

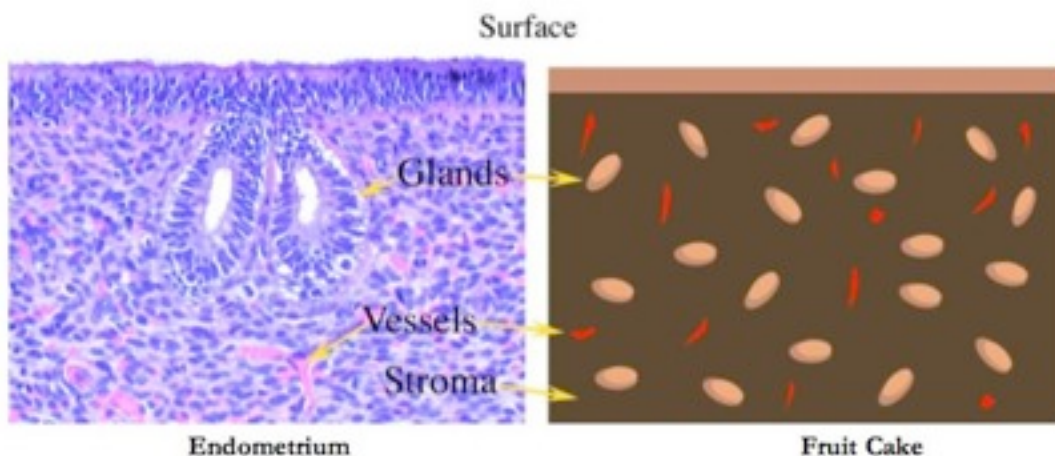
## Augsnes Tests Jūsu Endometrijam™: Endometrija Funkcionālais Tests ® (EFT®)

Harvey J. Kliman, MD, PhD  
Jēlas Universitātes Medicīnas skola

Veselīga grūtniecība ir kā auglīgs dārzs. Auglīgs dārzs sākas ar veselīgiem augiem un ar uzturvielām bagātu augsni. Tāpat veselīga grūtniecība ir atkarīga no labas kvalitātes embrija un normāla endometrija. Līdzīgi kā dārznieki vienmēr ir varējuši pārbaudīt augsni, lai uzlabotu augu augšanu tajā, arī pacientēm ir iespēja pārbaudīt savu endometriju – viņas var veikt Endometrija Funkcionālo Testu® (EFT®). Ar šī patentētā testa palīdzību var uzlabot pacientes iespējas veiksmīgi palikt stāvoklī, izmantojot molekulāros marķierus, lai novērtētu endometrija potenciālu nodrošināt apaugļotas olšūnas implantāciju, kā arī pārliecināties par endometrija spēju nodrošināt augošo embriju ar visām nepieciešamajām uzturvielām. Lai saprastu, kā darbojas dzemdes augsne, ir svarīgi dziļāk izprast tās unikālos audus.

### Endometrijs

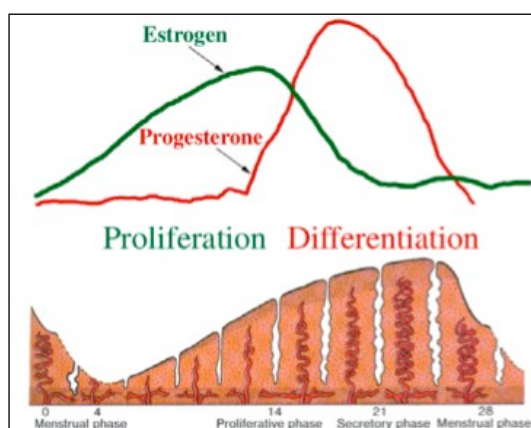
Endometrijs veidojas no divām komponentēm: stroma un dziedzeri (Attēls 1). Endometrija stroma ir audi, kas uztur dziedzereus un satur endometriju kopā. Tā satur arī asinsvadus, kas nodrošina endometrija dziedzereus ar barības vielām. Papildus stromas strukturālajai nozīmei, tā regulē arī endometrija dziedzeru augšanu un darbību. Dziedzere nodrošina endometrija unikālo spēju būt starpniekam implantācijas procesā. Dziedzere un virspusē esošās šūnas, kas ir piestiprinājušās pie dziedzereim, veido sākotnējo kontaktu ar embriju. Ja dziedzere nedarbojas pilnvērtīgi, endometrijs nespēs uztvert blastocistu (agrīno embriju), kurš mēģinās implantēties. Pat ja implantācija notiks, nepilnvērtīgi funkcionējošs endometrijs nespēs nodrošināt agrīno embriju ar nepieciešamajām barības vielām, kā rezultātā var notikt agrīna grūtniecības pārtraukšanās. Endometrijs ir unikāli audi, kas sievietei reprodiktīvā vecumā aug, nobriest un tad, ja neiestājas grūtniecība, katru mēnesi noārdās. Šo izmaiņu novērtēšana ir ļoti būtiska, lai apzinātu endometrija veselīgumu.



