

## ОСОБЕННОСТИ ДЕЦИДУАЛИЗАЦИИ СТРОМЫ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ

Лучко Е. В. (luchik-lena@tut.by), Штабинская Т. Т. (shtabik@list.ru),  
Зубрицкий М. Г. (mihailzubr@mail.ru), Басинский В. А. (basinsk@gmail.com)  
УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*Введение.* Децидуализация стромы эндометрия представляет собой многоэтапный процесс. Иммуногистохимическим маркером дифференцировки децидуальных клеток является десмин.

Целью нашего исследования стала оценка особенностей децидуальной трансформации эндометрия, а также прогностической значимости уровня экспрессии десмина в децидуальных клетках при невынашивании беременности ранних сроков.

*Материал и методы.* Проведен клинично-морфологический анализ 102 случаев невынашивания, выявленных у женщин Гродненской области в 2005 г. Иммуногистохимическое исследование выполнили с использованием мышиных моноклональных антител к рецепторам Desmin (M076001, Dako).

*Результаты.* Уровень экспрессии десмина в строме эндометрия пациенток с невынашиванием беременности значимо выше, чем при нормальной беременности ( $p=0,002$ ).

*Выводы.* При уровне позитивности экспрессии десмина в строме эндометрия больше 0,004 можно с чувствительностью 100% и специфичностью 100% прогнозировать невынашивание беременности.

**Ключевые слова:** децидуализация, десмин, невынашивание беременности.

### Введение

Репродуктивные потери I триместра беременности в виде самопроизвольного выкидыша и неразвивающейся беременности остаются одной из актуальных проблем современного акушерства. Несмотря на значительные успехи акушерско-гинекологической службы, их частота остается стабильной и достигает 25% от числа родов (данные ВОЗ). Наибольшее значение имеет невынашивание беременности ранних сроков [1]. Перспективным направлением для определения этиологии раннего невынашивания представляется патоморфологическое исследование эндометрия, поскольку его изменения в течение менструального цикла являются жизненно важными для успешного наступления беременности, а при патологических процессах могут стать морфологической основой дефектов беременности на ранних сроках [2, 3].

Известно, что процесс трансформации эндометрия называется децидуализацией, а сам трансформированный эндометрий – децидуальной тканью. Клетки-предшественники в своем развитии проходят уникальную структурно-функциональную трансформацию: от адвентициальных клеток спиральных артерий к типичным децидуальным клеткам эпителиоидного типа [4], которые принимают участие в обеспечении питания эмбриона, в предотвращении иммунологического отторжения, продукции гормонов и осуществлении местного гомеостаза [5]. Часто авторы не акцентируют внимание на фенотипических различиях децидуальных клеток, которые в течение I-го триместра беременности экспрессируют различные белки цитоскелета клеток мезенхимального происхождения (десмин, виментин и т. д.) [6]. Десмин является структурным белком, входящим в состав промежуточных филаментов цитоскелета клеток мышечных тканей [7]. Выраженная экспрессия десмина в цитоплазме децидуальных клеток на-

блюдается на начальных этапах децидуализации стромы эндометрия [8]. Следовательно, он может служить гистохимическим маркером стадии этого процесса [9].

**Целью** нашего исследования стала оценка особенностей децидуальной трансформации эндометрия, а также прогностической значимости уровня экспрессии десмина в децидуальных клетках при невынашивании беременности ранних сроков.

### Материал и методы

Исследованы 102 случая невынашивания беременности ранних сроков (57 – неразвивающаяся беременность, 45 – самопроизвольный аборт), выявленные у женщин Гродненской области в 2005 г. Медиана возраста исследуемой группы пациенток составила 25,0 (22,0-32,0) лет. Группу сравнения составили 18 женщин с искусственными абортами и благоприятным течением беременности, медиана возраста которых составила 27,5 (24,0-31,0) года. По показателю медианы возраста пациенток группы не различались ( $p=0,29$ ).

При определении срока беременности у пациенток исследуемой группы установлено, что в большинстве случаев (70,6%) самопроизвольный аборт развивался на 7-й неделе беременности (7,0 (5,0-8,0)). Кроме того, 38 женщин (37,3%) были первобеременными, у 18 (17,6%) пациенток в анамнезе имелась первая благополучно протекавшая беременность, закончившаяся рождением здорового ребенка. В 63 случаях (61,8%) отмечена сопутствующая гинекологическая патология (эрозия, аднексит и т. д.), а в 33 (32,4%) – сопутствующая соматическая патология (хронический гастрит, хронический пиелонефрит и т. д.).

