

## ФОРМУВАННЯ ПІНОПОДІЙ У ЗДОРОВИХ ЖІНОК-ДОНОРІВ ЯЙЦЕКЛІТИН В ЦИКЛАХ КОНТРОЛЬОВАНОЇ ГІПЕРСТИМУЛЯЦІЇ ЯЄЧНИКІВ

*І.О. Судома*

Київська медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, Україна

### РЕЗЮМЕ

Проблема рецептивності та імплантаційної реконструкції ендометрію залишається однією із найбільш актуальних в сфері репродукції людини. Ембріон може імплантуватися тільки впродовж вузького періоду так званого «імплантаційного вікна», що характеризується формуванням піноподій. Метою цього дослідження було вивчення формування піноподій у здорових жінок-донорів яйцеклітин в циклах контрольованої гіперстимуляції яєчників (КГЯ). Об'єктами дослідження були 20 здорових жінок-донорів яйцеклітин. Методом скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) досліджувались піноподії в ендометріальних біопсіях. В більшості випадків (13-65%) розвинуті піноподії візуалізувались на ЛГ +6 та ЛГ+7, у 7 жінок (35%) – на ЛГ +8 – ЛГ+10. При повторному циклі КГЯ у 5 (з семи) жінок розвинуті піноподії виявлялись в той самий час, а у 2 - спостерігалась різниця в добу. Піноподії у циклах стимуляції суперовуляції з'являються в секреторній фазі циклу на дні ЛГ+6 – ЛГ+10; в більшості випадків (65%) зрілі піноподії виявляються на ЛГ+6 та ЛГ+7; в аналогічних умовах час виникнення зрілих піноподій у однієї і тієї ж жінки є відносно постійним; контрольована гіперстимуляція яєчників не впливає на часові межі формування піноподій.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** імплантація, піноподії, ендометрій

Проблема рецептивності та імплантаційної реконструкції ендометрію залишається однією із найбільш гостро актуальних і дискусійних у сфері репродукції людини. Насамперед це стосується ефективності допоміжних репродуктивних технологій у лікуванні безпліддя. Результативність циклів екстракорпорального запліднення, не зважаючи на більш ніж двадцятирічну історію, залишається гіршою, ніж можна було б очікувати. Високі рівні запліднення гамет продовжують контрастувати з відносно низькою частотою імплантації, що, скоріше за все, пов'язане з проблемами ендометріальної рецептивності [17, 18].

Vigano P. та Ranieri S. у 1945 році виголосили такий афоризм: «Бластоциста може віртуально імплантуватися в будь-якому місці людського організму, крім нерцептивного ендометрію». Дійсно, як не дивно, порівняно з іншими тканинами організму ендометріальний епітелій становить найбільший бар'єр для імплантації. Ембріон може імплантуватися тільки впродовж вузького періоду так званого «імплантаційного вікна» [1]. Нові знання в нашому розумінні імплантації були отримані дослідженнями на тваринних моделях [21]. Імплантація відбувається лише тоді, коли ендометрій під гормональним впливом досягає рецептивної фази. Ця стадія («імплантаційне вікно») є короткоплинною і має співпадати з розвитком ембріона до стадії бластоцисти [7, 8, 12, 18, 21, 22, 23, 25, 28]. У пацієнтів фаза рецептивності ендометрію характеризується формуванням

характерних вибухань апікальної частини епітеліальних клітин. Мембрани цих клітин втрачають мікроворсини і формують гладенькі утворення, які, як було визначено, беруть участь у всмоктуванні внутрішньоматкової рідини, а тому й були названі піноподіями (від слова піноцитоз) [23]. Такі зміни епітеліальних мембран впродовж імплантаційного вікна відбуваються у багатьох (всіх досліджених) ссавців. Піноподії також утворюються в ендометрію жінок і можуть використовуватись як один з маркерів рецептивності ендометрію [12, 14, 15, 16, 22, 23, 24]. Функціональна природа піноподій залишається невизначеною остаточно [1, 5, 13], але, скоріше за все, вони беруть безпосередню участь у адгезії бластоцисти до поверхні ендометрію [7].

