

DOI: 10.52705/2788-6190-2023-04-10
УДК 618.2-055.23-053.7-083-082:614.2

Особливості функціонального стану ендометрія у жінок репродуктивного віку з аутоімунною патологією щитоподібної залози

І. П. Нецкар

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика,
м. Київ

Мета дослідження: оцінювання функціонального стану ендометрія у жінок репродуктивного віку із autoimmune pathology щитоподібної залози.

Матеріали та методи. Проведено порівняльну оцінку стану імунної системи, патоморфологічного та імуногістохімічного стану ендометрія у 205 жінок репродуктивного віку з трубно-перитонеальним безпліддям, які звернулися для проведення допоміжних репродуктивних технологій і зокрема 117 пацієнток з носійством антитіл до щитоподібної залози (антитіл до тиреопероксидази і антитіл до тиреоглобуліну) без порушення функції щитоподібної залози і 88 пацієнток без патології щитоподібної залози.

Для оцінки стану імунної системи проводили фенотипічну характеристику клітин імунної системи методом проточної цитофлуометрії із застосуванням моноклональних антитіл.

Результати. Виявлено підвищену частоту виявлення як органоспецифічних (антиоваріальні), так і неорганоспецифічних антитіл у жінок з аутоімунними захворюваннями щитоподібної залози порівняно з групою жінок без патології щитоподібної залози підтверджує теорію генералізованої аутоімунної дисфункції у цих жінок, маркером якої є анти tireoїдні антитіла.

В ендометрії жінок з аутоімунними захворюваннями щитоподібної залози у фазу проліферації наголошуються запальноподібні зміни з утворенням розсіяної лімфоцитарної інфільтрації стромы і збільшенням числа клітин, що експресують маркери плазматичних клітин CD138, натуральних кілерів CD56 і макрофагів CD68; посилення процесів апоптозу клітин (Araf-1) в епітелії і стромі ендометрія.

Висновки. У період «вікна імплантації» в ендометрії у жінок з аутоімунними захворюваннями щитоподібної залози виявлено трикратне зниження експресії ключового маркера рецетивності ендометрія – LIF, що може є причиною невдач імплантації при проведенні програми допоміжних ре-

Перинатологія та репродуктологія: від наукових досліджень до практики | **Perinatology and reproductology:** from research to practice

продуктивних технологій. Отримані результати необхідно враховувати під час розроблення алгоритму діагностичних і лікувально-профілактичних заходів.

Ключові слова: ендометрій, функціональний стан, аутоімунна патологія щитоподібної залози, репродуктивний вік.

На сьогодні аутоімунні захворювання щитоподібної залози (АЗЩЗ), що перебігають з тиреотоксикозом, і тиреоїдит Хашимото, що є основною причиною розвитку гіпотиреозу, зустрічається приблизно у 5% населення земної кулі і можуть призводити до розвитку патології в репродуктивній системі жінок найчастіше у вигляді порушень менструальної функції, безпліддя, гормонозалежних пухлин, а в разі субклінічного перебігу можуть розглядатися як чинники ризику невиношування вагітності або аномалій розвитку плода [1–9].

Удосконалення програм допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) дозволило збільшити частоту настання вагітності від 30% до 80% при безплідді різного генезу [10–18]. Водночас одним з найменш вирішених питань цього наукового напрямку є вивчення особливостей безпліддя і стану імунної системи.

Мета дослідження: оцінювання функціонального стану ендометрія у жінок репродуктивного віку із аутоімунною патологією ЩЗ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вирішення поставленої мети було проведено порівняльну оцінку стану імунної системи, патоморфологічного та імуногістохімічного стану ендометрія у 205 жінок репродуктивного віку з трубно-перитонеальним безпліддям, які звернулися для проведення ДРТ, а саме:

- 117 пацієнток з антитілами до ЩЗ (АТ-ЩЖ) (АТ-тиреопероксидази – ТПО і АТ-тиреоглобуліну – ТГ) без порушення функції ЩЖ,
- 88 пацієнток без патології ЩЖ.

