

DOI: 10.21802/artm.2024.4.32.32

УДК 611.664/612.621.31:618.177+616-092.12+159.9:61

## ВИЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ ЕСТРОГЕНОВИХ ТА ПРОГЕСТОРОНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ ЕНДОМЕТРІЮ У ЖІНОК З НЕПЛІДДЯМ ТА ПЕРЕНЕСЕНИМ ПОСТКОВІДНИМ СИНДРОМОМ

І.С. Головчак<sup>1</sup>, О.Г. Бойчук<sup>1</sup>, В.М. Мацькевич<sup>2</sup>, І.М. Купчак<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра акушерства та гінекології післядипломної освіти, м. Івано-Франківськ, Україна

<sup>2</sup>Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра радіології та радіаційної медицини, м. Івано-Франківськ, Україна

ORCID ID: 0000-0002-8076-0506, email: holovchak18@gmail.com

ORCID ID: 0000-0003-4439-3099, email: l.bojchuk@gmail.com

ORCID ID: 0000-0002-4833-7134, email: irkupchak@ifnmu.edu.ua

ORCID ID: 0000-0003-2663-9702, email: vmatskevych@ifnmu.edu.ua

**Резюме. Мета.** Підвищення ефективності дослідження експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів ендометрію в залежності від фази менструального циклу у пацієнок з непліддям та перенесеним постковідним синдромом.

**Матеріали та методи.** Упродовж 2021-2024 років проведено наукове дослідження, в яке ввійшло сукупно 120 пацієнок 3 них дослідну групу склало 80 жінок, а контрольну групу – 40 жінок. Основним критерієм включення у дослідну групу була наявність документально підтвердженого ПКС. Критерієм включення в контрольну групу була відсутність в анамнезі перенесеної COVID-19. Для вивчення експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів після проведеної офісної гістероскопії з забором біопсії візуально найбільш змінених ділянок ендометрію у середній фазі проліферативної стадії та у середній фазі секреторної стадії (різних менструальних циклів) виконано імуногістохімічне дослідження з антитілами даних рецепторів.

**Результати.** Було встановлено достовірну різницю між групами у середній стадії секреторної фази, а саме: реактивність ERα у клітинах стромі у дослідній групі була знижена у 26 випадках (32,5 %) та у 4 випадках (10,0 %) контрольної групи при ідентифікації змін, яким було присвоєно 3 бали (p=0,007). Також достовірна різниця встановлена між когортами у середній стадії секреторної фази щодо реактивності PR в епітеліальних клітинах залоз: у дослідній групі була знижена у 20 випадках (25,0 %) та у контрольній групі у 2 випадках (5,0 %) і становила 3 бали, що відповідало слабкій реакції згідно з використаною шкалою розрахунку експресії (p=0,006).

**Висновки.** У жінок з непліддям та перенесеним постковідним синдромом відзначено у середній стадії секреторної фази зниження експресії естрогенового рецептору-α в стромальному компоненті та прогестеронового рецептора в епітелії залоз шляхом імуногістохімічного дослідження зразків ендометрію.

**Ключові слова:** непліддя, постковідний синдром, ендометрій, гістероскопія, імуногістохімічне дослідження.

**Вступ.** Згідно з визначенням ВООЗ непліддя – це захворювання репродуктивної системи, що визначається як неспроможність завагітніти після 12 чи більше місяців регулярного незахищеного статевого життя [1]. Як вказує Р. Njagi et al. у систематичному огляді – від 48,5 до 72,4 мільйонів пар страждають безпліддям, а поширеність цього захворювання становить 12,6-17,5 % серед пар у репродуктивному віці [2]. Окрім власне коронавірусної хвороби-2019 (COVID-19), яка, як відомо, негативно впливає на ендокринну систему, а саме наднирникові залози, спричинюючи малокрів'я судин [3], тривалий затяжний перебіг інфекції коронавірусу 2 гострого респіраторного синдрому (SARS-CoV-2), викликає не менше занепокоєння у репродуктологів, ендокринологів, гістологів та інших науковців, які працюють у напрямку досліджень впливу COVID-19 та постковідного синдрому (ПКС) на ендокринну функцію організму [4-5]. Вивчення експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів дозволяє оцінити сприйнятливості слизової оболонки матки до імплантації та виявити причини дисфункції

менструального циклу [6]. Таким чином, дослідження змін тканини ендометрію на мікроскопічному рівні дозволить доповнити наукові дані щодо існуючих досліджень порушення репродуктивної функції у жінок з перенесеним ПКС.

