

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ГОГИЧАШВИЛИ
КСЕНИЯ ЭДУАРДОВНА

**ГОРМОНАЛЬНЫЕ И ПРОТЕОМНЫЕ ФАКТОРЫ
В ГЕНЕЗЕ ГИПОПЛАСТИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИЯ
У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА**

3.1.4. – акушерство и гинекология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Аганезова Наталия Владимировна

Санкт-Петербург

2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1 Нарушения репродуктивной функции у женщин.....	15
1.2 Понятие рецептивности эндометрия.....	21
1.3 Гипопластический эндометрий как причина репродуктивных неудач.....	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	39
2.1 Материалы исследования.....	39
2.2 Методы исследования.....	44
2.2.1 Клинико-anamнестический метод.....	44
2.2.2 Ультразвуковой метод.....	45
2.2.3 Определение уровней гормонов в периферической крови.....	46
2.2.4 Бактериологический метод.....	47
2.2.5 Морфологический метод.....	48
2.2.5.1 Гистологическое исследование эндометрия.....	48
2.2.5.2 Иммуногистохимическое исследование экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии.....	50
2.2.5.3 Иммуногистохимическое исследование экспрессии протеомных маркеров (лейкемия ингибирующий фактор, FOX-белки) в эндометрии.....	51
2.2.6 Статистический метод.....	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	54
3.1 Клинико-anamнестические характеристики и результаты общего обследования женщин, включенных в исследование.....	54
3.2 Результаты гормонального и ультразвукового обследования женщин, включенных в исследование.....	65

3.3 Результаты морфологического исследования образцов эндометрия у женщин, включенных в исследование.....	68
3.3.1 Результаты гистологического исследования образцов эндометрия у женщин, включенных в исследование.....	68
3.3.2 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии у женщин, включенных в исследование.....	73
3.3.2.1 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии у женщин, включенных в исследование, в соотношении с толщиной эндометрия.....	73
3.3.2.2 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии у женщин, включенных в исследование, в соотношении с различной функциональной активностью желтого тела яичника.....	88
3.3.3 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии лейкемия-ингибирующего фактора в эндометрии у женщин, включенных в исследование, в соотношении с результатами гистологического и иммуногистохимического (счет ER, PR) исследований биоптатов слизистой тела матки.....	91
3.3.4 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии FOX-белков в эндометрии у женщин, включенных в исследование, в соотношении с результатами гистологического и иммуногистохимического (счет ER, PR) исследований биоптатов слизистой тела матки.....	104
3.4 Математико-статистическая оценка взаимосвязей клинико-anamнестических данных пациенток, включенных в исследование, и результатов морфологического анализа биоптатов эндометрия.....	116

3.5 Результаты терапевтического применения препаратов эстрадиола у женщин с «тонким» эндометрием, включенных в исследование.....	135
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	143
ВЫВОДЫ.....	171
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	173
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	174
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	177

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Репродуктивные проблемы, такие как бесплодие и невынашивание беременности, являются значимыми в социальном, демографическом и медицинском аспектах в большинстве стран мира. Частота нарушений репродуктивной функции колеблется от 17 до 24% в разных регионах и имеет тенденцию к увеличению [28, 29, 131, 132]

Этиология гравидарных неудач у женщин репродуктивного возраста многокомпонентна, однако наименее изученной остается эндометриальная дисфункция [70].

По мнению ряда авторов, одним из предикторов неудач репродукции может быть недостаточная толщина эндометрия (менее 7 мм) по данным ультразвукового исследования (УЗИ) в преовуляторные дни [54]. Формирование гипопластического эндометрия может быть на фоне воспалительных, посттравматических (выскабливание матки), гипоестрогенных состояний. Возможной причиной идиопатического уменьшения толщины эндометрия может быть дисбаланс протеомных маркеров [52, 54].

Считается, что на 6-8 день после овуляции (д.п.о.) в период «окна имплантации» эндометрий обладает наибольшей рецептивностью – комплексом характеристик, обуславливающим имплантацию бластоцисты. Рецептивность эндометрия реализуется за счет взаимодействия различных факторов на генетическом, протеомном и гистологическом уровнях [47, 73, 75, 133]. Исследователи отмечают, что полноценная рецептивность слизистой тела матки реализуется при нормальной толщине эндометрия [156]. Рецептивность «тонкого» эндометрия изучена недостаточно.