**Attēls 1. Endometrija komponentes (kreisā pusē) salīdzinājumā ar augļu kūku (labā pusē).** Endometrijam ir divas daļas: stroma un dziedzeri. Stroma ir strukturāli audi, kas atbalsta tajā esošos dziedzereus, līdzīgi kā kūkas masa notur tajā esošos augļus. Stromā ir atrodami arī asinsvadi, kas endometriju apgādā ar barības vielām. Līdzās to strukturālajai lomai, stromas šūnas nodrošina dziedzeru augšanas faktoros un hormonos, kas regulē dziedzeru darbību. Dziedzere un to virspusē esošās šūnas, kas ir piestiprinājušās pie dziedzereim, veido sākotnējo kontaktu ar blastocistu, kas implantējas. Pievērsiet uzmanību sekretorajām vakuolām (baltie laukumi), kas atrodas dziedzeru šūnu iekšpusē, kas dziedzereim ir raksturīgas cikla 16.dienā. Defekti dziedzeru funkcionēšanā noved pie endometrija, kas nav spējīgs uztvert un nodrošināt implantēšanos.

Katra cikla laikā sievietes endometrijs piedzīvo milzīgas pārmaiņas, kas nepieciešamas, lai

sagatavotos implantācijai. Pirmā cikla puse ir laiks, ka endometrija šūnas aug, un šī tiek saukta par proliferācijas fāzi (Attēls 2). Dabiska cikla laikā šo fāzi kontrolē estrogēns, ko izdala olnīcas laikā no cikla 1. līdz 14. dienai. Estrogēns iedarbojas gan uz stromu, gan dziedzeriem, izraisot šo šūnu dalīšanos, kā rezultātā endometrijs kļūst biežāks – šo parādību var novērot ar vaginālās ultrasonogrāfijas starpniecību. Bez estrogēna klātbūtnes endometrijs paliek nemainīgs un neizveido komponentes, kas nepieciešamas implantācijai. Ovulācijas laikā – kas ideālā 28 dienu ciklā notiek 14. dienā – olnīcas sāk izdalīt progesteronu. Vispirms progesterons izraisa endometrija stromas un dziedzeru augšanas (proliferācijas) pārtraukšanos. Pēc tam tā darbības rezultātā sākas endometrija audu pārmaiņas (diferenciācija) nobriedušās audu formās, kas nepieciešamas implantācijas nodrošināšanai. Pirmās šādas mikroskopiski redzamās pārmaiņas ir sekretoru vakuolu parādīšanās (skatīt dziedzerus Attēlā 1), kas arī ir iemesls, kāpēc nākamā menstruālā cikla fāze tiek saukta par sekretoro fāzi (reizēm tā tiek saukta arī par luteīno fāzi). Pētījumi apliecina, ka progesterona ietekmē stroma rada speciālus augšanas faktorus, kas nodrošina komunikāciju ar dziedzeriem. Šī komunikācija ir kritiska, lai nodrošinātu adekvātu endometrija attīstību.



