

Уровень половых гормонов в сыворотке крови и экспрессия рецепторов к гормонам в тканях яичников женщин с трубно–перитонеальным бесплодием

Л. Ф. Зайнетдинова, Б. И. Медведев, С. Н. Теплова, Г. В. Сычугов

Челябинская государственная медицинская академия;
Челябинское областное патологоанатомическое бюро, г. Челябинск

The level of sex hormones and expression of hormone receptors in ovarian tissues in women with tubo–peritoneal infertility

L. F. Zaynetdinova, B. I. Medvedev, S. N. Teplova, G. V. Sichugov

Резюме

Цель исследования: определить у женщин с трубно–перитонеальным бесплодием (ТПБ) в разные фазы менструального цикла уровень половых гормонов в сыворотке крови и их взаимосвязь с количеством клеток в яичнике, экспрессирующих рецепторы к этим гормонам.

Материал и методы: обследовано 100 женщин с трубно–перитонеальным бесплодием. Методы исследования: общеклиническое, биохимическое, микробиологическое, иммуногистохимическое, гистологическое, ПЦР диагностика, УЗИ, лапароскопия.

Результаты: при лапароскопии у 88,9% пациенток с ТПБ диагностирован хронический сальпингоофорит. При исследовании гормонов в сыворотке крови в фазе пролиферации наблюдалось снижение уровня эстрадиола, при этом, существенных колебаний числа клеток в яичниках, экспрессирующих рецепторы к половым гормонам при сравнении пролиферативной и секреторной фаз цикла не наблюдалось. На фоне активности воспалительного процесса в яичниках повышается количество клеток с рецепторами к андрогенам.

Выводы: при ТПБ селективно снижается содержание эстрадиола в крови и при этом не происходит изменения экспрессии рецепторов к нему в яичниках, что может лежать в основе патогенеза формирования эстрогенной недостаточности при ТПБ.

Ключевые слова: трубно–перитонеальное бесплодие, рецепторы к половым гормонам, эстрадиол, прогестерон, тестостерон.

Resume

The aim of this study was to determine the level of sex hormones and expression of receptors to them in different phases of menstrual circle in women with tubo–peritoneal infertility (TPI).

Methods/data base: 100 women with TPI were investigated. Measure of hormone concentration was performed by enzyme –linked immunosorbent assay (ELISA) technique, determination of expression of receptors in ovarian tissue by immunofluorescent method.

Results: The decreasing of estradiol level in serum was revealed in proliferative phase of menstrual circle in women with TPI without essential fluctuation of expression of receptors for this hormones in both phases: proliferative and secretory. The number cells with receptors for androgens were increased in active phase of chronic inflammation in ovarian glands.

Conclusions: The selective decreasing of estradiol concentration in serum without changing of estradiol receptor expression in ovarian glands is one from possible mechanisms of patogenesis of estrogen insufficiency in women with TPI.

Key words: tubo–peritoneal infertility, receptors, sex hormones, estradiol, progesterone, testosterone.

Введение

Проблема бесплодного брака остается одной из актуальных в гинекологии. Частота бесплодия по данным исследований в РФ колеблется от 8 до 35% [1, 2]. Большинство пациен-

ток (46,6%) имеют трубно–перитонеальную форму бесплодия (ТПБ) [2]. Однако и при этой форме у всех женщин имеются серьезные отклонения в гормональном статусе, в связи с чем данную патологию относят к смешанным, подчеркивая инфекционно–дисгормональную природу заболевания [3]. Нарушения гормональной регуляции многообразны и определяются не только уровнем половых гормонов в биологических жидкостях организма, что изучено к настоящему времени достаточно глубоко, но и характером рецепции этих гормонов, изучение которой только начинается.

Л. Ф. Зайнетдинова — к. м. н., ассистент каф. акушерства и гинекологии №1;

Б. И. Медведев — д. м. н., профессор, зав. каф. акушерства и гинекологии №1;

С. Н. Теплова — д. м. н., профессор, зав. каф. аллергологии и иммунологии;

Г. В. Сычугов — к. м. н., начальник областного патологоанатомического бюро.

Цель исследования: определить у женщин с ТПБ в разные фазы менструального цикла уровень половых гормонов в сыворотке крови и их взаимосвязь с количеством клеток в яичнике, экспрессирующих рецепторы к этим гормонам.