Соскобы эндометрия исследовались микроскопически, гистологические срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Иммуноги-

стохимическое исследование проводили в 34 наблюдениях на серийных парафиновых срезах с применением первичных антител к рецепторам Desmin в разведении 1:50 (M076001, фирма «Dako», Дания). Депарафинизацию и демаскировку антигенов произвели по стандартной методике. Срезы толщиной 3 мкм инкубировали с первичными антителами на протяжении 30 минут при +37°C. В качестве вторичных антител и пероксидазного комплекса использовали стандартный набор EnVision (фирма «Dako», Дания). Для визуализации реакции применяли раствор диаминобензидина DAB+ (фирма «Dako», Дания). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера. Контрольный срез оставляли без первой инкубации. Для количественной оценки результатов микропрепараты были сфотографированы в максимально возможном количестве неперекрывающихся полей зрения, полученных с использованием объектива  $\times 20$  с разрешением  $1600 \times 1200$  пикселей, при помощи микроскопа Leica и цифровой камеры Leica 425 C. Экспрессия маркёров оценивалась количественно при помощи компьютерной программы Aperio Image Scope\_v9.1.19.1567. Программа калибровалась, после чего результаты иммуногистохимических реакций оценивались, исходя из показателя «позитивность» (в интерфейсе программы «positivity»). Для каждого случая рассчитывалось среднее значение позитивности всех изображений по правилам нахождения среднего.

Статистический анализ проводили с использованием STATISTICA 10.0 (SNAХAR207F394425FA-Q). Для сравнения независимых переменных использованы тест Mann-Whitney, Kruskal-Wallis и медианный тест. Связь между переменными оценивали с помощью метода ранговой корреляции Спирмена. При оценке достоверности воздействия одного из факторов с учетом одновременного влияния на изучаемые показатели еще ряда других причин применялся многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) – метод, позволяющий вычленивать и оценить вклад каждого конкретного фактора, а также их композиций в величину дисперсии изучаемого показателя.

Прогностическую значимость переменных и критические значения (точки разделения) оценивали с помощью анализа характеристических (receiver operating characteristic, ROC) кривых. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Данные в работе представлены в формате: медиана (нижняя квартиль – верхняя квартиль).

### Результаты и обсуждение

При морфологическом анализе 102 соскобов эндометрия, взятых у женщин исследуемой группы, установили, что его гистоструктура отличалась от таковой при физиологической беременности. В соскобе преобладала децидуальная ткань с большим количеством рыхло расположенных предецидуальных клеток при минимальном количестве высококодифференцированных клеток эпителиоидного вида.

При иммуногистохимическом исследовании 34 случаев из исследуемой группы и 18 случаев из контрольной группы выявлено, что уровень позитивности десмина в стромальных клетках эндометрия при невынашивании беременности был значимо выше, чем при физиологической беременности – 0,395 (0,249-0,584) и 0,0006 (0,0004-0,0008), соответственно;  $p < 0,0001$  (рис. 1). Одновременно в спиральных артериях была выявлена аналогичная реакция на десмин гладкомышечных клеток в составе адвентиция, что стало внутренним позитивным контролем [2, 9].

