

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Н. Кроткова

23.12 2022 г.

Регистрационный № 158-1222



**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГОТОВНОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ К
ИМПЛАНТАЦИИ В ПРОГРАММЕ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ
РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

ГУ «РНПЦ «Мать и дитя»

АВТОРЫ: к.м.н., доц. Летковская Т.А., к.м.н. Анфиногенова Е.А.,
к.б.н. Семёник И.А., Сыантович А.А., к.м.н. Курлович И.В.,
к.м.н. Ващилина Т.П.

Минск, 2022

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) представлен метод определения готовности эндометрия к имплантации, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение бесплодия при использовании вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Инструкция предназначена для врачей-патологоанатомов, врачей акушеров-гинекологов, оказывающих медицинскую помощь пациенткам с бесплодием, которые вступают в программу ВРТ для наступления беременности, в условиях стационара и(или) амбулаторных условиях, и(или) в условиях отделения дневного пребывания.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Код по МКБ-10:

N 97 – женское бесплодие.

Участие в программе вспомогательных репродуктивных технологий.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РЕАГЕНТОВ, РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ОБОРУДОВАНИЯ И Т.Д.

1. Микроскоп просвечивающий электронный.
2. Ультрамикротом.
3. Инструментарий для приготовления препаратов для электронной микроскопии (силиконовые молды, алмазный нож, опорные медные сеточки).

4. Реактивы для проведения электронно-микроскопического исследования (раствор глутарового альдегида, разбавленный в фосфатном буфере (рН 7,2), тетроксид осмия, 96% спирт, абсолютный этиловый спирт, ацетон, эпоксидные смолы, уранилацетат, цитрат свинца).

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1. ПОЛУЧЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА.

На исследование направляется биопсийный материал соскоба эндометрия, забранный в «окно имплантации», в фиксированном виде (в 2,5% растворе глутарового альдегида, разбавленном в фосфатном буфере (рН 7,2): 1 таблетка на 100 мл. дистиллированной воды) в соотношении 1:9). Время фиксации – не менее 2 часов, но не более 4 часов при +4°C.

2. ИЗГОТОВЛЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ.

Образцы биопсийного материала эндометрия извлекают из раствора глутарового альдегида, нарезают на фрагменты размером 1 мм³, затем промывают буферным раствором трижды в течение 60 минут при +4°C. Постфиксация 2% тетроксидом осмия проводится в течение не менее двух часов при +4°C в защищенном от света месте. Затем образцы дегидратируют в двух порциях 96% спирта, двух порциях абсолютного этилового спирта и двух сменах ацетона (в каждом растворе в течение 20 минут) и затем заключают в смесь эпоксидных смол. Ультратонкие срезы толщиной 75 нм изготавливают на ультрамикротоме с помощью алмазного ножа (и наносят на опорные медные сеточки). Позже проводится двойное последовательное контрастирование уранилацетатом в течение 10 минут и цитратом свинца в течение 20 минут.

3. ОЦЕНКА БИОПСИЙНОГО МАТЕРИАЛА ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ.

При электронной микроскопии в препаратах соскоба эндометрия проводится оценка цитоплазматических образований эндометриальных клеток – пиноподий и их ультраструктурных изменений.

Пиноподии представляют собой грибоподобные или куполообразное выпячивания цитоплазмы апикального конца секреторных клеток поверхностного эпителия и желез эндометрия.

Варианты пиноподий:

Пиноподии созревающие: невысокое цитоплазматическое выпячивание апикальных отделов клеток эндометрия в виде купола или гриба на широком основании, преимущественно занимает всю поверхность клетки. В цитоплазме, созревающей пиноподии, отмечаются большое скопление митохондрий, на поверхности – микроворсинки и единичные «западения» цитоплазмы с формированием внутрицитоплазматических вакуолей (рис. 1 А, 1 Б).

Пиноподии зрелые: вытянутые в сторону просвета желез или от поверхности эндометриальной клетки цитоплазматические выросты с потерей микроворсинок, наличием пиноцитарных вакуолей и эндосом в верхней части и со смещением митохондрий в основание «выроста» (рис. 2).

Пиноподии зрелые с микроворсинками: укороченные микроворсинки на апикальной поверхности сформированных пиноподий, в цитоплазме определяется овальное ядро, многочисленные разбросанные по цитоплазме удлинённые митохондрии в плотном контакте с элементами шероховатой эндоплазматической сети (рис 3).

Пиноподии регрессирующие: исчезновение пиноцитарных и эндоцитарных вакуолей, конденсация цитоплазмы, появление новых

микроворсинок с формированием «древовидности» цитоплазматического выроста, наличие у основания пиноподии «линии» десмосом-соединений (рис.4).

Пиноподии десквамированные: фрагменты цитоплазматического выроста клетки, расположенного в просвете железы или в секрете на поверхности эндометрия. Посредством линии десмосом-соединений происходит «отщепление» пиноподий от апикальной поверхности клетки (рис. 5).