Для оцінювання стану імунної системи проводили фенотипічну характеристику клітин імунної системи методом проточної цитофлуометрії із застосуванням моноклональних антитіл з кластерами диференціювання CD3, CD4, CD8, CD4/CD8, CD19, CD19+CD5+, CD56+, CD16+CD56+. Крім того проводили Pipelle-біопсію і патоморфологічне дослідження ендометрія, а також імуногістохімічне дослідження ендометрія з оцінкою його рецептивності (маркери: клітинної проліферації – Ki-67, апоптозу – Araf-1, NK – CD 56+, плазматичних клітин – CD 138+, моноцитів / макрофагів – CD68+, LIF – глікопротеїн: лейкоїд-інгібуєчий чинник).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати оцінки фенотипічної характеристики субпопуляцій лімфоцитів у 57 пацієнток із безпліддям і АТ-ЩЖ, 25 жінок з безпліддям без АТ-ЩЖ і у 22 фертильних жінок виявили достовірне підвищення середніх значень відносного вмісту В-лімфоцитів (CD19+) у групі з аутоімунним тиреоїдитом (АІТ) порівняно з пацієнтками без патології ЩЖ і здоровими фертильними жінками ($9,8 \pm 5,8\%$ і $8,2 \pm 2,7\%$, $8,1 \pm 2,3\%$; $p < 0,05$), а також достовірне підвищення середніх рівнів абсолютного вмісту CD19+/CD5+ в основній групі щодо аналогічного показника в групі порівняння і в контролі ($4,4 \pm 1,4\%$, $1,7 \pm 0,4\%$, $1,4 \pm 0,2\%$; $p < 0,05$).

Відносний вміст природних кілерів (CD56+) в основній групі достовірно перевищував середні показники в групі порівняння і в контролі (CD56+ – $20,7 \pm 7,3\%$;

16,7±5,2%; 14,3±3,1%; CD16+56+ – 18,1±5,6%; 14,6±5,0%; 14,2±4,7%; $p<0,05$). Абсолютний вміст CD56+ в основній групі також достовірно перевищував аналогічний показник у групі порівняння і в контролі ($0,4\pm0,16 \times 10^9/\text{л}$; $0,2\pm0,07 \times 10^9/\text{л}$, $0,25 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ($p<0,05$)).

Відомо, що пул клітин CD56+ і CD19+/CD5+ відповідальний не лише за розвиток АІТ, але і призводить до розвитку інших аутоімунних процесів в організмі, про що свідчить наявність супутніх антифосфоліпідних антитіл, а також антитіл до гормонів. Виявлено позитивну кореляцію між кількістю невдалих спроб ДРТ і значенням CD19+/CD5+ у пацієнок основної групи дослідження ($r=0,52$; $p<0,05$). Можна передбачити, що при появі аутоантитіл активація CD19+/CD5+ призводить до порушення ранніх етапів імплантації, наголошується повільне ділення і фрагментація ембріонів, повільний приріст рівня ХГ, субхоріальні гематоми.

У пацієнок основної групи дослідження було виявлено достовірно вищу частоту антитіл до кардіоліпіну – IgM (12,3%) β 2-глікопротеїну-1-IgM (17,5%), фосфатидилсерину-IgG (10,5%), антиоваріальних антитіл (10,5%) і антитіл до хоріонічному гонадотропіну людини (ХГЛ) – IgM (20,0%) порівняно з групою жінок із безпліддям без патології ЩЖ і фертильних жінок без тиреоїдної патології ($p<0,05$).

Не зафіксовано достовірних відмінностей у частоті виявлення антинуклеарних антитіл і антитіл до ДНК у жінок з АІТ і у пацієнок групи порівняння, хоча їх можна асоціювати з невдачами ДРТ. Також не було виявлено достовірної різниці в частоті виявлення підвищених рівнів антитіл до прогестерону в основній групі, групі порівняння і контрольній групі (33,3% і 30,0%, 40,9%; $p>0,05$). Підвищена частота виявлення антитіл до ХГЛ у жінок з АІТ у програмах ДРТ є закономірною і може бути обумовлена як структурною гомологією тиреотропного гормону (ТТГ), фолікулоstimулюючого (ФСГ) і лютеїнізуючого (ЛГ) гормонів, так і попередніми штучними і мимовільними абортами, а також використанням гонадотропінів у циклах стимуляції суперовуляції.

Отже, виявлена підвищена частота виявлення як органоспецифічних (антиоваріальні), так і неорганоспецифічних антитіл у жінок з АЗЩЖ порівняно з групою жінок без патології ЩЖ підтверджує теорію генералізованої аутоімунної дисфункції у цих жінок, маркером якої є антитиреоїдні антитіла.