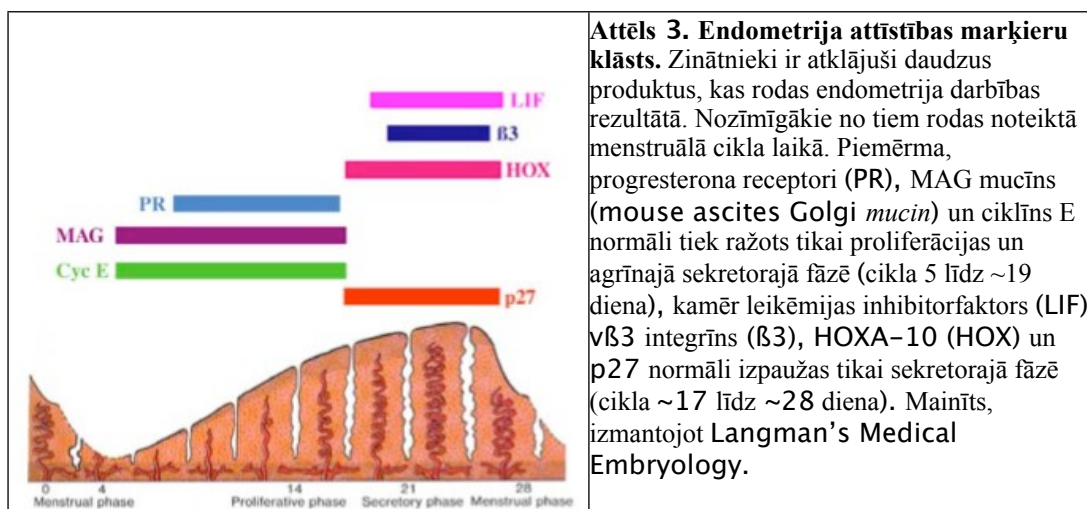
**Attēls 2. Menstruālā cikla proliferācijas un sekretorā fāze.** Menstruālā cikla pirmajā pusē estrogēns, ko izdala olnīcas, izraisa endometrija dziedzeru un stromas augšanu, kas tiek saukta par proliferācijas fāzi. Ovulācijas laikā olnīcas sāk izdalīt progesteronu, kas aptur stromas un dziedzeru dalīšanos un uzsāk dalīšanās galaproduktu diferenciāciju (stromas augšanas faktori un dziedzeru sekretorie faktori). Mainīts, izmantojot tekstu Langman's Medical Embryology.

### *Endometrija novērtēšana*

Pašlaik vienīgais veids, kā novērtēt endometrija komponentes, ir veikt neliela endometrija parauga mikroskopisku izpēti. Tradicionāli patalogi šādu izmeklēšanu veic rutīnas veidā, izmantojot endometrija biopsijas, kuras paņem ginekologi vai reproduktīvie endokrinologi. Tas tiek darīts fiksējot audus un iekrāsojot tos divās krāsās: hematoksilīns (hematoxylin) un eozīns (eosin) (H&E, kā piemēru skatīt Attēls 1). Kā par nelaimi H&E krāsojums attēlo vien vispārējo endometrija struktūru. Tas neļauj noteikt kritiskos endometrija augšanas faktorus un kontrolēt endometrija attīstību.

Pēdējos 10–15 gados pētnieki ir atklājuši daudz kritisku augšanas faktoru, kuriem ir nozīme endometrija spējā nodrošināt implantāciju (Attēls 3). Izmantojot atklājumus, kas gūti pētot blastocistu implantācijas mediatorus, zinātnieki ir izdalījuši noteiktas marķieru kopas, kas var tikt izmantotas endometrija parauga funkcionālā stāvokļa novērtēšanai. Katram marķierim ir noteikt periods, kad tas tipiski izpaužas.

## Endometrija Funkcionālais Tests ® (EFT®)

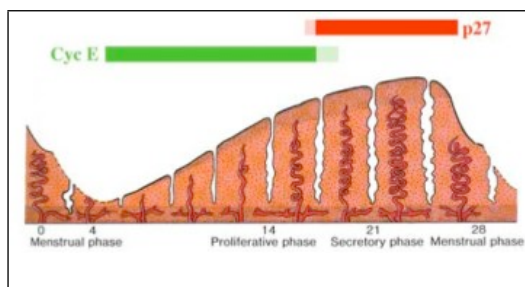


**Attēls 3. Endometrija attīstības marķieru klāsts.** Zinātnieki ir atklājuši daudzus produktus, kas rodas endometrija darbības rezultātā. Nozīmīgākie no tiem rodas noteiktā menstruālā cikla laikā. Piemēram, progesterona receptori (PR), MAG mucīns (mouse ascites Golgi mucin) un ciklīns E normāli tiek ražots tikai proliferācijas un agrīnajā sekretorajā fāzē (cikla 5 līdz ~19 diena), kamēr leukēmijas inhibitorfaktors (LIF), vβ3 integrīns (β3), HOXA-10 (HOX) un p27 normāli izpaužas tikai sekretorajā fāzē (cikla ~17 līdz ~28 diena). Mainīts, izmantojot Langman's Medical Embryology.