**Обґрунтування дослідження.** Сприйнятливості слизової оболонки матки до імплантації бластоцисти на рецепторному рівні залишається наріжним каменем на перетині досліджень репродуктології, ендокринології та гістології. Імуногістохімічна діагностика естрогеново-прогестеронового балансу доповнює розуміння у ланці, що відповідає за визначення експресії білків рецепторів в епітелії та стромі та дозволяє виявити дефекти сприйнятливості, які можуть відігравати вирішальну роль у неплідді.

**Мета дослідження.** Підвищити ефективність дослідження експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів ендометрію в залежності від фази менструального циклу у пацієнок з непліддям та перенесеним постковідним синдромом.

**Матеріали та методи.** На базі Державного закладу «Прикарпатський Центр репродукції людини» МОЗ України впродовж 2021-2024 років проведено наукове дослідження, в яке ввійшло сукупно 120 пацієнок 3 них дослідну групу склали 80 жінок, а контрольну групу – 40 жінок. Основним критерієм включення у дослідну групу була наявність документально підтвердженого ПКС. Критерієм включення в контрольну групу була відсутність в анамнезі перенесеної COVID-19. Також критеріями включення в обидві когорти були: діагностоване непліддя, причиною якого є жіночий фактор, репродуктивний вік, підписана пацієнткою інформована згода на участь в дослідженні. До критеріїв виключення з обох вибірок належали: виявлення вірусу імунодефіциту людини, вірусних гепатитів та інших інфекцій, що передаються статевим шляхом, а також – туберкульозу сечостатевої системи, злоякісних новоутворень, розладів психічної сфери, що спричинюють неможливість встановлення комунікації і дієздатності особи.

Для вивчення експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів проведено перелічені підготовчі етапи: згідно календарного розрахунку дня менструального циклу проведено офісну гістероскопію з заборою біопсії візуально найбільш змінених ділянок ендометрію у середній фазі проліферативної стадії та у середній фазі секреторної стадії (інвазивна діагностична процедура гістероскопії у проліферативній та секреторній стадіях проводилась у різні менструальні цикли). Перед проведенням гістероскопії було проведено ультразвукове сканування органів малого тазу з трансвагінальним доступом. Відібрані зразки упаковані в тришарову систему та охолоджені до 4°C направлено до патогістологічної лабораторії, де виконували вирізку біоматеріалу та поміщали його у нейтральний забуферений формалін для фіксації, промивали, зневоднювали та заливали у парафін, для формування блоків, з яких виготовляли тонкі зрізи для світлової мікроскопії. Після зафарбування гематоксиліном-еозином зрізів на скельцях, здійснювали датування ендометрію за Нойесом [7]. Після проведення рутинної гістологічної діагностики та аналізу її результатів, виконано імуногістохімічне дослідження з антитілами для визначення експресії естрогенових (ERα) (SP1, Master diagnostica) та прогестеронових (PR) (Clone 16, Master diagnostica) рецепторів. Напівкількісну оцінку для визначення експресії даних рецепторів виконували за допомогою гістошкали Оллреда (англ.: Allred), показники якої вираховуються за формулою: інтенсивність забарвлення (0 – відсутнє, 1+ – слабе, 2+ – помірне, 3+ – виражене) додана до відсотка позитивно забарвлених клітин, яким присвоєно рангові значення: 0 – відсутність забарвлення; 1 – < 1 %; 2 – 1-10 %; 3 – 11-33 %; 4 – 34-66 %; 5 – 67-100 % забарвлених клітин). Таким чином, сума може набувати значень від 0 до 8 (за винятком значення 1) [8-9].