Применение современного иммуногистохимического метода исследования биоптатов эндометрия позволило получить новые данные об экспрессии ряда протеомных компонентов рецептивности слизистой тела матки, в частности эстрогеновых и прогестероновых рецепторов. Но в отношении «тонкого» эндометрия таких исследований крайне мало [52].

Также немногочисленны данные об экспрессии в «тонком» эндометрии такого протеомного маркера рецептивности эндометрия, как лейкемия-ингибирующий фактор (leukemia inhibitory factor, LIF), относящегося к семейству цитокинов. Известно, что в норме его эндометриальная экспрессия значимо выражена в период «окна имплантации» [47, 73].

Практически не изучена экспрессия в «тонком» эндометрии таких белков, участвующих в процессах пролиферации гормон-чувствительных тканей, как FOXA1 и специфического только для эндометрия FOXA2.

Протеомный маркер FOXA1 связывается с определенным участком ядерной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и обеспечивает связь ядерных эстрогеновых рецепторов с молекулой гормона, что важно для адекватно реализации эстроген-зависимых эффектов в эндометрии [100, 108]. Вероятно, можно рассматривать FOXA1 как опосредованный значимый фактор, необходимый для пролиферации и дифференцировки слизистой оболочки матки. Исследования, посвященные изучению экспрессии FOXA1 в эндометрии, в специальной литературе представлены очень скудно.

Протеомный маркер FOXA2 экспрессируется в маточных железах эндометрия и является специфичным для слизистой тела матки белком [108]. В экспериментальных исследованиях на мышах [106] доказано, что при делеции в гене FOXA2 была резко снижена экспрессия LIF в эндометрии, и у таких животных имплантация бластоцисты была невозможна. Эти результаты отражают важную роль семейства FOX-белков в процессах имплантации плодного яйца, а также подтверждают возможные ассоциации FOXA2 и LIF в слизистой оболочке матки. Данные об экспрессии FOXA2 в эндометрии у женщин репродуктивного возраста (при нормальной толщине слизистой тела матки) в доступной литературе единичны. Исследований экспрессии указанных протеомных маркеров в «тонком» эндометрии при репродуктивных неудачах в изученной литературе не обнаружено.

Также остается неизученным вопрос: являются ли особенности эндометриальной экспрессии указанных протеомных молекул значимыми для

терапевтического эффекта препаратов эстрадиола, усиливающих пролиферативные процессы в гипопластической слизистой матки.

Наличие репродуктивных нарушений неясного генеза является основанием для проведения комплексного обследования пациенток, включающего углубленное изучение биоптатов эндометрия с применением гистологического и иммуногистохимического методов с целью оценки экспрессии протеомных маркеров. В настоящее время изучение рецептивности «тонкого» эндометрия остается важной научной и практической задачей акушерства и гинекологии.

Цель исследования: улучшение диагностики нарушений рецептивности гипопластического эндометрия у женщин с репродуктивными дисфункциями для выбора доз препаратов эстрадиола, как терапии, направленной на усиление пролиферации эндометрия, на основании показателей эндометриальной экспрессии протеомных маркеров.

Задачи исследования

У женщин с гипопластическим эндометрием и репродуктивными нарушениями неясного генеза в анамнезе:

1. изучить клинико-анамнестические данные, оценить ультразвуковые параметры М-эхо эндометрия, уровни половых стероидов (эстрадиола (E_2), прогестерона (P), свободного тестостерона, 17-гидроксипрогестерона, дегидроэпиандростерона-сульфата) и тропных гормонов гипофиза (фолликулостимулирующего, лютеинизирующего, тиреотропного гормонов, пролактина) в периферической крови; уточнить значимость этих показателей для формирования гипопластического эндометрия;

2. проанализировать результаты гистологического и иммуногистохимического (счет эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов) исследований биоптатов эндометрия в соотношении с клинико-анамнестическими данными, значениями уровней E_2 , P в периферической крови и показателями М-эхо эндометрия;

3. оценить характеристики экспрессии лейкемия ингибирующего фактора (LIF), белков FOXA1 и FOXA2 в эндометрии в соотношении с клинико-анамнестическими данными, содержанием E₂, P в периферической крови и значениями М-эхо эндометрия;

4. оценить терапевтический эффект препаратов эстрадиола у женщин с гипопластическим эндометрием с учетом ассоциаций между показателями эндометриальной экспрессии ER, PR, LIF, FOXA1, FOXA2.