Материал и методы

Обследовано 100 женщин с трубно-перитонеальным бесплодием. Критериями включения в исследование были:

- репродуктивный возраст женщин;
- трубно-перитонеальное бесплодие.

Критериями исключения были:

- возраст женщин старше 45 лет;
- эндометриоз;
- гормональное бесплодие.

Всем больным проведено общеклиническое, биохимическое обследование, бактериоскопический и бактериологический анализ выделений из влагалища и цервикального канала, ПЦР для индикации инфекций, передающихся половым путем, инструментальное исследование с использованием УЗИ матки и придатков, а также манипуляционно-диагностическая лапароскопия с получением биопсийного материала. Лапароскопия выполнена в фазу пролиферации менструального цикла — у 40% пациенток, в фазу секреции — у 60%.

У 76 женщин исследовали количественное содержание следующих гормонов в сыворотке

крови: общий тестостерон, прогестерон, эстрадиол методом радиоиммунологического анализа с помощью реактивов фирмы Immunotech (Франция). Определение эстрадиола и тестостерона проводили на 2-5 день менструального цикла, прогестерона — на 20 день.

Гистологическое исследование биоптатов яичников осуществляли на основе унифицированного алгоритма, предложенного О. К. Хмельницким [4] для обеспечения наиболее достоверной верификации патологического процесса.

Определение количества клеток яичника, экспрессирующих рецепторы к эстрогенам, прогестерону и андрогенам в гистологических срезах из яичников проводили иммуногистохимическим методом с применением тест-систем «Нафтол AS-MX-фосфат Free acid (№4875 Sigma)» (USA); «RTU-ER-6F11»; «RTU-PGR-1A6»; «AM256-2M (clone F39.4.1) (BioGenex, USA) и системы мечения Immune-mark (ICN) в парафиновых гистологических срезах. Результаты иммуногистохимической реакции с антителами против рецепторов к эстрогенам, прогестерону и андрогенам оценивали путем подсчета объемной плотности (об.%) ядер клеток с положительной иммуногистохимической реакцией в гистологическом препарате.

Результаты статистически обработаны с помощью программы «Statistica 6» с использованием параметрических и непараметрических методов.

Таблица 1. Уровни половых гормонов в крови в разные фазы менструального цикла и объемная плотность ядер клеток в яичнике женщин с ТПБ, экспрессирующих рецепторы к половым гормонам

Количество гормонов в сыворотке крови	Фаза пролиферации менструального цикла, n=42			Фаза секреции менструального цикла, n=34			Пределы колебаний уровня гормона в норме (лабораторная норма)		p
	M±m	min	max	M±m	min	max	min	max	
Эстрадиол, (пг/мл)	77,3±13,5	20	128	-	-	-	130	370	< 0,05
Тестостерон общий, (нг/дл)	38,37±3,7	20	78,2	-	-	-	15	81	>0,05
Прогестерон, (нг/мл)	-	-	-	9,29±1,75	0,2	21,2	0,95	21	>0,05
Объемная плотность (%) ядер клеток яичника с рецепторами к эстрогенам	3,22 ±0,9	-	-	2,5±0,6	-	-	-	-	0,5 (M-W)
Объемная плотность (%) ядер клеток яичника с рецепторами к андрогенам	2,9±1,5	-	-	0,33±0,1	-	-	-	-	0,1 (M-W)
Объемная плотность (%) ядер клеток яичника с рецепторами к прогестерону	3,6±0,67	-	-	2,4±0,6	-	-	-	-	0,5 (M-W)

Таблица 2. Объемная плотность (%) ядер клеток яичников с рецепторами к половым гормонам при неактивном хроническом оофорите и при минимальной степени активности оофорита у женщин с ТПБ

Показатели	Пациентки с ТПБ и хроническим не активным оофоритом, n=19			Пациентки с ТПБ и хроническим оофоритом минимальной степени активности, n=18			p
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
Объемная плотность (%) ядер клеток яичника с рецепторами к эстрогенам	0,407	1,438	2,992	0,311	0,997	2,424	0,4
Объемная плотность (%) ядер клеток яичника с рецепторами к андрогенам	0,092	0,1655	0,4135	0,282	0,476	1,13	0,03
Объемная плотность (%) ядер клеток яичника с рецепторами к прогестерону	0,39	0,768	2,91	0,38	1,201	2,49	0,03

Примечание. Достоверность различий по Вальду-Вольфовицу.