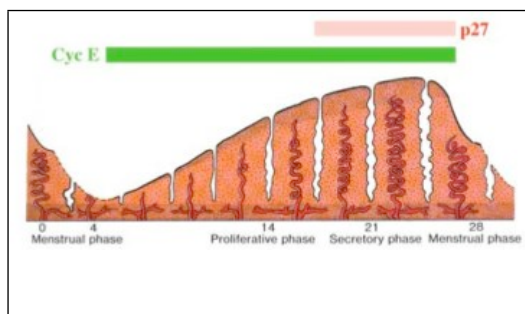
Lai arī ir atklāti marķieri, kas ļauj novērtēt gan stromu, gan dziedzerus, par svarīgākiem tiek uzskatīti marķieri, kas palīdz novērtēt tieši dziedzeru darbību. Tas ir tāpēc, ka ir atklāts, kas tieši dziedzeri ir pirmās šūnas, kas mijiedarbojas ar implantējošos blastocīstus. Tāpēc tieši dziedzeru stāvoklis visprecīzāk atspoguļo endometrija spēju uztvert apaugļoto olšūnu. Līdz šim brīdim tikai vβ3 integrīns (β3) ir kļuvis komerciāli pieejams endometrija novērtējuma veikšanai. Tajā pat laikā šī marķiera praktiskā nozīme šobrīd tiek apšaubīta. Kādu laiku ir pieejams arī progesterona receptors (PR). Tomēr viena paša šī marķiera izmantošana nav apliecinājusi ticamu endometrija uztveres spēju (*receptivity*) izvērtēšanu. Leukēmijas inhibitorfaktors (LIF) ir apliecinājis savu kritisko nozīmi implantācijas nodrošināšanā, eksperimentējot ar pelēm, kā arī ir uzrādījis atsevišķus rezultātus cilvēka menstruālā cikla pētījumos. Tomēr arī tas pagaidām nav apliecinājis savu spēju sniegt adekvātu endometrija receptivitātes novērtējumu. HOXA 10 arī mainās menstruālā cikla laikā un būtiskākās tā izmaiņas ir novērojamas noreceptīviem endometrijiem. Tomēr šobrīd šis marķieris nevar tikt novērtēts, izmantojot standarta paņēmienus. HOXA 10 produkta antivielu pieejamība nākotnē varētu mazināt šo ierobežojumu. MAG mucīns (Mouse ascites Golgi mucin (MAG)), specifisks karbohidrāta epitops [...], kas atrasts daudzos audos, ir apliecinājis savu spēju noteikt endometrija receptivitāti. Tomēr šī marķiera izmantošana ir ierobežota A un AB grupas pacientēm. Visu šo marķieru ierobežojumi vedina zinātniekus turpināt jaunu ticamu marķieru meklējumus, kas būtu izmantojami visām pacientēm. Šobrīd viscerīgākais marķieris, kurš sevi ir apliecinājis ir ciklīns, kas arī tiek izmantots Endometrija Funkcionālā testa® (EFT®) pamatā.

Ciklīns regulē šūnu augšanu un eksistē pāros – viena daļa, kas veicina augšanu, un otra daļa, kas to nomāc. Mēs esam atklājuši, ka ciklīns E, kas veicina endometrija augšanu un p27, kas to nomāc, ir visvairīgākie ciklīni endometrija pārbaužu veikšanai. Auglīgām sievietēm ciklīns E izpaužas cikla pirmajā pusē, kad notiek endometrija augšana, sabiezēšana. Savukārt p27 aktivizējas cikla otrajā pusē, kad notiek endometrija nobriešana (Attēls 4). Pamatojoties uz šiem novērojumiem, mēs esam secinājuši, ka estrogēns stimulē ciklīna E parādīšanos, savukārt progesterons izraisa ciklīna E pazūšanu un p27 parādīšanos. Ciklīna E un p27 izpausmju veidos ir vērojamas būtiskas atšķirības sievietēm, kurām ir neizskaidrojama neauglība (Attēls 5). Pastāvīga ciklīna E izpaušanās sekretorajā (luteīnajā) endometrija cikla fāzē liek secināt, ka ir pārtraukta dziedzeru darbība (apstājusies to attīstība) jau pirms kāda laika. Iespējams, tas ir noticis pāragra p27 parādīšanās rezultātā. Ar specifiskām iekrāsošanas metodēm var redzēt, ka abnormālu endometriju biopsijās dziedzeru attīstības pārtraukšanās

(glandular developmental arrest (GDA)) visbiežāk ir novērojama cikla 18.dienā, kad ir klātesošs gan ciklīns E, gan p27.