Дизайн наукової роботи сплановано та виконано відповідно до положення Гельсінської

Декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження». Поточне дослідження є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри акушерства та гінекології ім. І.Д. Ланового «Розробка діагностичної тактики та патогенетичне обґрунтування ефективних методів збереження та відновлення репродуктивного потенціалу та покращення параметрів якості життя жінки при акушерській та гінекологічній патології» (№ державної реєстрації 0121U109269), затверджено Комісією з питань біоетики Івано-Франківського національного медичного університету (Протокол № 131/22 від 24.11.2022 року). При обробці результатів дотримано принципу анонімності даних обстежених жінок.

Для проведення статистичної обробки інформації було використано програми Excel ліцензійного пакету Microsoft 365 з доступними статистичними калькуляторами. Абсолютні значення подані також у відсотковому співвідношенні частки виявленого показника до загальної кількості осіб у групі. Статистично достовірною вважалась різниця при  $p < 0,05$ , при розрахунку вірогідності для чотирипольних таблиць за допомогою точного тесту Фішера.

**Результати дослідження та обговорення результатів.** Не було достовірної різниці між групами при співставленні когорт між собою за кожним показником шкали Оллреда при ІГХ-дослідженні ендометрію в середній стадії проліферативної фази з маркуванням його антитілами до ERα. У п'ятій частині контрольної групи та дослідної групи рівень експресії ERα свідчив про гіпоекспресію. Показники експресії у залозах на рівні 0, 2 та 8 балів не відзначались у жодній з когорт. Також не було випадків, які б відповідали 0, 2, 7 чи 8 балів при оцінці клітин строми. Відзначено інтенсивність реакції у більше, ніж 35% клітин епітелію залоз, що становило 7 балів в одній пацієнтки дослідної групи (рис. 1).

Не було достовірної різниці між групами при ІГХ-експресії PR у залозах. При аналізі реактивності строми, було виявлено слабшу PR-експресію порівняно з залозистим компонентом: більше 30% зразків у контрольній групі проявляли слабку реакцію з антитілом - на рівні 4 балів, а у дослідній – на рівні 3 балів (рис. 2).

Експресія ERα в клітинах строми була дисоційована, в більшій мірі була помірна, в епітелії залоз – нерівномірна в обох групах. Експресія PR в епітелії залоз – нерівномірна, дисоційовано слабка, а в стромальному компоненті – дисоційована, в більшій мірі помірна в обох вибірках (рис. 3).

Було встановлено достовірну різницю між групами у середній стадії секреторної фази, а саме: реактивність ERα у клітинах строми у дослідній групі була знижена у 26 випадках (32,5 %) та у 4 випадках (10,0 %) контрольної групи при ідентифікації змін, яким було присвоєно 3 бали ( $p=0,007$ ). Не було достовірно виявленої різниці між групами при оцінці експресії ERα у залозистому компоненті (рис. 4).

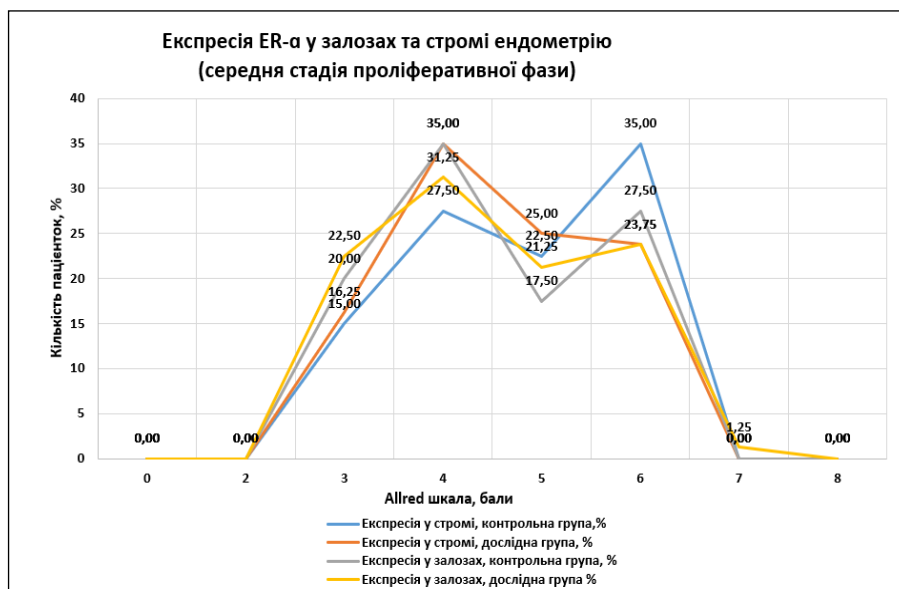


Рис. 1. Лінійчата діаграма, що відображає рівень експресії естрогенового рецептора-α згідно з шкалою Оллреда у пацієнок контрольної та дослідної групи (%) у залозистому та стромальному компонентах в проліферативній фазі.