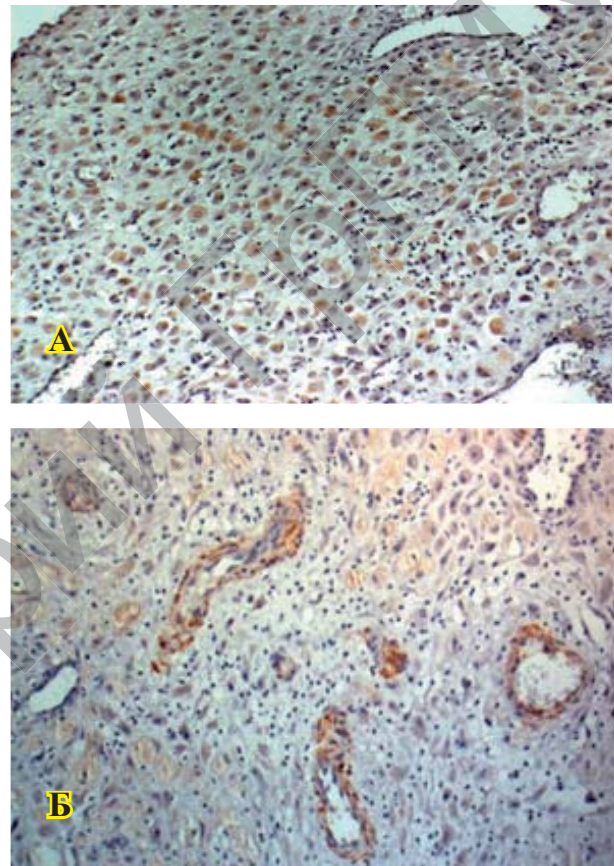


Рисунок 1. – Экспрессия десмина в исследуемой (А) и контрольной (Б) группах.

Окраска с использованием антител к десмину. Ув.  $\times 200$

С помощью теста Спирмена выявлена отрицательная корреляционная связь между позитивностью десмина и возрастом пациенток независимо от исхода беременности ( $r = -0,32$ ;  $p = 0,02$ ).

Значимых различий уровня экспрессии десмина в зависимости от срока беременности не обнаружено как в исследуемой, так и в контрольной группе ( $p > 0,5$ ).

В группе пациенток с самопроизвольным абортom уровень экспрессии десмина составил 0,347 (0,275-0,528), что ниже, чем при неразвивающейся беременности (0,465 (0,174-0,802)). Однако различия не достоверны ( $p = 0,3$ ).

У первобеременных женщин в исследуемой группе уровень десмина значимо выше (0,482 (0,347-0,686)), чем у женщин, имевших одну осложненную беременность в анамнезе (0,146



(0,103-039);  $p=0,008$ ) (рис. 2). В контрольной группе достоверных различий в зависимости от порядка беременности не выявлено ( $p>0,05$ ).

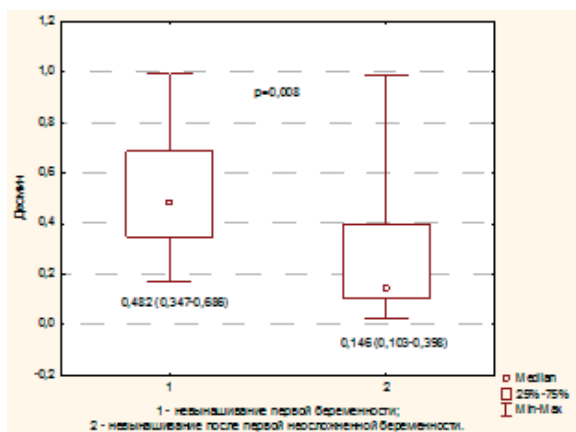


Рисунок 2. – Уровни позитивности десмина в зависимости от наличия первой неосложненной беременности в анамнезе

При проведении множественного дисперсионного анализа в качестве зависимой переменной использовался показатель позитивности десмина, в качестве группирующих (независимых) переменных – информация о невынашивании беременности (да/нет), ее сроке (до 6 недель/7-12 недель) и порядковом номере (первая/вторая). Дисперсионный анализ не выявил статистически значимого влияния группирующих факторов и их сочетания на степень экспрессии десмина в строме эндометрия ( $p=0,8$ ) (рис. 3).

ROC-анализ позволил определить точку разделения для прогнозирования невынашивания беременности в зависимости от уровня позитивности десмина в строме эндометрия (рис 4). Площадь под ROC-кривой равняется  $1,0\pm 0,0$  (достоверность различия с площадью под диагональю  $<0,0001$ ). Наиболее оптимальное соотношение чувствительности и специфичности на ROC-кривой соответствует уровню позитивности десмина, равному 0,004 (чувствительность – 100%, специфичность – 100%).

