анамнезе с недифференцированной дисплазией соединительной ткани.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находилось 130 женщин. Были сформированы следующие клинические группы: группа сравнения (n=57) – женщины с привычным невынашиванием беременности на ранних сроках в анамнезе без признаков НДСТ, основная группа (n=73) – женщины с привычным невынашиванием беременности ранних сроков в анамнезе и признаками НДСТ. Все пациентки поступали на обследование и предгравидарную подготовку. Критерии включения в группы исследования: наличие двух и более выкидышей ранних сроков (до 12 недель) в анамнезе, преимущественно инфекционного генеза и имеющие признаки НДСТ. Критериями исключения женщин из групп исследования были хромосомные аномалии, антифосфолипидный синдром, пороки развития гениталий, мужской фактор.

Материалом исследования служил эндометрий, полученный на 23–26 дни менструального цикла.

Биопсийный материал делили на части и заключали в различные фиксаторы, с целью осуществления комплекса запланированных методик: обзорной гистологии, PAS-реакции, иммуногистохимического исследования (ИГХ) для определения виментина, металлопротеиназы-9 (ММР-9), тканевого ингибитора металлопротеиназы (ТИМР-I), электронной микроскопии стромы и стромальных сосудов и железистого компонента эндометрия [7].

НДСТ диагностировалась по классификации Т. Милковской-Димитровой и А. Каркашева (1985) [8]: легкая степень – при регистрации двух главных признаков; средняя – при выявлении трех главных и двух второстепенных, либо четырех главных и одного второстепенного; выраженная – при наличии пяти и более главных признаков и трех второстепенных.

Средний возраст обследованных женщин основной группы составил  $31,9 \pm 0,6$  года, группы сравнения -  $29,21 \pm 0,74$ . По характеру становления менструальной функции значимых различий между группами не отмечалось. Средний возраст менархе –  $13,4 \pm 0,17$  года в основной и  $13,16 \pm 0,21$  года в группе сравнения, что соответствует популяционным показателям. Менструальная функция в виде регулярных менструальных циклов продолжительностью от 21 до 35 дней отмечалась у 98,6 % женщин основной группы со средней длительностью менструального цикла  $28,3 \pm 0,21$  дня, у 92,9 % женщин группы сравнения, со среднегрупповой длительностью менструального цикла  $28,2 \pm 0,37$  дня ( $p > 0,05$ ). Лишь у 1,4 % пациенток основной группы и 3,5 % пациенток группы сравнения были циклы

по типу опсоменореи с длительностью от 36 до 42 дней, в среднем составив  $38,5 \pm 0,34$  дня ( $p > 0,05$ ).

Длительность менструального кровотечения не превышала 7 дней у всех женщин основной группы. Лишь у 3,5 % женщин группы сравнения менструации носили характер меноррагий, их длительность превышала 7 дней и составила в среднем соответственно  $8,5 \pm 0,27$  дней ( $p > 0,05$ ).

По структуре гинекологической патологии существенных различий в группах выявлено не было.

По структуре экстрагенитальной патологии основную группу отличает от группы сравнения большая частота встречаемости патологии сердечно-сосудистой системы, хронического пиелонефрита, ОРВИ, операций и аллергии как в анамнезе, так и при обследовании.

**Полученные результаты.** Морфологическое исследование гистологического материала выявило несоответствие между предполагаемыми структурными изменениями и фактическими как в группе сравнения, так и в основной группе. Только в 27,5 % случаев в группе сравнения и в 10,9 % основной группы эндометрий, согласно морфологической картине, соответствовал дню менструального цикла, а именно – находился в состоянии поздней фазы секреции. В 27,5 % наблюдений в группе сравнения и в 16,4 % наблюдений основной группы эндометрий находился в состоянии ранней стадии фазы секреции. В 5 % наблюдений группы сравнения и в 25,4 % основной группы секреторная трансформация так же запаздывала относительно дня менструального цикла: эндометрий находился в состоянии средней стадии фазы секреции. Неполноценная фаза секреции диагностирована в 10 % наблюдений группы сравнения и в 12,7 % наблюдений основной группы. Эндометрий в различные фазы стадии пролиферации, несмотря на то, что дни забора материала приходились на последнюю треть второй фазы менструального цикла, имел место у 12,5 % пациенток группы сравнения и у 12,7 % пациенток основной группы. Простая очаговая гиперплазия эндометрия в функциональном слое выявлена у 10 % женщин группы сравнения и у 18,2 % женщин основной группы. Несмотря на однонаправленные нарушения в трансформации эндометрия в динамике менструального цикла в обеих группах, в группе с НДСТ отмечались определённые особенности в структурной перестройке сосудов эндометрия. В эндометрии от женщин с НДСТ, по сравнению с подобным эндометрием от пациенток группы сравнения, замедляется формирование очагового отека стромы и его распространенность, вертикальные сосудистые ветви не подвергаются спирализации, что сопровождается анемизацией поверхностных отделов функционального слоя, с последующими нарушениями трансформации стромы и железистого компонентов, причиной