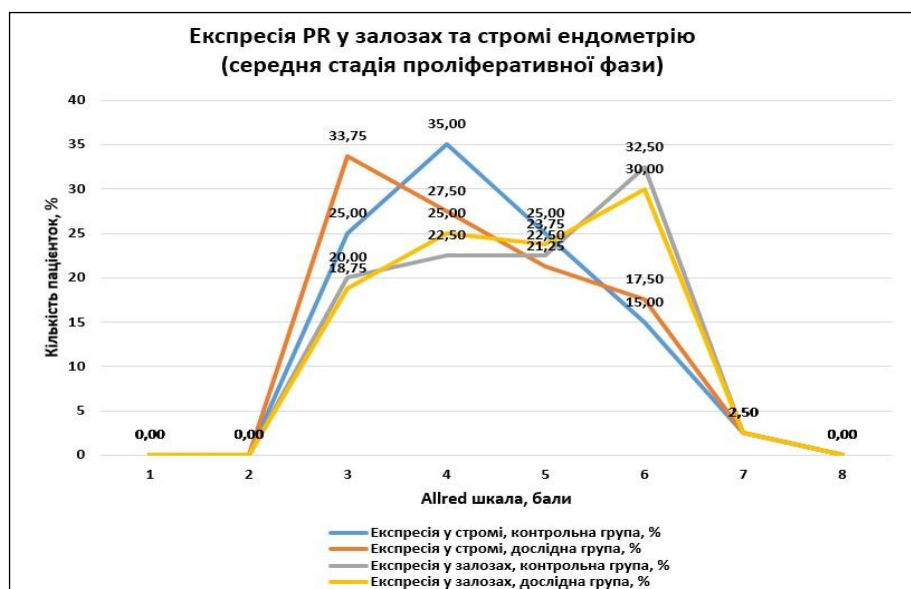


Рис. 2. Лінійчата діаграма, що відображає рівень експресії прогестеронового рецептора згідно з шкалою Оллреда у пацієнок контрольної та дослідної групи (%) у залозистому та стромальному компонентах в проліферативній фазі.

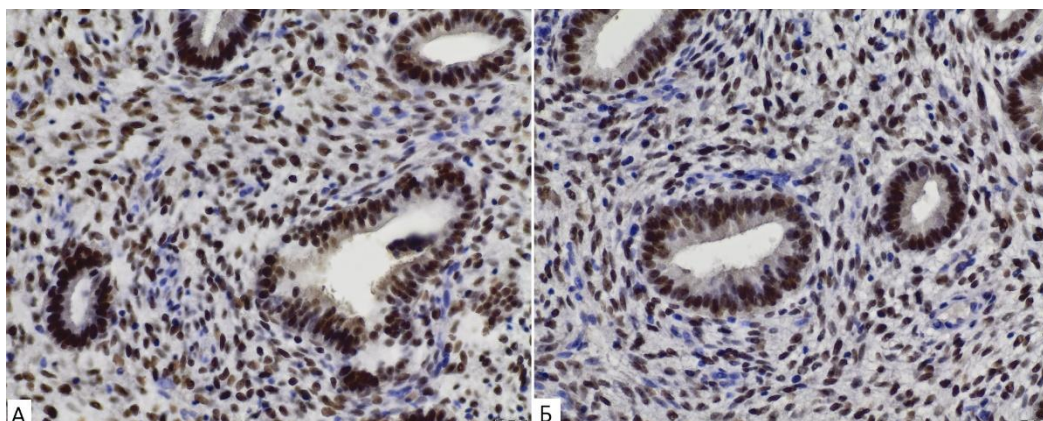


Рис. 3. Імуногістохімічне забарвлення зразків ендометрію у середній стадії проліферативної фази пацієнок дослідної групи (збільшення: 400): А. Експресія естрогенового рецептора-α; Б. Експресія прогестеронового рецептора.