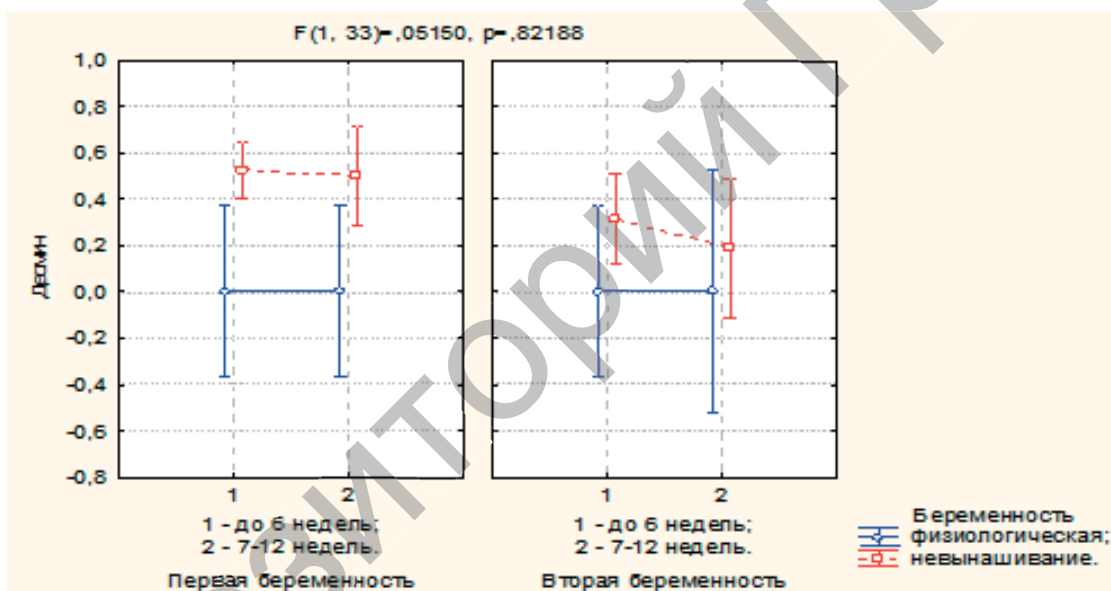


Рисунок 3. – Экспрессия десмина в зависимости от исхода и срока первой и второй беременности

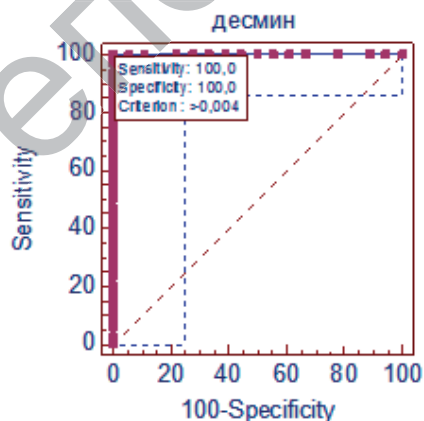


Рисунок 4. – ROC-кривая при прогнозировании невынашивания беременности в зависимости от уровня стромальной экспрессии десмина

### Заключение

Полученные данные наглядно свидетельствуют о том, что одной из причин невынашивания беременности ранних сроков (как неразвивающейся беременности, так и самопроизвольного аборта) может стать недостаточная децидуальная трансформация стромы эндометрия с остановкой процесса на этапе предецидуальных клеток, которые сохраняют фенотип мышечных клеток (маркер – десмин) [9, 13]. Однако этот маркер не может использоваться в качестве самостоятельного прогностического фактора невынашивания первой либо второй беременности.

### Выводы

1. Уровень экспрессии десмина в строме эндометрия пациенток с невынашиванием беременности значимо выше, чем при физиологи-

ческой беременности ( $p=0,002$ ), независимо от вида прерывания ( $p=0,3$ ).

2. Уровень позитивности десмина отрицательно коррелирует с возрастом пациенток исследуемой группы ( $r=-0,32$ ;  $p=0,02$ ).

3. При невынашивании первой беременности экспрессия десмина значимо выше, чем при не-

вынашивании второй беременности ( $p=0,008$ ).

4. Если уровень позитивности экспрессии десмина в строме эндометрия больше 0,004 (чувствительность 100% и специфичность 100%), можно прогнозировать невынашивание беременности.