Для виявлення можливих дефектів імплантації у жінок з АІТ і попередніми повторними невдалими спробами ДРТ нами проведена морфологічна і імуногістохімічна оцінка ендометрія пацієнок досліджуваних груп. У всіх пацієнок з АІТ в ендометрії у фазу проліферації відзначена наявність ознак запальної реакції у вигляді слабо вираженої розсіяної лімфогістіоцитарної інфільтрації стромі. Інфільтрати розташовувалися переважно в стромі біля залоз і спіральних артерій і були представлені лімфоцитами, макрофагами і поодинокими плазматичними клітинами. Водночас у жодному з випадків не було виявлено всіх класичних ознак хронічного ендометриту.

З метою детального дослідження ендометрія проведено імуногістохімічне дослідження, результати якого виявили достовірне підвищення експресії маркера плазматичних клітин (CD138), який визнаний ключовим маркером хронічного запального процесу в основній групі ($24,9\pm6,7$ бала); у групі порівняння – $4,3\pm0,7$ бала; у групі контролю – 0 ($p<0,05$). Рівень CD138 в ендометрії був на 30% вище у жінок з ехографічними ознаками АІТ порівняно з жінками без патології ЩЖ, що доводить спільність і взаємозв'язок запальних реакцій в різних органах при системних аутоімунних порушеннях.

Рівень експресії маркера макрофагів CD68 також був достовірно вище у жінок з АІТ ($48,4 \pm 11$ бала), ніж у групі порівняння ($36 \pm 8,6$ бала), ($p < 0,05$) і в контролі ($29,6 \pm 3,5$ бала) ($p < 0,05$). Високий рівень макрофагів (CD68+) є маркером запально-го процесу в тканині і асоційований з рецидивуючими викиднями.

У жінок з АІТ порівняно з групою пацієнток без патології ЩЖ і з групою фертильних жінок у фазу проліферації було відзначено достовірне підвищення експресії в ендометрії маркера NK-клітин (CD56+), що виявляється на мембрані ($3,67 \pm 3,1$ бала, $0,9 \pm 0,05$ бала і $0,08 \pm 0,01$ бала відповідно; $p < 0,05$), що свідчило про імунологічну напруженість в ендометрії пацієнток основної групи.

Експресія маркера Ki-67 у клітинах залозистого і покривного епітелію, що відображає рівень проліферації клітин в ендометрії, в основній групі була трохи вище за показники у групі порівняння ($24 \pm 10,6$ бала і $21,2 \pm 6,04$ бала; $p > 0,05$) і практично не відрізнялася від показників у контролі ($20,8 \pm 3,6$ бала) ($p > 0,05$). У стромі ендометрія експресія маркера проліферації в основній групі була достовірно вище за контрольні значення і становила $6,2 \pm 4,07$ бала ($p < 0,05$), проте не відрізнялася від показників у групі порівняння ($7,5 \pm 2,8$ бала) ($p > 0,05$).

Інтенсивність процесу апоптозу клітин, яку визначають за експресією маркера Араф-1 у клітинах залозистого і покривного епітелію в основній групі була достовірно вище за показники в контролі ($4,3 \pm 1,6$ бала і $2,8 \pm 0,98$ бала відповідно; $p < 0,05$) і трохи перевищувала аналогічний показник у групі порівняння ($3 \pm 1,67$ бала; $p > 0,05$). У стромі ендометрія експресія Араф-1 була зіставна у всіх групах.

Отже, нами виявлений дисбаланс процесів проліферації і апоптозу клітин в ендометрії у жінок з АЗЩЗ, що може сприяти невдачам імплантації.

На сьогодні найбільш важливим маркером рецептивності ендометрія визнаний глікопротеїн LIF. Порушення експресії LIF в епітеліальних клітинах може бути причиною рецидивуючих невдач імплантації. Результати імуногістохімічної оцінки рецептивності тканини секреторного ендометрія на 18–22-й день менструального циклу (період «вікна імплантації») продемонстрували, що у пацієнток з АТ-ЩЖ експресія LIF була українською ($1,02 \pm 0,05$ бала) порівняно з аналогічним показником у II групі ($1,35 \pm 0,9$ бала; $p < 0,05$) і в контролі – $3,75 \pm 1,8$ бала ($p < 0,05$), що свідчить про різке порушення рецептивності тканини і є прогностичним маркером порушень процесів імплантації і невдач програм ДРТ.