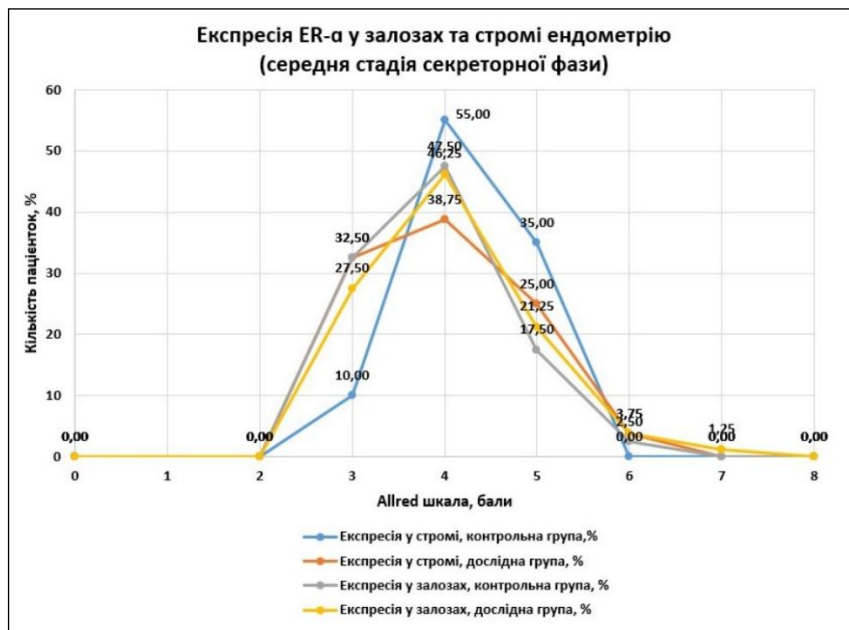


Рис. 4. Лінійчатая діаграма, що відображає рівень експресії естрогенового рецептора-α згідно з шкалою Оллреда у пацієнок контрольної та дослідної групи (%) у залозистому та стромальному компонентах в секреторній фазі.

Також достовірна різниця встановлена між когортами у середній стадії секреторної фази щодо реактивності PR в епітеліальних клітинах залоз: у дослідній групі була знижена у 20 випадках (25,0 %) та у контрольній групі у 2 випадках (5,0 %) і становила 3

бали, що відповідало слабкій реакції згідно з використаною шкалою розрахунку експресії ( $p=0,006$ ). Не було достовірно виявленої різниці між групами при оцінці експресії PR у стромальному компоненті (рис. 5).