Результаты в таблицах представлены в виде средней арифметической (M) и ошибки средней (m), а также в виде медианы (Me) и квартильного размаха (Q25-Q75). Минимальный уровень достоверности при $p < 0,05$.

Средний возраст 100 пациенток, включенных в исследование, составил $26,7 \pm 1,4$ года. Средний возраст наступления менархе — $13,4 \pm 0,2$ года. Нарушения менструального цикла имелись у 43,5% женщин: олигоменорея — у 18,7%, дисменорея — 24,8%. Воспалительные заболевания матки и придатков были у всех (100%) пациенток.

Первичное бесплодие выявлено у 53,79% женщин, вторичное — у 46,21%. Длительность бесплодия до 5 лет отметили 60,69% женщин, более 5 лет — 39,3%.

Во время лапароскопически-диагностической лапароскопии хронический сальпингоофорит обнаружен у 88,9% больных. При этом у 36,1% из них проходимость маточных труб была сохранена, а у 63,9% имело место нарушение проходимости труб в разных отделах. Спаечный процесс выявлен у 52,7% женщин, преимущественно 2-3 степени.

При гистологическом исследовании биоптатов яичников у женщин с ТПБ выявлены признаки воспаления или морфологические изменения, характерные для перенесенного воспаления: периоофорит — у 31,6%, кистозно-атрезированные фолликулы — у 34,2%, хронический оофорит неактивный — 21%, хронический оофорит минимальной степени активности — 19,2%, последствия перенесенного периоофорита с развитием фиброза коркового и мозгового слоя яичников — 68,4%, очаговая стромальная гиперплазия в сочетании с воспалительными изменениями в яичнике — 8%, фолликулярные кисты яичников — 8%. При морфологическом исследовании биоптатов яичников оогенез был оценен у 63,1% женщин. На-

рушение созревания фолликулов в яичниках наблюдалось у 10,5% пациенток.

Результаты определения количества гормонов в сыворотке крови пациенток и экспрессии рецепторов к ним в ткани яичников в разные фазы менструального цикла представлены в табл. 1.

По результатам проведенного исследования количества гормонов в сыворотке крови женщин с трубно-перитонеальным бесплодием можно сделать заключение, что у пациенток в фазе пролиферации менструального цикла достоверно снижен по сравнению с нормой уровень эстрадиола при отсутствии достоверных отличий по уровню общего тестостерона. Полученные данные соответствуют существующим представлениям о формировании недостаточности продукции эстрадиола у женщин с ТПБ [5]. В фазе секреции в крови пациенток не наблюдается существенных изменений уровня прогестерона в сопоставлении со здоровыми женщинами.

Далее мы определяли в яичниках женщин с ТПБ объемную плотность ядер клеток, экспрессирующих рецепторы к эстрогенам, андрогенам и прогестерону. Данные представлены в табл. 1.

При параллельном определении объемной плотности ядер клеток в яичнике, экспрессирующих рецепторы к эстрогенам, андрогенам и прогестерону в пролиферативную фазу менструального цикла у женщин с ТПБ достоверных различий с показателями секреторной фазы менструального цикла не обнаружено, хотя имеется тенденция к снижению объемной плотности ядер клеток в яичнике в секреторной фазе, несущих все эти рецепторы.

Далее был проведен корреляционный анализ уровней половых гормонов в крови и объемной плотности ядер клеток с экспрессированными рецепторами к ним в яичнике у женщин

с ТПБ. Выявлена достоверная позитивная корреляционная связь средней силы между уровнем прогестерона в крови и объемной плотностью ядер клеток в яичнике, экспрессирующих рецепторы к этому гормону у женщин с ТПБ (0,57), что отражает сохранность баланса гормона в крови и его рецепции в тканях яичника. Положительная корреляционная связь средней силы с высокой степенью достоверности ($p=0,005$) обнаружена между объемной плотностью ядер клеток яичника, экспрессирующих рецепторы к эстрогенам и к прогестерону (0,7). Напротив, отрицательные достоверные связи выделены между уровнем тестостерона в крови и объемной плотностью ядер клеток яичника, экспрессирующих рецепторы к эстрогенам (-0,5), прогестерону (-0,6). Установленные связи свидетельствуют о реципрокных отношениях между уровнем мужских половых гормонов крови и числом клеток в яичнике, экспрессирующих рецепторы к женским гормонам.