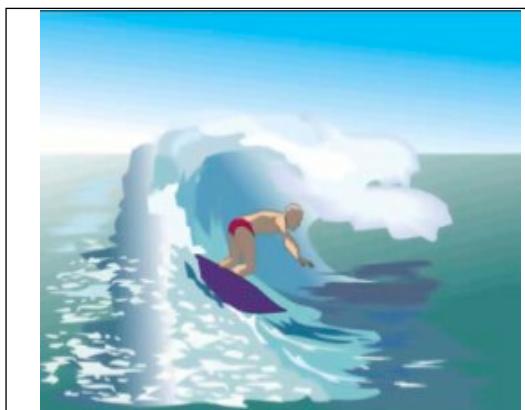


**Attēls 4. Ciklīna E un p27 izpausmes auglīgai sievietei.** Ciklīns E parādās cikla 5.dienā un turpina izpausties līdz pat cikla 19.dienai. Pēc cikla 19.dienas parasti ciklīns E nav vairs novērojams. p27, tajā pat laikā, nav novērojams līdz pat cikla 17.dienai, pēc kuras tas ir klātesošs visu atlikušo ciklu. Mainīts, izmantojot Langman's Medical Embryology.



**Attēls 5. Ciklīna E un p27 izpausmes sievietei ar neizskaidrojamu neauglību.** Visspilgtāk pamanāmā atšķirība starp auglīgu un neauglīgu sievieti, ir nepārtrauktā ciklīna E klātesamība un p27 samazinātais daudzums cikla sekretorajā fāzē. Šis atklājums atspoguļo endometrija dziedzeru attīstības apstāšanos neauglīgām sievietēm. Mainīts, izmantojot Langman's Medical Embryology.

Kāpēc dziedzeru attīstības apstāšanās (glandular developmental arrest (GDA)) tik bieži ir novērojama neizskaidrojamas neauglības gadījumos? Stroma bez dziedzeru apkārtējās vides funkcijas pilda arī komunikācijas funkciju, kontrolējot dziedzeru augšanu un attīstību. Kad estrogēns un progesterons iekļūst endometrijā, pirmām kārtām tas mijiedarbojas ar stromu. Ir zināms, ka daudz faktori, kas nepieciešami dziedzeru augšanai un attīstībai, nāk no stromas. Kad komunikācija starp stromu un dziedzeriem strādā, tas līdzinās tam, kā sērfoņģas veiksmīgi noķer vilni. Ja normālā stromas un dziedzeru komunikācijā ir traucējumi, dziedzeri palaiž garām stromas komunikācijas viļņus un ir kā uz sēkļa uzmeti sērfoņģi (Attēls 6).



**Attēls 6. Sērfoņģis un endometrijs.** Normāls endometrijs ir kā sērfoņģis, kas ir veiksmīgi noķēris vilni – vilnis ir stroma un sērfoņģis ir dziedzeri. Līdzīgi kā sērfoņģis var palaist garām vilni, ja tas traucas pārāk ātri, arī endometrija dziedzeri iepaliek, ja stroma attīstās pārāk strauji. Tas var notikt, ja ir pārāk daudz progesterona vai arī stroma ir pārāk jūtīga pret progesterona klātbūtni. Dodot progesteronu pakāpeniskāk, dziedzeri var paspēt "noķert" strauji augošo stromu.

## Endometrija Funkcionālais Tests® (EFT®)

*Ārstēšanas iespējas endometrija receptivitātes uzlabošanai*

Kā divas galvenās šobrīd attīstībā esošās ārstēšanas stratēģijas implantācijas defektu novēršanai, ir jāmin steroīdo hormonu protokols un to ekstraterīno faktoru novēršana, kas

ietekmē endometrija attīstību. Ikviens pacients ir unikāls, un viņa endometrija ārstēšanas pieejas ir jāizvērtē individuāli.