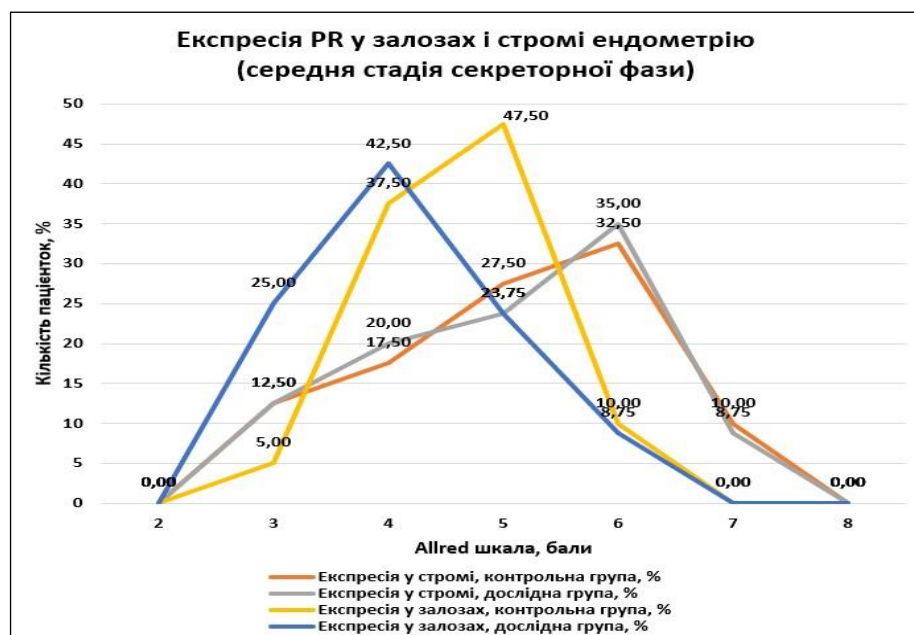
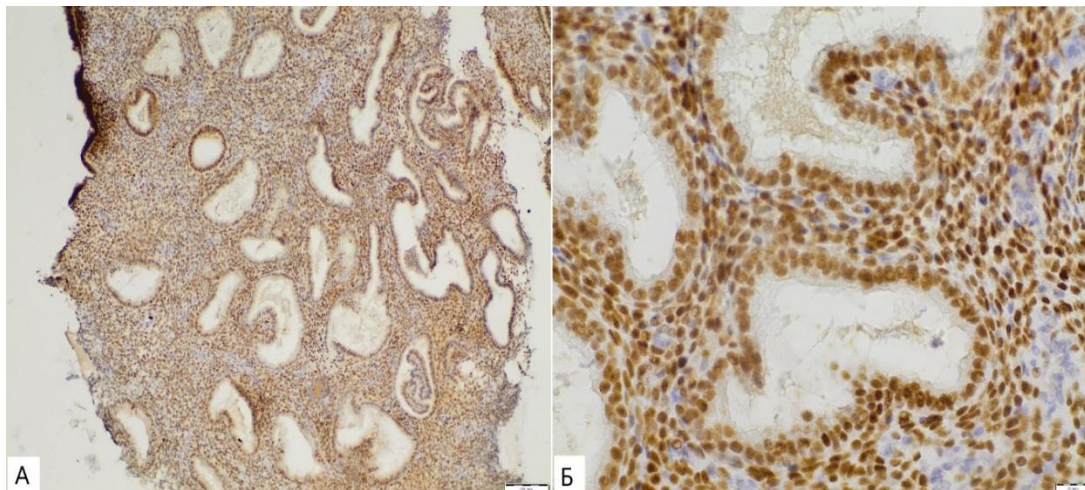


Рис. 5. Лінійчатая діаграма, що відображає рівень експресії прогестеронового рецептора згідно з шкалою Оллреда у пацієнок контрольної та дослідної групи (%) у залозистому та стромальному компонентах в секреторній фазі.

Експресія ERα в клітинах епітелію залоз була дисоційовано слабка, рівномірна, в клітинах стромі – дисоційована, переважно слабка в дослідній групі. Експресія PR в епітелії залоз в більшості дисоційована

слабка, рівномірна, збережена, а в стромальному компоненті – рівномірно висока, збережена в дослідній групі (рис.6).



**Рис. 6.** Імуногістохімічне забарвлення зразків ендометрія у середній стадії секреторної фази пацієнок дослідної групи: А. Експресія естрогенового рецептора-α (збільшення: 100); Б. Експресія прогестеронового рецептора (збільшення: 400).

Як можна проаналізувати з отриманих результатів, більш чутливою до тривалого прозапального фону, спричиненого затяжним COVID-19, є лютеїнова фаза. Однією з версій, за якою змінюються гормональний баланс у другій половині менструального циклу є системна запальна відповідь організму поєднана з гіперкоагуляційним станом згортальної функції крові та залученням тканинних базofilів до формування імунної реактивності [10]. За даними огляду Ю. Мицика, вагітність з абортивним наслідком зустрічалась у жінок з інфікуванням SARS-CoV-2 на ранніх термінах вагітності [11]. Щодо сумуючого негативного впливу власне тривалого ПКС у жінок з непліддям треба враховувати, що у таких випадках слід розглянути гіпотезу багатоцільового ураження не лише безпосередньо вірусом, а й з залученням ланок прозапального статусу, які негативно відображаються на менструальній функції, розвитку депресії, загострень супутніх захворювань [12-13]. Порушення естрогеново-прогестеронового балансу спричинює зміни секреторної активності залоз, що в морфологічній діагностиці може потребувати також гістохімічних методик забарвлення зрізів [14-15]. Таким чином, ПКС володіє багатомісним негативним впливом, особливо, у жінок із спроектованою репродуктивною функцією іншими патологічними станами та потребує додаткових досліджень клінічних показників та морфологічних змін в тканинах ендометрію.