которых является гиповаскуляризация. Более того, не происходит разделение преобразованного базального слоя на клеточно-стромальный и спонгиозный. Неполноценная спирализация горизонтальных ветвей сосудов проявляется формированием единичных сосудистых пучков, реже не формирующих очаговые скопления сосудов, чаще формирующих сосудистые пучки. На горизонтальных срезах в эндометрии прослеживается морфологическая картина пролиферации сосудов микроциркуляторного русла на фоне гипоплазии ветвей спиральных артерий с нарушением их спирализации и фибриноидным некрозом стенок. Также при НДСТ трансформация клеток стромы существенно замедляется и формируются промежуточные формы фибробластоподобных клеток, по форме и размерам несущественно отличающихся от исходных, не имеющих определенной, в том числе периваскулярной локализации. Вместе с тем в строме эндометрия, наряду с лимфоцитами, увеличивается количество гранулоцитов, формирующих очаговые скопления.

Определённые особенности имели место при НДСТ в эндометрии, соответствовавшем стадии пролиферации. В среднюю фазу пролиферации в эндометрии, несмотря на усиление митотической активности клеток эпителия желез, в железистых структурах замедляется формирование многорядного эпителия, представленного цилиндрическими клетками с гиперхромными ядрами.

Иммуногистохимический анализ показал, что в структурах эндометрия женщин с НДСТ в стадию секреции существенно уменьшается PAS-позитивных структур, содержащих нейтральные мукополисахариды (НМПС) по сравнению с группой сравнения. PAS-позитивные структуры визуализируются в базальной мембране покровного эпителия, а также в стромальном компоненте, расположенном между железистыми структурами. Субъективно оцениваемая локализация и количество PAS – позитивных веществ, свидетельствует о существенном снижении НМПС в стадию секреции при НДСТ, особенно в базальных мембранах железистого эпителия и сосудов, в составе секрета, находящегося в просвете желез. Вместе с тем отмечается увеличение НМПС в стромальном субстрате. Следовательно, при НДСТ существует некоторая диспропорция в распределении НМПС, свидетельствующая об изменении обменных процессов в тканях эндометрия. Интенсивность реакции с антителами к виментину в клетках стромы и эндотелии спиральных артерий эндометрия женщин, имеющих недифференцированную дисплазию соединительной ткани, достаточно высокая. Индексы экспрессии протеина в стромальных клетках и эндотелии артерий эндометрия не имеют достоверных отличий при сопоставлении с параметрами группы сравнения и составляют 275 [250–280] и 250 [220–260] усл. ед. соответственно. Отмечается недостоверная тенденция к повышению протеина в эндотелии артерий.

Вместе с тем в структурах эндометрия пациенток с дисплазией соединительной ткани, статистически достоверно и максимально повышается интенсивность специфической реакции с антителами к ММР-9 в клетках стромы эндометрия. Индекс экспрессии ММР-9 в стромальных клетках эндометрия женщин основной группы составляет 280 [260–290] усл. ед., что достоверно выше аналогичного показателя группы сравнения ( $p=0,000059$ ). Индекс экспрессии ММР-9 в железистом эпителии эндометрия соответствует параметру группы сравнения и равняется 250 [235–285] усл. ед. В эндотелии артерий эндометрия при дисплазиях соединительной ткани индекс экспрессии имеет тенденцию к незначительному повышению 205 [200–235] усл. ед., однако параметр недостоверный.

При дисплазиях соединительной ткани экспрессия TIMP-1 максимальна в цитоплазме эпителия желез. Индекс экспрессии, равный 245 [210–265] усл. ед., статистически достоверен при сравнении с подобным группы сравнения ( $p=0,054353$ ). Достоверна и выраженная экспрессия TIMP-1 в клетках стромы слизистой матки основной группы. Индекс экспрессии ингибитора металлопротеиназ в цитоплазме стромальных клеток и строме, составляющий 235 [210–245] усл. ед., достоверно превышает ( $p=0,002715$ ) аналогичный показатель группы сравнения. Умеренная интенсивность иммуногистохимической реакции с антителами к TIMP-1 обнаружена в эндотелиальных клетках эндометриальных спиральных артерий у пациенток основной группы. Индекс экспрессии равен 200 [175–210] усл. ед., что достоверно выше ( $p=0,002337$ ) подобного показателя группы сравнения.

Достаточно своеобразная локализация COLL IV типа в эндометрии женщин, с синдромом недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Количественно коллаген IV типа уменьшен во всех структурах. Так, в стенке спиральных артерий, капилляров и желез COLL IV типа выявляется минимально только в 2-х случаях, что составило 12,5 %. В 50,0 % у пациенток с НДСТ коллаген IV-позитивные структуры в виде тонких, достаточно часто прерывистых волокон визуализируются только в стенке спиральных артерий эндометрия. Тонкие волокна COLL IV типа в 25,0 % (4-е сл.) в эндометрии у женщин с НДСТ локализуются в базальной мембране эпителия эндометриальных желез, тогда как стенка спиральных артерий и капилляров иммунонегативна. И, наконец, у 12,5 % пациенток основной группы коллаген IV-позитивные структуры в каких-либо структурах эндометрия не выявляются вообще.