Был проведен анализ объемной плотности ядер клеток яичника, экспрессирующих рецепторы к половым гормонам у женщин с ТПБ, ассоциированным с оофоритом с разной степенью активности хронического воспаления, оцениваемого гистологически. Результаты приведены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, при наличии даже минимальной активности воспаления в яичниках достоверно снижается объемная плотность ядер клеток с положительной иммуногистохимической реакцией на рецепторы к прогестерону и повышается объемная плотность ядер, экспрессирующих рецепторы к андрогенам в сопоставлении с хроническим оофоритом без признаков активности воспалительного процесса. Полученные данные раскрывают один из возможных механизмов нарушения гормональной регуляции под влиянием воспалительного процесса в яичнике, который характеризуется ростом клеток с рецепторами для мужских половых гормонов даже при минимальной степени активности воспаления в женских гонадах.

Обсуждение

Трубно-перитонеальное бесплодие у женщин характеризуется наличием гистологически верифицированных воспалительных изменений в яичниках в 88,9%, которые чаще всего носят характер неактивного воспаления (21%) или последствий перенесенного периоофорита с развитием фиброза коркового и мозгового слоя (68,4%).

При ТПБ выявлено снижение уровня эстрадиола в крови пациенток в пролиферативной фазе менструального цикла, что позволяет большинству исследователей проблемы женс-

кого бесплодия относить эту форму нарушения репродукции по своему происхождению к смешанной, сопровождающейся не только развитием воспалительно-спаечных изменений в придатках, но и снижением уровня половых гормонов [3].

Несмотря на достоверное снижение уровня эстрадиола в крови у женщин с ТПБ, в исследуемой группе существенных колебаний числа клеток в яичниках, экспрессирующих рецепторы к половым гормонам при сравнении пролиферативной и секреторной фазы цикла не обнаружено. Не выявлено достоверной корреляционной связи между уровнем эстрадиола в крови и числом клеток яичника, несущих мембранные рецепторы к нему. Вместе с тем, у женщин с ТПБ выявлены достоверные корреляционные связи между уровнем прогестерона в сыворотке крови и количеством клеток, экспрессирующих рецепторы к нему в яичниках; регистрируются достоверные отрицательные связи между уровнем тестостерона и рецепторам к женским половым гормонам (эстрогенам и прогестерону). Из полученных данных следует вывод, что при ТПБ селективно снижается только содержание эстрадиола в крови и при этом не происходит сопряженного с падением уровня эстрадиола изменения экспрессии рецепторов к нему в яичнике, что может лежать в основе патогенеза формирования эстрогенной недостаточности при ТПБ.

В результате проведенных исследований установлено влияние активности хронического воспалительного процесса на экспрессию рецепторов в яичниках к половым гормонам. Активность воспалительного процесса в яичниках (даже минимальная) приводит к достоверному повышению количества клеток с рецепторами к андрогенам, что может быть одним из механизмов опосредованного влияния воспаления в яичниках на его гормональную функцию при ТПБ.

Литература

1. Серов В. Н., Прилепская В. Н., Овсянникова Т. В. Гинекологическая эндокринология М., 2004.
2. Кулаков В. И., Маргиани Ф. А., Назаренко Т. А., Дубницкая Л. В., Габуния Т. Г. Структура женского бесплодия и прогноз восстановления репродуктивной функции при использовании современных эндоскопических методов. Акуш. и гин. 2001; 3: 33-36.
3. Панова Т. В., Качалина Т. С. Дифференцированная профилактика невынашивания беременности у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием в анамнезе. Гинекология 2005; 1(7): 4-6.
4. Жмельницкий О. К. Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний. СПб 1994.
5. Кулаков В. И., Серов В. Н., Абубакирова А. М., Федорова Т. А. Интенсивная терапия в акушерстве и гинекологии. М., 1998.