**Висновки.** У жінок з непліддям та перенесеним постковідним синдромом відзначено у середній стадії секреторної фази зниження експресії естрогенового рецептора-α в стромальному компоненті та прогестеронового рецептора в епітелії залоз шляхом імуногістохімічного дослідження зразків ендометрію.

**Перспективи подальших досліджень.** Проведення електронномікроскопічного дослідження біопатів ендометрію з деталізованою характеристикою стромального, залозистого та судинного компонентів у жінок з постковідним синдромом в анамнезі.

**Подяка.** Колектив авторів висловлює подяку відділенню патологічної анатомії КНП «Обласна клінічна лікарня Івано-Франківської обласної ради» та ТОВ «Гістологія» за надання допомоги в інтерпретації та фотофіксації морфологічних зображень.

### References.

1. WHO. Infertility Fact Sheet. Geneva: World Health Organization, 2020. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>
2. Njagi P, Groot W, Arsenijevic J, Dyer S, Mburu G, Kiarie J. Financial costs of assisted reproductive technology for patients in low- and middle-income countries: a systematic review. *Human Reproduction Open*. 2023;2:hoad007. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoad007>
3. Gychka SG, Horoshchak AY, Nikolaienko SI, Dibrova VA, Dibrova YV, Kuzyk PV, et al. Influenza A (H1N1) and COVID-19: features of adrenal lesions. *Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery*. 2020;0:79–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.30978/CEES-2020-2-79>
4. Kindrativ EO, Vasylyk VM, Matskevych VM, Kostyuk VM, Semchenko VA, et al. Retrospective analysis of coronavirus disease lethal cases. *Fiziologichnyi zhurnal*. 2021;67:76–85. <http://dx.doi.org/10.15407/fz67.04.076>
5. Ostafiichuk S, Prudnikov P, Motsyuk Y. Impact of COVID19 on clinical symptoms in women with genital endometriosis. *Perinatology and reproductology: from research to practice*. 2022;2:50–7. <http://dx.doi.org/10.52705/2788-6190-2022-01-5>
6. Dixit SG, Ghatak S, Singh P, Bhattacharya S. Estrogen receptor, progesterone receptor and CD8+ expression in endometrium of women of unexplained infertility. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*. 2018;47:533–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jogoh.2018.05.006>
7. Kliman HJ. Noyes, Hertig, and Rock revisited. *F&S Reports*. 2020;1:2–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.xfre.2020.04.004>
8. Brouckaert O, Paridaens R, Floris G, Rakha E, Osborne K, Neven P. A critical review why assessment of steroid hormone receptors in breast cancer should be quantitative. *Annals of Oncology*. 2013;24:47–53. <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mds238>
9. Phillips T, Murray G, Wakamiya K, Askaa J, Huang D, Welcher R, et al. Development of standard estrogen and progesterone receptor immunohistochemical assays for selection of patients for antihormonal

- therapy. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2007;15:325–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/01.pai.0000213135.16783.bc>
10. Szukiewicz D, Wojdasiewicz P, Watroba M, Szewczyk G. Mast Cell Activation Syndrome in COVID-19 and Female Reproductive Function: Theoretical Background vs. Accumulating Clinical Evidence. *Journal of Immunology Research*. 2022;2022:ID 9534163. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2022/9534163>
  11. Mytsyk Y. 2019-nCoV pandemic: impact on reproductive health. *Proceedings of the Shevchenko Scientific Society*. 2020;59:82-4. <http://dx.doi.org/10.25040/ntsh.2020.01.13>
  12. Bechmann N, Maccio U, Kotb R, Dweik RA, Cherfane M, Moch H, et al. COVID-19 Infections in Gonads: Consequences on Fertility? *Hormone and Metabolic Research*. 2022;54:549–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/a-1891-6621>
  13. Błażejowski G, Witkoś J. The Impact of COVID-19 on Menstrual Cycle in Women. *Journal of Clinical Medicine*. 2023;12:4991. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/jcm12154991>
  14. Mishyna KM, Gychka SG, Kuzyk PV. Morphological manifestation of glycogen synthesis in the uterus as one of the target markers of reproductive success. *Ukrainian Medical Journal*. 2020;136. Available from: <http://dx.doi.org/10.32471/umj.1680-3051.136.176080>
  15. Safarova AF. The features of endometrial receptivity in women underwent in vitro fertilization procedure. *Reproductive health of woman*. 2024;3:104–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.30841/2708-8731.3.2024.305505>