Методология и методы исследования

Исследование проведено на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России: СПб ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции», СПб ГБУЗ женская консультация №22; СПб ГБУЗ женская консультация №18; СПб ГБУЗ детская городская поликлиника №68, женская консультация №8; СПб ГБУЗ городская поликлиника №96, женская консультация №32. Проведение работы одобрено Локальным Этическим Комитетом ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России (выписка из протокола №8 от 11.11.2020).

Проведено проспективное исследование по типу случай-контроль. В исследование включены 130 женщин (20-40 лет): в основную группу и группу сравнения – 114 женщин с нарушениями репродуктивной функции неясного генеза (основная группа (n=52) – с гипопластическим эндометрием; группа сравнения (n=62) – с нормальной толщиной эндометрия); в контрольную группу (n=16) – здоровые фертильные женщины.

Использованы следующие методы: клинико-анамнестический, ультразвуковой, лабораторные (иммуноферментный и хемилюминесцентный методы исследования уровней гормонов в периферической венозной крови), морфологический (гистологическое исследование образцов эндометрия, определение экспрессии ER, PR, LIF, FOX-белков (FOXA1, FOXA2) иммуногистохимическим методом), статистические методы (сравнительный корреляционный, дискриминантный и регрессионный анализы данных были

проведены при курировании сотрудником кафедры педагогики, философии и права ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова – к.б.н. доцентом Клиценко О. А.).

Научная новизна и теоретическая значимость работы

У пациенток репродуктивного возраста с гипопластическим эндометрием и нарушениями фертильности неясного генеза в анамнезе расширены представления о протеомных маркерах, значимых для рецептивности эндометрия на основании многомерного и многофакторного анализа взаимосвязей между клинико-лабораторными данными и молекулярно-морфологическими характеристиками слизистой тела матки.

Впервые показано, что выскабливания полости матки, в том числе повторные, не являются фактором, безусловно предрасполагающим к формированию гипопластического эндометрия; подтверждено, что повторные выскабливания матки являются фактором риска нарушений рецептивности эндометрия.

Впервые выявлено, что при нормоэстрогенемии (при овуляторном менструальном цикле (м.ц.)) значение уровня эстрадиола в периферической крови и толщина эндометрия не являются взаимозависимыми.

Впервые в результате оценки эндометриальной экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона у женщин с нарушениями фертильности в анамнезе с гипопластическим эндометрием определены гормонально-рецепторные характеристики гипопластического эндометрия при нормоэстрогенемии в дни предполагаемого «окна имплантации».

Впервые у женщин с репродуктивными нарушениями в анамнезе с гипопластическим эндометрием при нормальных значениях уровней эстрадиола в крови (при овуляторном менструальном цикле) представлены данные об ассоциациях гормонально-рецепторных характеристик эндометрия и выраженности эндометриальной экспрессии протеомных маркеров рецептивности слизистой тела матки (LIF, FOXA1, FOXA2).

Впервые определено, что у каждой пятой женщины (21%) с гипопластическим эндометрием и репродуктивными дисфункциями показатели экспрессии ER, PR, LIF сопоставимы с таковыми показателями у здоровых фертильных женщин. Показано, что такой изолированный УЗ-показатель, как недостаточная величина М-эхо (<7 мм на 11-13 день менструального цикла при его длительности 28-30 дней), не является абсолютным маркером нарушений рецептивности эндометрия.

Впервые показано, что отличающиеся от показателей у здоровых фертильных женщин соответствующие характеристики эндометриальной экспрессии FOX-белков имеют место у каждой второй женщины (50%) с нарушениями репродуктивной функции (независимо от толщины эндометрия), а при гипопластическом эндометрии – более чем у 2/3 женщин (71%).

Впервые определены характеристики эндометриальной экспрессии протеомных маркеров, значимые для выбора эффективной дозы препаратов эстрадиола, для усиления пролиферации эндометрия.

Практическая значимость

«Тонкий» или гипопластический эндометрий по данным УЗИ на 11-13 день менструального цикла (при длительности м.ц. 28-30 дней) не является абсолютным прогностическим маркером репродуктивной дисфункции, однако предопределяет большие риски нарушения фертильности у женщин. Такой изолированный УЗ-показатель, как «тонкий» эндометрий, без соответствующего анамнеза, не является абсолютным показанием для изучения биоптатов слизистой оболочки тела матки.