Электронномикроскопическое исследование эндометрия показало, что у пациенток с НДСТ меняется соотношение и структура всех структурных компонентов стромы. Происходит задержка последовательной трансформации фибробластоподобных клеток в децидуальные, что проявляется в неравномерности внутриклеточных преобразований с появлением промежуточных форм клеток. Прослеживается четкая тенденция к уменьшению

количества функционирующих клеток. На фоне количественного уменьшения клеток стромы параллельно, за счет лизиса ядер, происходит денуклеитизация, несколько реже некроз и элиминация цитоплазмы стромы. Для ряда клеток характерно усиление везикулообразования, микроклазматоза и клазматоза. При НДСТ в эндометрии меняется структура всех морфологических составляющих сосудов, в первую очередь капилляров в дистальных отделах слизистой в лютеиновую фазу цикла. Клетки эндотелия некротизируются, что подтверждается кариопикнозом, деструкцией органелл с последующим плазморексисом или плазмоллизисом. Появляется нестабильность мембран циркулирующих эритроцитов, проявляющаяся изменением и появлением аномальных форм клеток красной крови, которые зачастую контактируют с сохранившимися уплощенными клетками эндотелия, цитоплазма в которых вакуолизована, а мембраны органелл в состоянии клазматоза. Капилляры по мере деструкции эндотелиоцитов заустевают и редуцируются, а прилежащие к сосудам клетки стромы находятся в состоянии апоптоза.

**Обсуждение полученных результатов.** Таким образом, выявлен ряд характерных для НДСТ морфологических нарушений в структурах эндометрия, таких как нарушение спирализации вертикальных ветвей спиральных артерий, недостаточная спирализация горизонтальных ветвей артерий слизистой матки, прогрессирование межклеточного отека начиная с фолликулиновой фазы цикла, задержка трансформации фибробластоподобных клеток в прецидуальные, отставание секреторных преобразований в лютеиновую фазу цикла.

Патоморфологические перестройки в эндометрии составляют морфологический субстрат эндометриальной недостаточности, сопровождающейся функциональными нарушениями с повышением индекса экспрессии матричной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибирующего фактора, свидетельствующих о несостоятельности соединительной ткани в первую очередь в сосудах, обеспечивающих кровью слизистую матки. В результате этих изменений создаются неблагоприятные условия для полноценной nidации и начальных этапов развития эмбриона, что и приводит к развитию такого осложнения, как невынашивание беременности ранних сроков.

### **Список литературы**

1. Громова, О.А. Молекулярные механизмы воздействия магния на дисплазию соединительной ткани / О.А. Громова // Дисплазия соединительной ткани. – 2008. – № 1. – С. 23–32.

2. Диагностика наследственных нарушений соединительной ткани. Итоги и перспективы / Э. В. Земцовский [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2013. – № 4(102). – С. 38–44.
3. Казачков, Е.Л. Морфофункциональная характеристика слизистой оболочки матки у женщин с синдромом потери беременности ранних сроков инфекционного генеза // Е.Л. Казачков, Е.Е. Воропаева, В.Л. Коваленко и др. // Архив патологии. – 2010. – Т. 72, № 1. – С. 23–26.
4. Кадурина, Т.И. Дисплазия соединительной ткани: руководство для врачей / Т. И. Кадурина, В. Н. Горбунова. – СПб.: Элби, 2009. – 703 с.
5. Керимкулова, Н. В. Особенности течения беременности и родов у женщин, страдающих недифференцированной дисплазией соединительной ткани / Н. В. Керимкулова, Н. В. Никифорова // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2011. – Т. 16. – Специальный выпуск. – С. 40–41.
6. Комиссарова, Л.М. Течение беременности и родов при дисплазии соединительной ткани / Л.М. Комиссарова, А.Н. Карачаева, М.И. Кесова // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 3. – С. 4–8.
7. Микроскопическая техника: руководства / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.; Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. – М.: Мир, 1975. – 324 с.
8. Милковска-Димитрова Т., Каркашев А. Врозна съединителнотъканна малотойност у децата. – София, 1987.
9. Stollery, N. Connective tissue disorders / N. Stollery // Practitioner. – 2013. – Vol. 257(1758). – P. 28–29.

**Рецензенты:**

Бойко Е.Л., д.м.н., с.н.с. отдела акушерства и гинекологии ФГБУ «Ивановский НИИ МиД им. В.Н. Городкова» МЗ РФ, г. Иваново;

Парейшвили В.В., д.м.н. профессор кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ивановский НИИ МиД им. В.Н. Городкова» МЗ РФ, г. Иваново.