ВИСНОВКИ

Результати проведених досліджень свідчать, що виявлена підвищена частота виявлення як органоспецифічних (антиоваріальні), так і неорганоспецифічних антитіл у жінок із АЗЩЗ порівняно із групою жінок без патології ЩЗ підтверджує теорію генералізованої аутоімунної дисфункції у цих жінок, маркером якої є антитиреоїдні антитіла. Крім того, в ендометрії жінок з АЗЩЗ у фазу проліферації наголошуються запальноподібні зміни з утворенням розсіяної лімфоцитарної інфільтрації стромі і збільшенням числа клітин, що експресують маркери плазматичних клітин CD138, натуральних кілерів CD56 і макрофагів CD68; посилення процесів апоптозу клітин (Араф-1) в епітелії і стромі ендометрія.

У період «вікна імплантації» в ендометрії у жінок з АЗЩЗ виявлено трикратне зниження експресії ключового маркера рецептивності ендометрія – LIF, що може є причиною невдач імплантації при проведенні програми ДРТ.

Отримані результати необхідно враховувати під час розроблення алгоритму діагностичних і лікувально-профілактичних заходів.

The women of reproductive age have features of the functional state of endometrium with autoimmunity pathology of thyroid

I. P. Netskar

The objective: to estimate the functional state of endometrium for the women of reproductive age with autoimmunity pathology of thyroid.

Materials and methods. The comparative estimation of the state of the immune system, pathological and to the immunohistochemical state of endometrium in 205 women of reproductive age, which suffer pipe peritoneal by infertility and that appealed for the leadthrough of assisted reproductive technologies, including 117 patients, with the transmitter of antibodies to the thyroid (antibodies to thyroperoxidase and antibodies to thyroglobulin) without the parafunction of thyroid and 88 patients without pathology of thyroid is conducted.

For the estimation of the state of the immune system conducted phenotypical description of cages of the immune system the method of running cytoflowmetry with application of monoclonal antibodies.

Results. Found out by us enhanceable frequency of organ-specific (antiovarian) and non organ-specific antibodies for women with the autoimmunity diseases of thyroid as compared to the group of women without pathology of thyroid sustains a theory of generalized of autoimmunity disfunction for these women, the marker of which are antithyroid antibodies. In addition, in endometrium of women with the autoimmunity diseases of thyroid in the phase of proliferation inflammatory similar changes are marked with formation of the dissipated lymphocytic infiltration of stroma by the increase of number of cages, that express markers of plasmatic cages of CD138, natural killers of CD56 and macrophages of CD68; strengthening of processes of apoptosis of cages (Apaf-1) is in an epithelium and stroma of endometrium.

Conclusion. In a period the «window of implantation» in endometrium for women with the autoimmunity diseases of thyroid found out 3th multiple decline of expression of key marker of receptivity of endometrium – LIF, that can is reason of failures of implantation during the leadthrough of the program of assisted reproductive technologies. The got results must be taken into account at development of algorithm of diagnostic and treatment-and-prophylactic measures.

Keywords: endometrium, functional state, autoimmunity pathology of thyroid, reproductive age.

Відомості про автора

Нецкар Ірина Петрівна – канд. мед. наук, доц., кафедра акушерства, гінекології та перинатології, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ; тел.: (097) 965-19-65. E-mail: netskar19doctor@gmail.com
ORCID: 0000-0003-4162-7179

Information about the author

Netskar Iryna P. – candidate of medical sciences, associate professor, Department of obstetric, gynecology and perinatology Shupyk National Healthcare University of Ukraine of MH Ukraine; tel.: (097) 965-19-65. E-mail: netskar19doctor@gmail.com
ORCID: 0000-0003-4162-7179

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Mantovani G, Isidori AM, Moretti C, Di Dato C, Greco E, Ciolli P, et al. Selenium Supplementation in the Management of Thyroid Autoimmunity During Pregnancy: Results of the «SERENA Study», a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Endocrine*. 2019; 66(3):542-50.
2. Manshadi MD, Navid S, Hoshino Y, Daneshi E, Noory P, Abbasi M. The effects of human menstrual blood stem cells derived granulosa cells on ovarian follicle formation in a rat model of premature ovarian failure," *Microscopy Research and Technique*. 2019;82(6):635-42.
3. Maraka S, Singh Ospina NM, Mastorakos G, O'Keeffe DT. Subclinical Hypothyroidism in Women Planning Conception and During Pregnancy: Who Should Be Treated and How? *Endocr Soc*. 2018 May 3;2(6):533-46.