Рисунок 1 – Пиноподии созревающие: А – ранняя стадия созревания; Б – поздняя стадия созревания.

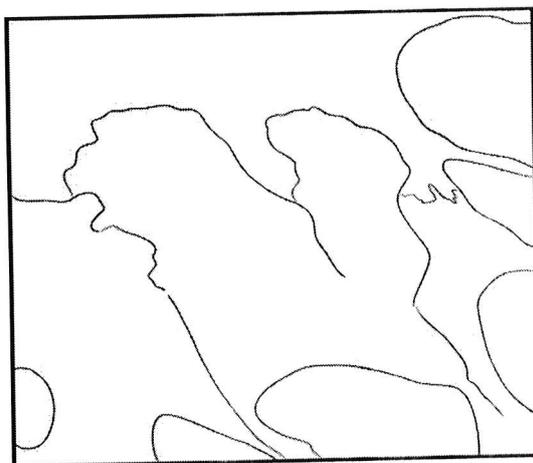


Рисунок 2 – Пиноподии зрелые.

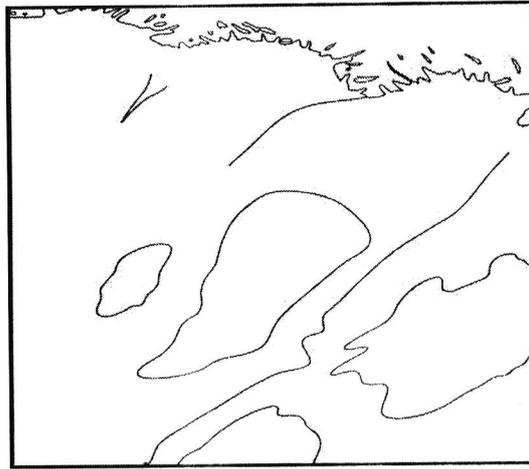


Рисунок 3 – Пиноподии зрелые с микроворсинками.



Рисунок 4 – Пиноподии регрессирующие.

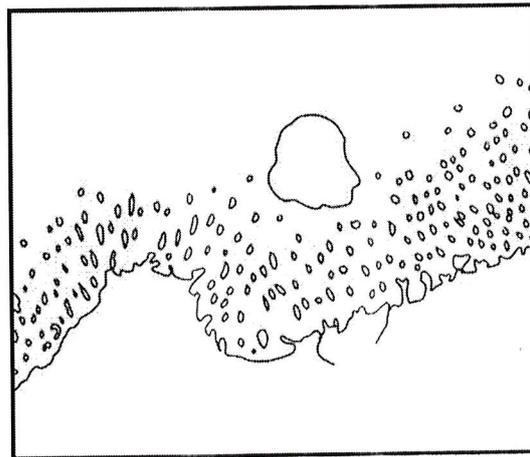


Рисунок 5 – Пиноподии десквамированные.

Для оценки полноценности ультраструктурных изменений эндометрия, характерных для «окна имплантации», необходимо использовать следующие критерии:

- 1) доля трансформированных эндометриальных клеток с формированием пиноподий в анализируемом фрагменте эндометрия,
- 2) характер созревания пиноподий в анализируемом образце эндометрия.

Интерпретация результатов.

В зависимости от доли трансформированных эндометриальных клеток в образце выделяют степени «готовности» эндометрия к имплантации:

- *неполная* (доля клеток с формированием пиноподий менее 20%),
- *частичная* (доля клеток с формированием пиноподий менее 21-50%),
- *полная* (доля клеток с формированием пиноподий более 51%).

В зависимости от характера созревания пиноподий на 20-21 сутки гормонального цикла женщины (в период «окна имплантации») выделяют:

- *нормальное динамическое созревание пиноподий* (к 21 суткам отмечается преобладание зрелых пиноподий среди всех сформированных цитоплазматических выростов клеток эндометрия)
- *аномальное созревание пиноподий* (к 21 суткам отмечается преобладание регрессирующих или созревающих пиноподий, встречаются зрелые пиноподии с микроворсинками).

4. ПРИМЕР ЗАКЛЮЧЕНИЯ.

При электронной микроскопии эндометрия пиноподии выявлены в 60% исследуемых клеток, представлены созревающими и зрелыми, которые составляют более 50%, что указывает на нормальное

динамическое созревание пиноподий, с полной «готовностью» эндометрия к имплантации.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Возможные ошибки и осложнения	Пути устранения
1.Неправильное получение и фиксация биопсийного материала. 2.Использование реактивов с истекшим сроком годности или неправильно хранившихся, неправильное разведение реактивов, несоблюдение временного и температурного режима.	Строгое соблюдение методических требований при получении и фиксации биопсийного материала. Строгое соблюдение методических требований при проведении ИГХ исследования.

Контроль кинической эффективности: не требуется.