В попередніх наших роботах було показано, що у пацієнтів з багаторазовими невдачами лікування безпліддя методом екстракорпорального запліднення існують зрушення у якості, кількості та часі формування піноподій [2, 4]. Висока результативність модифікованих протоколів ембріотрансферу з використанням ембріонів різного віку підтверджують необхідність та важливість врахування особливостей формування піноподій у конкретної пацієнтки [3]. Але, не зважаючи на незаперечний факт існування піноподій та їх прямого зв'язку із рецептивністю ендометрію, нез'ясування ряду ключових моментів цієї проблеми стоїть на заваді широкому використанню дослідження піноподій у пацієнтів з безпліддям. Ці ключові аспекти зводяться до наступного:

- чи є постійними часові межі формування піноподій для загалу фертильних жінок;
- чи є часові межі відкриття «імплантаційного вікна» постійними для певної жінки;
- чи збігаються вони у натуральних, стимульованих та заступних циклах.

Частковому вирішенню цих проблем присвячена запропонована робота.

Метою дослідження було вивчення формування піноподій у здорових жінок-донорів яйцеклітин в циклах контрольованої гіперстимуляції яєчників (КГЯ).

Робота є частиною планових науково-дослідних робіт кафедри акушерства і гінекології та репродуктології КМАПО за темою «Лікування ендометріозу та реабілітація Генеративної функції у жінок» (ІПТ 47.1 Шифр 0101U000235).

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктами дослідження були 20 здорових жінок донорів яйцеклітин з підтвердженою фертильністю (якнайменше одні фізіологічні пологи в анамнезі), що добровільно погодилися на додаткове дослідження ендометрію в середній лютеїновій фазі циклу. Середній вік жінок становив  $27,4 \pm 0,67$  (від 21 до 33 років). Всім жінкам проводилася КГЯ гонадотропінами (Пергонал, Гонал-Ф, Метродин-ВЧ – Сероно, Швейцарія) з агоністами ГТ-РГ (Супрефакт-Авентіс, Великобританія) за довгим лютеїновим протоколом. Підтримка лютеїнової фази проводилася вагінальним прогестероном (Утрожестан, Бесін-Ісковеско, Франція). День наступний до тригерної дози ХГ вважався днем піку ЛГ або ЛГ 0, а день аспірації ооцитів вважався ЛГ+1.

Всім жінкам проводилася подвійна біопсія в лютеїновій фазі на ЛГ+6/7 та ЛГ+8/9 дні. Забір матеріалу для біопсії виконувався ендометріальним аспіратором (Wallace, Великобританія) з передньої та задньої стінок порожнини матки. Матеріал відмивався від крові у фізіологічному розчині та ділився на дві частини. Одна з них клалась у 2,5% розчин глютарового альдегіду на фосфатному буфері і витримувалась так 24 години, потім цей матеріал фіксувався у 4% розчині осмія на фосфатному буфері, дегідратувався розчином ацетону на дистильованій воді у зростаючих концентраціях (від 20% до 100%), висушувався у вуглекислому газі покривався золотом (150-200 А). Скануюча електронна мікроскопія проводилася на мікроскопі JEOL Super probe 733 із збільшенням  $\times 2000$ . Оцінювалася кількість, якість піноподій та

час їх виникнення. Стадія розвитку піноподій визначалась за описом [14], у якому розрізнялись піноподії, що розвиваються, розвинуті (зрілі) та регресуючі. Кількість піноподій визначалась за такими критеріями: піноподії займають більше 50% поверхні ендометрію у полі зору – рясні (велика кількість), від 20 до 50 % – помірні, менше 20 % – рідкі, якщо не виявляються – відсутні.

Друга частина біопсійного матеріалу клалась у 10% розчині формаліну для подальшого гістологічного дослідження. Гістологічне дослідження матеріалу проводилося з фіксацією формаліном, на парафінових зрізах з фарбуванням гематоксилін-еозином та по Ван-Гізону.

В основу морфологічної оцінки ендометрію покладені критерії [19, 20].

Всі жінки дали письмову згоду, що підтверджувала їх інформованість і добровільність щодо участі у дослідженні. План та програма дослідження були погоджені з етичним комітетом клініки Ісіда, на базі якої проводилась робота.