4. Martins SC, Venade G, Teixeira M, Olivério J, Machado J, Marques J, Matos LC. Autoimmune Polyglandular Syndrome type 2. *Rev Assoc Med Bras.* 2019;65(12):1434-7.
5. Mazzilli R, Medenica S, Di Tommaso AM, Fabozzi G, Zamponi V, Cimadomo D, Rienzi L, et al. The role of thyroid function in female and male infertility: a narrative review. *Endocrinol Invest.* 2022 Aug 9. doi: 10.1007/s40618-022-01883-7.
6. Medenica S, Abazovic D, Ljubić A, Vukovic J, Begovic A, Cucinella G, Zaami S, Gullo G. The Role of Cell and Gene Therapies in the Treatment of Infertility in Patients with Thyroid Autoimmunity. *Int J Endocrinol.* 2022 Aug 30;2022:4842316.
7. Melo P, Navarro C, Jones C, Coward K, Coleman L. The use of autologous platelet-rich plasma (PRP) versus no intervention in women with low ovarian reserve undergoing fertility treatment: a non-randomized interventional study. *Assist Reprod Genet.* 2020;37(4):855-63.
8. Mizuma T, Watanabe M, Inoue N, Arakawa Y, Tomari S, Hidaka Y, Iwatani Y. Association of the polymorphisms in the gene encoding thyroglobulin with the development and prognosis of autoimmune thyroid disease. *Autoimmun.* 2017;50(6):386-92.
9. Monteleone P, Faviana P, Artini PG. Thyroid Peroxidase Identified in Human Granulosa Cells: Another Piece to the Thyroid-Ovary Puzzle? *Gynecol Endocrinol.* 2017;33(7):574-6.
10. Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol.* 2017;17:469-82.
11. Morales-Martínez FA, Sordia-Hernández LH, Ruiz MM, García-Luna S, Valdés-Martínez OH, Vidal-Gutiérrez O. Association between thyroid autoimmunity and ovarian reserve in women with hypothyroidism. *Thyroid Res.* 2021;14(1):6.
12. Mouanness M, Ali-Bynom S, Jackman J, Seckin S, Merhi Z. Use of Intra-uterine Injection of Platelet-rich Plasma (PRP) for Endometrial Receptivity and Thickness: a Literature Review of the Mechanisms of Action. *Reprod Sci.* 2021;28(6):1659-70.
13. Myneni R, Chawla HV, Grewal AS, Vivekanandan G, Ndakotsu A, Abubacker AP, Iqbal A. Thyroxine Replacement for Subfertile Females With Subclinical Hypothyroidism and Autoimmune Thyroiditis: A Systematic Review. *Cureus.* 2021;13(8):e16872.
14. Negro R. Outcomes in Pregnant Patients with Subclinical Hypothyroidism and Thyroid Autoimmunity: A Critical Appraisal of Recent Randomized Controlled Trials. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2021;21(8):1387-91.
15. Negro R, Formoso G, Coppola L, Presicce G, Mangieri T, Pezzarossa A, et al. Euthyroid Women With Autoimmune Disease Undergoing Assisted Reproduction Technologies: The Role of Autoimmunity and Thyroid Function. *Endocrinol Invest.* 2017;30(1):3-8.
16. Nguyen CT, Mestman JH. Graves' hyperthyroidism in pregnancy. *Curr Opin Endocrinol Diabet Obes.* 2019 ;26(5):232-40.
17. Ochoa-Bernal MA, Fazleabas AT. Physiologic Events of Embryo Implantation and Decidualization in Human and Non-Human Primates. *Molec Scienc.* 2020;21(6):1973.
18. Okosieme OE, Khan I, Taylor PN. *Clinical Endocrinology.* Blackwell Publishing Ltd.; Hoboken, NJ, USA: Preconception management of thyroid dysfunction. 2018;89:269-79.