Сочетанное гистологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов эндометрия с определением экспрессии протеомных маркеров (LIF, FOXA1, FOXA2) при нарушениях репродуктивной функции неясного генеза позволяет получить расширенное представление о рецептивности слизистой оболочки матки, в том числе и при гипопластическом эндометрии.

Выявлено, что только у каждой четвертой-пятой женщины с гипопластическим эндометрием и репродуктивными дисфункциями в анамнезе

показатели рецептивности слизистой тела матки на гистологическом и протеомном (экспрессия ER, PR, LIF, FOXA1, FOXA2) уровнях сходны с соответствующими показателями у здоровых фертильных женщин (с нормальной толщиной эндометрия). Определено, что каждая вторая женщина с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе (независимо от толщины эндометрия) в целом имеет характеристики экспрессии FOX-белков, отличные от таковых у здоровых женщин из группы контроля. Более, чем у 2/3 пациенток (71%) с гипопластическим эндометрием характеристики экспрессии FOXA1 и FOXA2 в слизистой тела матки значимо отличаются от соответствующих показателей у здоровых фертильных женщин с нормальной толщиной эндометрия. Указанные особенности экспрессии изученных протеомных маркеров рецептивности эндометрия значимы для выбора доз препаратов эстрадиола, как терапии для усиления пролиферации эндометрия.

Выявлено, что начальная доза трансдермальных препаратов экзогенного эстрадиола 1-1,5 мг/сут эффективна для усиления процессов пролиферации гипопластического эндометрия при условии наличия полноценных гормонально-рецепторных взаимодействий в слизистой оболочке матки и характеристик эндометриальной экспрессии LIF, FOX-белков, сходных с таковыми у здоровых фертильных женщин; при характеристиках рецептивности «тонкого» эндометрия, отличных от соответствующих показателей у здоровых женщин, для усиления процессов пролиферации слизистой оболочки матки целесообразно использовать повышенные дозы трансдермальных препаратов экзогенного эстрадиола – 4 мг/сут.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Выскабливания полости матки в анамнезе и их число не определяют формирование гипопластического эндометрия. Значения уровня эстрадиола в периферической крови (при нормоэстрогемии) и толщина эндометрия в преовуляторный период не являются взаимозависимыми.

2. У здоровых женщин имеют место следующие гормонально-рецепторные характеристики эндометрия (6-8 д.п.о.): в железах – низкая экспрессией ER и PR; в строме – тенденция к снижению экспрессии ER и высокая экспрессия PR.

Аналогичные данные определены только у 21% женщин с гипопластическим эндометрием и репродуктивными дисфункциями в анамнезе. Показатели экспрессии ER и PR не ассоциированы с уровнями E₂, P в периферической крови (при овуляторном м.ц.), независимо от толщины эндометрия.

3. У женщин с гипопластическим эндометрием (в отличие от здоровых женщин) сниженная эндометриальная экспрессия LIF (6-8 д.п.о.) определена в люминальном эпителии и железах ($p < 0,05$); у всех женщин с репродуктивными дисфункциями независимо от толщины эндометрия – в строме ($p < 0,05$). Отличия эндометриальной экспрессии FOXA1, FOXA2 (6-8 д.п.о.) от соответствующих показателей у здоровых женщин отмечены: у каждой второй женщины с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе, независимо от толщины эндометрия; более, чем у 2/3 женщин (71%) – с гипопластическим эндометрием.

4. Повторные выскабливания полости матки в анамнезе и гормонально-рецепторные характеристики эндометрия значимы для выраженности экспрессии LIF, FOXA1 и FOXA2 в слизистой тела матки, как при нормальной толщине эндометрия, так и при гипопластическом эндометрии.

5. У женщин с гипопластическим эндометрием (при нормоэстрогенемии) начальная доза терапии трансдермальными препаратами эстрадиола – 1-1,5 мг/сут эффективна для усиления пролиферации при показателях рецептивности (ER, PR, LIF, FOXA1, FOXA2) гипопластического эндометрия, сходных с таковыми у здоровых женщин. При показателях рецептивности гипопластического эндометрия, отличающихся от соответствующих показателей у здоровых женщин, целесообразно сразу использовать повышенные дозы препаратов эстрадиола (4 мг/сут) для усиления пролиферации эндометрия.