Статистична обробка здійснювалась за стандартними методиками з використанням методів варіаційної статистики. Отримані результати вводились у базу даних в програмі Statistica 5.0. Рівень ймовірності безпомилкового прогнозу обмежувався  $p \geq 95\%$ , а для оцінки ймовірнісних характеристик результатів –  $0.001 < p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Гістологічне дослідження зразків ендометрію у всіх донорів яйцеклітин показало, що ендометрій відповідає критеріям середньої стадії фази секретії.

Потрібно відзначити, що у всіх жінок вдалось отримати задовільні для оцінки якості та кількості піноподій зразки ендометрію.

Кількісна характеристика формування піноподій у ендометрію жінок донорів ооцитів представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Кількість піноподій в ендометрію у жінок-донорів ооцитів

Кількість піноподій	Кількість пацієнток, %
Відсутні	0
Рідкі	0
Помірна кількість	12/60
Велика кількість	8/40
Усього	20/100

Як видно із табл. 1., у всіх жінок відзначалася велика або помірна кількість піноподій. Випадків, коли б піноподії були рідкі або відсутні серед обстежених жінок не було.

Час виникнення розвинутих піноподій у обстежених жінок представлений в табл. 2.

З табл. 2. видно, що у жінок донорів ооцитів в більшості випадків (13-65%) розвинуті піноподії візуалізувались на ЛГ +6 та ЛГ+7, а у 7 (35%) – на ЛГ +8 – ЛГ+10.

Враховуючи те, що піноподії, скоріше за все, беруть безпосередню участь у адгезії бластоцисти до поверхні ендометрію [7], розвинуті піноподії мають відповідати 5-6 дню розвитку ембріону, або ЛГ +6/7. Як ми бачимо, в нашому дослідженні у більшості здорових жінок в циклі КГЯ розвинуті піноподії дійсно виявлялись на ЛГ + 6/7. Тому вбачається логічним вважати вчасним наявність розвинутих піноподій на ЛГ+6/7, тих, що розвиваються – на день ЛГ+6 та регресуючих – на ЛГ +8. Таким чином, у 7 жінок донорів ооцитів спостерігалось запізнення розвитку піноподій: в трьох випадках на 1 день, в двох – на 2 і 3 дні.

Частині донорів ооцитів (7 жінок) дослідження піноподій було проведено повторно в аналогічному циклі КГЯ. Результати дослідження представлені в табл. 3.

Таблиця 2  
Час виникнення зрілих піноподій у жінок донорів ооцитів

День циклу	Кількість пацієнток/%
ЛГ+5	0
ЛГ+6	6/30,00
ЛГ+7	7/35,00
ЛГ+8	3/15,00
ЛГ+9	2/10,00
ЛГ+10	2/10,00
Усього	20/100

Таблиця 3  
Порівняння часу виникнення піноподій у жінок донорів ооцитів в двох циклах КГЯ

Пацієнт	День циклу	
	Перша програма	Друга програма
1	ЛГ+6	ЛГ+6
2	ЛГ+7	ЛГ+6
3	ЛГ+6	ЛГ+6
4	ЛГ+7	ЛГ+7
5	ЛГ+8	ЛГ+8
6	ЛГ+9	ЛГ+8
7	ЛГ+8	ЛГ+8

З табл. 3. видно, що у 5 з семи пацієнтів розвинуті піноподії виявлялись в той самий час у аналогічних циклах КГЯ, а в двох спостерігалась різниця в добу. Враховуючи те, що за даними літератури [14], стадія

зрілих піноподій триває приблизно 24 години, можна припустити, що різниця в одну добу не є суттєвою і для однієї і тієї ж жінки в аналогічних гормональних умовах розвиток піноподій за часом є однаковим. Ряд дослідників [9, 10, 11, 26, 27, 29], вивчаючи морфологічну структуру ендометрію у жінок, яким проводилась стимуляція овуляції, відзначали прискорення розвитку процесів секреторної трансформації слизової оболонки матки. Було навіть висловлене припущення, що в циклах КГЯ може виникати невідповідність структури ендометрію та стадії розвитку ембріона за рахунок відмінності гормонального статусу [6]. Логічно було б думати, що, можливо, і розвиток піноподій може прискорюватись та/або порушуватись в умовах стимуляції яєчників в тому числі і в циклах екстракорпорального запліднення. Але, не зважаючи на те, що ми не порівнювали розвиток піноподій у тих самих жінок в натуральних циклах і в умовах контрольованої гіперстимуляції яєчників, з огляду на те, що розвинуті піноподії в більшості випадків спостерігались в нашому дослідженні на ЛГ+6 та ЛГ+7, що відповідає розвитку ембріону до стадії бластоцисти, нам здається, що КГЯ не впливає на час виникнення розвинутих піноподій.