Tādi hormoni kā estrogēns un progesterons vienmēr ir uzskatīti par kritiskiem implantācijas procesa nodrošināšanai. Sievietēm, kuras piedzīvo neauglības ārstēšanu, kuras rezultātā pazeminās progesterona līmenis, piemēram GnRH agonists (Lupron™) un tiek veikta olšūnas uzlabošana, lai veiktu IVF, nepieciešams papildus uzņemt progesteronu, lai nodrošinātu grūtniecības iestāšanos. Diskutabls ir jautājums, vai necīgas izmaiņas devās un / vai lietošanas ilgumā un / vai lietošanās veidā, ietekmē implantāciju.

Pētījumi, kas salīdzina hormonu sagatavošanas un uzņemšanas veidus un to ietekmi uz marķieriem, kas ietekmē endometrija receptivitāti, uzrāda dažādas jutības indikatorus hormonu iedarbībai uz implantācijas procesu. Veicot pārbaudes mikroskopā, izmantojot H&E apstrādi, endometrija struktūra izskatās daudz dabiskāka pēc vaginālas progesterona ievadīšanas pretstatā intramuskulārai progesterona ievadīšanai. Tomēr ir salīdzinoši maz endometrija atkāpju no normas, kas var tikt identificētas, izmantojot rutīnas H&E audu apstrādi. No otras puses EFT® ir pārāk jutīgs rīks endometrija defektu diagnosticēšanā, jo tas pārbauda arī tādas specifiskas endometrijas funkcijas, kuru mediēšanā iesaistās gan estrogēns, gan progesterons. Tomēr izmantojot EFT® kā vadlīnijas, mums ir iespēja precīzāk noteikt steroīdo hormonu dozas un lietošanas ilgumu, tā pielāgojot ārstēšanu katram pacientam individuāli. Lai arī sistemātiski šīs ārstēšanas stratēģijas pētījumi vēl tikai tiek veikti, mums ir jau pirmie daudzsoļošie sekmīgie rezultāti, kas sasniegti darbā ar salīdzinoši sarežģītiem pacientiem.

Citi faktori var pārtraukt implantāciju, netiešā veidā iedarbojoties uz dzemdes iekšējām kārtām. Viens no šādiem piemēriem ir *hydrosalpinx*. Kad viens no olvada galiem nosprostojas, piemēram, kādas iepriekšējas infekcijas vai endometriozes rezultātā, normālais šūnu sekrēts uzkrājas olvadā, sastrēgst, tad satek atpakaļ dzemdē, kur tas ietekmē implantāciju. *Hydrosalpinx* likvidēšana vai nosusināšana var būt kritisks solis normālas implantācijas nodrošināšanai šādām pacientēm. Līdzīgi kā *hydrosalpinx* gadījumā, ir pierādījumi, ka arī endometrioze kavē normālu endometrija attīstību, kā rezultātā arī implantāciju. Medicīniska un / vai ķirurģiska endometriozes ārstēšana ir apliecinājusi savu spēju uzlabot varbūtību palikt stāvoklī pacientēm ar šādu diagnozi. Ir arī fakti, kas apliecina, ka sievietēm var būt implantācijas traucējumi, ja viņām ir pārāk augsts vai pārāk zems Ķermeņa Masas Indekss (ĶMI), kas, iespējams, ir saistīts ar šo organisma reakciju uz uzņemto pārtiku un saistīto insulīna izdalīšanos viņu organismā. Visbeidzot, ir fakti, kas apliecina, ka arī stresam var būt kaitējoša ietekmē uz implantāciju un tai sekojošo grūtniecību. Cerams, ka endometrija receptivitātes testi, piemēram EFT, kļūs pieejamāki un sniegs vairāk informācijas, kuram nepieciešams atbrīvoties no bojāta olvada, kuram ir jāārstē endometrioze, jāuzlabo endometrija apgāde ar barības vielām un / vai jāievēro stresa samazināšanas kurss – tā palielinot iespēju katrai pacientei piemērot individualizētu daudz precīzāku ārstēšanas pieeju.