### Литература

1. Кондриков, Н. И. Патология матки / Н. И. Кондриков. – Москва : Практическая медицина, 2008. – 334 с.
2. Неразвивающаяся беременность: гистологические и иммуногистохимические маркеры эндокринных нарушений в соскобах эндометрия / А. П. Милованов [и др.] // Архив патологии. – 2008. – № 6. – С. 22-25.
3. Aplin, J. D. An immunohistochemical study of human endometrial extracellular matrix during the menstrual cycle and first trimester of pregnancy / J. D. Aplin, A. K. Charlton, S. Ayad // Cell Tissue Res. – 1988. – Vol. 253. – P. 231-240.
4. Infrastructure of the endometrial stromal cell during the menstrual cycle / E. C. Wienke [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1968. – Vol. 102. – P. 65-77.
5. Wynn, R.M. Ultrastructural development of the human deciduas / R. M. Wynn // Am. J. Obstet. Gynecol. – Vol. 118. – P. 652-670.
6. Can, A. Expression of desmin and vimentin intermediate filaments in human decidual cells during first trimester pregnancy / A. Can, M. Tekelioğlu, A. Baltaci // Placenta. – 1995. – Vol. 16, № 3. – P. 261-75.
7. Desmin: molecular interactions and putative functions of the muscle intermediate filament protein / M. Costa [et al.] // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. – 2004. – Vol. 37, № 12. – P. 1819-1830.
8. Kusalus L.L. Immunolocalisation of extracellular matrix proteins and collagen synthesis in first trimester human deciduas / L. L. Kusalus, J. C Herr, C. D. Little // Anat. Rec. – 1987. – Vol. 218. – P. 402-415.
9. Desmin as an immunochemical marker of human decidual cells and its expression in menstrual fluid / R. Halperin, G. Fleminger, P. F Kraicer, E. Hadas // Hum. Reprod. – 1991. – Vol. 6, № 2. – P. 186-195.

### References

1. Kondrikov NI. Patologija matki. Moskva: Prakticheskaja medicina; 2008. 334 p. (Russian).
2. Milovanov AP, Boltovskaja MN, Fokina TV, Starosvetskaja NA, Nazimova SV. Nerazvivajushhajasja beremennost': gistologicheskie i immunogistohimicheskie markery jendokrinnih narushenij v soskobah jendometrija. Arhiv patologii. 2008;6:22-25. (Russian).
3. Aplin JD, Charlton AK, Ayad S. An immunohistochemical study of human endometrial extracellular matrix during the menstrual cycle and first trimester of pregnancy. Cell Tissue Res. 1988;253(4):231-240.
4. Wienke EC, Filiberto Calvazos BS, Hall DS, Lucas LV. Infrastructure of the endometrial stromal cell during the menstrual cycle. Am. J. Obstet. Gynecol. 1968;102:65-77.
5. Wynn RM. Ultrastructural development of the human deciduas. Am. J. Obstet. Gynecol. 1974;118:652-670.
6. Can A, Tekelioğlu M, Baltaci A. Expression of desmin and vimentin intermediate filaments in human decidual cells during first trimester pregnancy. Placenta. 1995;16(3):261-275.
7. Costa ML, Escalera R, Cataldo A, Oliveira F, Mermelstein CS. Desmin: molecular interactions and putative functions of the muscle intermediate filament protein. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2004;37(12):1819-1830.
8. Kusalus LL, Herr JC, Little CD. Immunolocalisation of extracellular matrix proteins and collagen synthesis in first trimester human deciduas. Anat. Rec. 1987;218:402-415.
9. Halperin R, Fleminger G, Kraicer PF, Hadas E. Desmin as an immunochemical marker of human decidual cells and its expression in menstrual fluid. Hum. Reprod. 1991;6(2):186-195.

## FEATURES OF ENDOMETRIAL STROMA DECIDUALIZATION IN EARLY PREGNANCY LOSS

Luchko E. V., Shtabinskaya T. T., Zubritsky M. G., Basinskiy V. A.

Educational Institution «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

**Background.** Decidualization of the endometrial stroma is a multistage process. The immunohistochemical marker of differentiation of decidual cells is desmin. **Purpose of the study.** The estimation of the prognostic significance of the level of desmin expression in decidual tissue in early miscarriage.

**Material and methods:** Clinico-morphological analysis of 102 cases of miscarriage revealed in women of the Grodno region in 2005 was carried out. Immunohistochemical studies were performed using murine monoclonal antibodies to Desmin receptors (Dako-Cytomation, M076001). **Results:** The level of desmin expression in the endometrial stroma of patients with miscarriage is significantly higher than in normal pregnancy ( $p = 0.002$ ). **Conclusions:** At a positivity level of desmin expression in the endometrial stroma greater than 0.004 it is possible to predict miscarriage with a sensitivity of 100% and a specificity of 100%.

**Keywords:** decidualization, desmin, miscarriage.

Поступила: 13.09.2018

Отрецензирована: 26.09.2018