## ВИСНОВКИ

1. Піноподії у циклах стимуляції суперовуляції з'являються в секреторній фазі циклу на дні ЛГ+6 – ЛГ+10.
2. У здорових жінок спостерігається рясний або помірний ріст піноподій.
3. У здорових жінок в більшості випадків (65%) зрілі піноподії виявляються на ЛГ+6 та ЛГ+7.
4. В аналогічних умовах час виникнення зрілих піноподій у однієї і тієї ж жінки є відносно постійним.
5. КГЯ не впливає на часові межі формування піноподій.

Подальші дослідження біології формування піноподій дозволять в майбутньому підвищити ефективність лікування жіночого безпліддя.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Ильина О.И. // Здоровье женщины. - 2004. - № 4(20). - С. 79-80.
2. Судома И.А., Задорожная Т.Д. // Здоровье женщины. - 2004. - № 4(20). - С.122-125.
3. Судома И.О. // Репродуктивное здоровье женщины. - 2005. - № 1(21). - С. 153-157.
4. Судома И.О., Задорожная Т.Д. // Здоровье женщины. - 2005. - №.2(23). - С.1-4.
5. Adams S.M., Gayer N., Hosie M.J., et. al. // Human Reprod. - 2002. - Vol.17. - P. 1980-1986.
6. Benadiva C.A., Metzger D.A. // Fertil. Steril. - 1994. - Vol. 61. - P. 700-704.
7. Bentin – Ley U., Siogren A., Nelsson et. al. // Human Reprod. - 1999. - Vol. 14. - P. 515-520.
8. Creus M., Ordi J., Fabregues F., Casamitjana R., et. al. // Human Reprod.. - 2003. - Vol.18. - P. 683-693.

9. Forman R.G., Euchenne B., Nessman C. et. al. // Fertil. Steril. - 1989. - Vol. 41. - P. 31-35.
10. Garcia J.E., Acosta A.A., Hsiu J.G., et. al. // Fertil. Steril. - 1984. - Vol. 41. - № 1. - P. 31-35.
11. Lass A., Peat D., Avery S., et. al. // Human Reprod. - 1998. - Vol. 13. - № 11. - P. 3203-3205.
12. Martel D., Monier M.N., Roche D., et. al. // Human Reprod. - 2003. - Vo 1.6. - P. 597- 603.
13. Murphy C.R. // Human Repr. - 2000. - Vol. 15. - P. 2451-2454.
14. Nikas G. // Human Reprod. - 1999. - Vol. 14. - P. 37-44.
15. Nikas G. // Human Reprod. - 1999. - Vol. 10. - P. 1208-1213.
16. Nikas G., Aghayanova L. // Reproductive BioMedicine Online. - 2002. - Vol. 4. - P. 18-23.
17. Nikas G., Develioglou O.H., Toner J.P., et. al. // Human Reprod. - 1999. - Vol. 14. - P. 787-792.
18. Nikas G., Makrigrannakis A., Howata O., et. al. // Ann.N.Y.Acad.Sci. - 2002. - Vol. 900. - P. 316-324.
19. Noyes R.W., Haman J.O. // Fertil. Steril.-1953.-Vol. 4.-P. 504-517.
20. Noyes R.W., Hertig A.T., Rock J. // Fertil. Steril. - 1950. - Vol. 1. - P. 3-25.
21. Psychoyos A. // J.Reprod.Fertil. - 1976. - Vol. 25(Suppl.). - P. 17-28.
22. Psychoyos A. // Ann.N.Y. Acad.Sci. - 1986. - Vol. 476. - P. 36-42.
23. Psychoyos A., Mandon P. // Journ. of Reprod. and Fert. - 1971.- Vol. 26. - P. 137-138.
24. Psychoyos A., Nikas G. // Assisted Repr. Reviews. -1994. - Vol.4. - P. 26-32.
25. Psychoyos A. // Handbook of Physiology, edit. Greep R.O.,Astwood E.B, Endocrinology: Williams and Wilkins, Baltimor. - 1973. - Vol. II. - P. 187-215.
26. Seppala M., Tiitinen A. // Human Reprod. - 1995. - № 10. (Suppl.2). - P.67-76.
27. Sterzik K., Dallenbach C., Schneider V., et. al. // Fertil Steril. - 1988. - Vol. 50. - № 3. - P. 457-462.
28. Thie M., Rospel R., Dettmann W., et. al. // Human Repr. Update. - 2002. - Vol.13. – P. 3211-3219.
29. Ubaldi F., Bougain C., Tournay H. et.al. // Fertil. Steril. - 1997. - Vol. 67. - P. 521-526.