### *Secinājumi*

Pacientēm, kurām nav izdevies tikt pie veiksmīgas grūtniecības ar vai bez kādas reproduktīvās tehnoloģijas atbalsta, problēmas sakne, iespējams, ir meklējama viņas dzemdes augsnē – endometrijā. Atsaucoties uz diviem vispāratzītiem patentiem, Endometrija Funkcionālais Tests® (EFT®), iespējams, ir visefektīvākais veids, kā noteikt endometrija receptivitāti un noteikt prioritātes pacientes ārstēšanai, pirms viņas grūtniecības nodrošināšanai tiek izmantotas dārgas reproduktivitāti nodrošinošas tehnoloģijas.

### *Papildus informācija*

Papildus informācijai par Endometrija Funkcionālo Testu® (EFT®) var lasīt te: <http://info.med.yale.edu/obgyn/kliman/> un iet uz sadaļu Infertility Research, tad uz saiti Endometrial Function Test® (EFT®). Te būs atrodami pdf faili ar rakstiem un citu informāciju

par EFT. Jūs varata zvanīt arī Dr. Kliman's laboratorijai Jēlā 203-785-7642.  
*Atsauces*

1. RL Dubowy, HS Taylor, EA Nannenber, H Zhang, HJ Kliman. Cyclin E and p27 are potential markers of endometrial receptivity. 2000 Annual Meeting of the Society for Gynecologic Investigation, Chicago, IL.
2. Kliman H, Dubowy R, Feinberg R. Improved accuracy of endometrial assessment using cyclin E and p27. Human Fertility and Reproduction: the oocyte, the embryo and the uterus. New York University, NY, NY, 2000.
3. Dubowy RL, Feinberg RF, Kliman HJ. Endometrial biopsy and infertility evaluation: new insights from cyclins. American Society for Reproductive Medicine, San Diego, CA, 2000.
4. Kliman HJ, Spandorfer SD, Barmat LI, Rosenwaks Z, Catalanotti JS, McSweet JC. MAG mucin expression abnormalities in natural cycle biopsies predict subsequent IVF failure. 2001 Annual Meeting of the Society for Gynecologic Investigation, Toronto, ON.
5. Kliman HJ, McSweet JC, Grunert GM, Cardone VRS. Efficacy of the Endometrial Function Test (EFT) in Assisted Reproductive Technology (ART) Practice. 2002 Annual Meeting of the American College of Obstetricians and Gynecologists, Los Angeles, CA.
6. Kliman HJ, McSweet JC, Grunert GM, Cardone VRS, Cadesky K, Keefe DL. The Endometrial Function Test (EFT)<sup>TM</sup> Directs Care and Predicts ART Outcome. American Society for Reproductive Medicine, Oral #44, Seattle, Washington, 2002.
7. Kliman HJ, Adel T, Isaac BR, Khosla N, McSweet JC, Franco A, Taylor HS, Santoro NF. Menstrual, Hormonal and Endometrial Evaluation of a Woman Traversing the Menopause: Frequent and Silent Anovulation and Endometrial Dysfunction. 2003 Annual Meeting of the Society for Gynecologic Investigation, Washington, DC.
8. Dubowy RL, Feinberg RF, Keefe DL, Doncel GF, Williams SC, McSweet JC, Kliman HJ. (2003) Improved endometrial assessment using cyclin E and p27. Fertil Steril, 80:146-56.
9. Sarno JL, Kliman HJ, Taylor HS. PBX2 and MEIS 1 are HOXA10 co-activators in human endometrium. 2004 Annual Meeting of the Society for Gynecologic Investigation, Houston, TX.
10. Lorch AC, Franco A, McSweet JC, Keefe DL, Kliman HJ. Telomerase expression in fertile patients compared to infertile patients with thin endometria. Oral presentation at the 60th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine (ASRM), October 16-20, 2004, Philadelphia, PA.
11. Stephenson M, Houlihan E, Karrison T, Franco A, McSweet JC, Kliman HJ. Successful treatment of endometrial-associated recurrent pregnancy loss (RPL): A blinded, controlled study. Oral presentation at the 60th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine (ASRM), October 16-20, 2004, Philadelphia, PA.
12. Boivin J, Schmidt L. (2005) Infertility-related stress in men and women predicts treatment outcome 1 year later. Fertil Steril, 83:1745-52.