UDC 611.664/612.621.31:618.177+616-092.12+159.9:61  
**DETERMINATION OF THE EXPRESSION OF ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTORS IN THE ENDOMETRIUM IN WOMEN WITH INFERTILITY AND POST-COVID SYNDROME**

I.S. Golovchak<sup>1</sup>, O. H. Boychuk<sup>1</sup>, V.M. Matskevych<sup>2</sup>, I.M. Kupchak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Obstetrics and Gynecology of Postgraduate Education, Ivano-Frankivsk, Ukraine,*

<sup>2</sup>*Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Radiology and Radiation Medicine, Ivano-Frankivsk, Ukraine*

ORCID ID: 0000-0002-8076-0506,  
email: holovchak18@gmail.com

ORCID ID: 0000-0003-4439-3099,  
email: l.boychuk@gmail.com

ORCID ID: 0000-0002-4833-7134,  
email: irkupchak@ifnmu.edu.ua

ORCID ID: 0000-0003-2663-9702,  
email: vmatskevych@ifnmu.edu.ua

**Abstract.** Studying the expression of estrogen and progesterone receptors makes it possible to assess the susceptibility of the uterine mucosa to implantation and to identify the causes of menstrual cycle dysfunction.

**The aim.** Increasing the effectiveness of the study of the expression of estrogen and progesterone receptors of the endometrium depending on the phase of the menstrual cycle in patients with infertility and post-COVID syndrome.

**Materials and methods.** During 2021-2024, a scientific study was conducted, which included a total of 120 patients. Of them, the experimental group consisted of 80 women, and the control group - 40 women. The main criterion for inclusion in the research group was the presence of a documented post-COVID syndrome. The criterion for inclusion in the control group was the absence of a history of COVID-19. Also, the requirements for inclusion in both cohorts were: diagnosed infertility, the cause of which is a female factor, reproductive age, and informed consent signed by the patient to participate in the study. Exclusion criteria from both samples included the detection of the human immunodeficiency virus, viral hepatitis, and other sexually transmitted infections, as well as - tuberculosis of the genitourinary system, malignant neoplasms, mental disorders that cause the impossibility of establishing communication and functional capacity of the person. To study the expression of estrogen and progesterone receptors, after an office hysteroscopy with a biopsy of the visually most changed areas of the endometrium in the middle phase of the proliferative stage and in the middle phase of the secretory stage (of different menstrual cycles), an immunohistochemical study with antibodies to these receptors was performed.

**The results.** A significant difference between the groups was found in the middle stage of the secretory phase; namely, the reactivity of ER $\alpha$  in the stromal cells in the experimental group was reduced in 26 cases (32.5%), and 4 cases (10.0%) in the control group and the predominant amount was 3 points ( $p=0.007$ ). Also, a significant difference was established between the cohorts in the middle stage of the secretory phase regarding PR reactivity in the epithelial cells of the glands: in the experimental group, it was reduced in 20 cases (25.0%), and in the control group in 2 cases (5.0%) and was 3 points, which corresponded to a weak reaction according to the expression calculation scale used ( $p=0.006$ ).

**Conclusions.** In women with infertility and post-COVID syndrome, a decrease in the expression of estrogen receptor- $\alpha$  in the stromal component and progesterone receptor in the epithelium of the glands was noted in the middle stage of the secretory phase by immunohistochemical examination of endometrial samples.

**Keywords:** infertility, post-COVID syndrome, endometrium, hysteroscopy, immunohistochemical study.

Стаття надійшла в редакцію 24.11.2024 р.  
Стаття прийнята до друку 28.11.2024 р.