## **ФОРМИРОВАНИЕ ПИНОПОДИЙ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН- ДОНОРОВ ЯЙЦЕКЛЕТОК В ЦИКЛАХ КОНТРОЛИРОВАННОЙ ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ**

***И.А. Судома***

Киевская медицинская академия последиplomного образования имени П.Л.Шупика, Украина

---

### **РЕЗЮМЕ**

Проблема рецептивности и имплантационной реконструкции эндометрия остается одной из наиболее актуальных в сфере репродукции человека. Эмбрион может имплантироваться только в течение узкого промежутка времени, называемого «имплантационным окном», который характеризуется формированием пиноподий в эндометрии. Целью этого исследования было изучение пиноподий у здоровых женщин-доноров яйцеклеток в циклах контролируемой гиперстимуляции яичников (КГЯ). Объектами исследования были 20 здоровых женщин-доноров яйцеклеток. Методом сканирующей электронной микроскопии исследовались пиноподии в эндометриальных биопсиях. В большинстве случаев (13-65%) развитые пиноподии визуализировались на ЛГ +6 и ЛГ+7, у 7 женщин (35%) – на ЛГ +8 – ЛГ+10. При повторном цикле КГЯ у 5 (из семи) женщин развитые пиноподии выявлялись в те же дни цикла, а у 2 – с разницей в одни сутки. Пиноподии в циклах стимуляции суперовуляции появляются в секреторной фазе цикла на ЛГ+6 – ЛГ+10; в большинстве случаев (65%) зрелые пиноподии выявляются на ЛГ+6 та ЛГ+7; в аналогичных условиях время возникновения зрелых пиноподий для одной и той же женщины практически остается постоянным; КГЯ не влияет на временные рамки формирования пиноподий.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** имплантация, пиноподии, эндометрий

## **PINOPODE FORMATION IN HEALTHY OOCYTE DONORS IN THE CYCLES OF CONTROLLED OVARIAN HYPESTIMULATION**

***I.A. Sudoma***

Kyiv Medical Advanced Training Academy named after Shupyk P., Ukraine

---

### **SUMMARY**

The problem of endometrial receptivity remains to be one of the most actual in the field of human reproduction. The embryo can implant during the narrow period called the «implantation window» which is characterized by formation of pinopodes. The aim of this study was to evaluate the pinopode formation in healthy oocyte donors in the cycles of controlled ovarian hypostimulation (COH). The objects of investigation were 20 healthy oocyte donors. The pinopodes in the endometrial biopsies were investigated with scanning electron microscopy. In the majority of the cases (13-65%) developed pinopodes were found on LH+6 and LH+7, in 7 women (35%) – on LH +8 – LH+10. In repeated COH cycles in the same women the developed pinopodes were seen on the same days in 5 (from seven) cases and with 1-day difference in 2 cases. In COH cycles pinopodes appear on the LH+6 – LH+10 days; in the majority of cases the developed pinopodes are seen on LH+6, LH+7; the time of pinopode formation is mainly constant in the same woman under the same conditions; COH does not influence the time frames of pinopode formation.

**KEY WORDS:** implantation, pinopodes, endometrium