Апробация и внедрение результатов работы в практику

Материалы диссертационного исследования представлены на следующих научно-практических конференциях и конгрессах: the 14th Congress of the European Society of Gynecology (Venice, Italy, 2021); Всероссийской научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых с международным участием

«Эйхвальдские чтения – 2022» (Санкт-Петербург, 2022); Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием «Мечниковские чтения – 2022» (Санкт-Петербург, 2022); the 16th Congress of the European Society of Contraception and Reproductive Health (Ghent, Belgium, 2022); the 30th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (Amsterdam, The Netherlands, 2022); 19th World Congress on Human Reproduction (Venice, Italy, 2023); Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием «Мечниковские чтения – 2023» (Санкт-Петербург, 2023); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Профилактическая медицина – 2023» (Санкт-Петербург, 2023); the 31th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (Vienna, Austria, 2023); 15th Congress of the European Society of Gynecology (Amsterdam, The Netherlands, 2023).

Основное содержание работы отражено в 13 печатных работах, в том числе 6 – в ведущих рецензируемых научных журналах (все – ВАК/Scopus).

Результаты исследования внедрены в работу амбулаторного отделения охраны репродуктивного здоровья СПб ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции»; в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России.

Личный вклад автора в работу

Автор участвовал в планировании исследования: разработке специальных карт-анкет для сбора клиничко-anamnestических данных анамнеза и обследования участниц исследования. Диссертант проводил отбор пациенток для включения в исследование, опираясь на критерии включения и исключения. Автором изучены и проанализированы клиничко-anamnestические данные и результаты обследований участниц исследования. Диссертант самостоятельно выполнял внутриматочное вмешательство для получения биоптатов эндометрия (аспирационная биопсия слизистой тела матки) для дальнейшего исследования гистологическим и иммуногистохимическим методами, анализировал клиничко-лабораторные данные

и результаты морфологических характеристик эндометрия. Автором создана компьютерная база данных участниц исследования, проведена статистическая оценка анализируемых показателей.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы о материалах и методах исследования, главы о результатах собственного исследования, главы обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 157 источников (76 российских и 81 иностранный). Материалы диссертационного исследования изложены на 195 страницах машинописного текста, иллюстрированы 44 таблицами и 23 рисунками.

Соответствие паспорту специальности

Дизайн и результаты диссертационного исследования соответствуют паспорту специальности 3.1.4. – акушерство и гинекология (медицинские науки): пункту 1 – Исследования по изучению эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний, пункту 4 – Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний, пункту 5 – Экспериментальная и клиническая разработка методов оздоровления женщины в различные периоды жизни, вне и во время беременности и внедрение их в клиническую практику.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Нарушения репродуктивной функции у женщин

Нарушения репродуктивной функции у женщин, такие как бесплодие и невынашивание беременности, являются актуальными проблемами акушерско-гинекологической науки и практики [13, 28, 29, 65]. Помимо медицинской составляющей, нарушения репродуктивной функции значимы для социоэкономических и психоэмоциональных аспектов жизни пары [13, 32]. По данным литературы, частота бесплодных пар в разных регионах Российской Федерации колеблется от 17 до 24% [23, 29, 37]. В 2009 году эксперты Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) сформулировали определение бесплодия, как «болезни репродуктивной системы, которая выражается в неспособности достичь клинической беременности в течение 12 месяцев при регулярной половой жизни без использования каких-либо методов контрацепции у пары репродуктивного возраста [29]. До 10% бесплодных пар сталкиваются с диагнозами «бесплодие неясного генеза» или «идиопатическое бесплодие». При такой ситуации у обоих партнеров не выявлено очевидных причин, препятствующих наступлению беременности. Именно таким парам рекомендовано углубленное обследование, так как ряд факторов риска репродуктивных неудач, в том числе нарушения рецептивности эндометрия, не выявляются при использовании рутинных методов диагностики [6, 35, 39, 79].

В структуре причин бесплодия доля женского фактора достигает 45%. Мужской фактор бесплодия также занимает существенное место в ряду причин репродуктивных дисфункций. Нарушение репродукции у мужчин выявляется все чаще: в 1990-е годы доля мужского фактора у пар с репродуктивными неудачами равнялась 7%, а в настоящее время достигает 40%. Поэтому исследование спермограммы является обязательным на этапе прегравидарного обследования пары [37, 42].

Экспертами ВОЗ было пересмотрено определение терминов «привычное невынашивание беременности». Ранее такой диагноз был правомочен при наличии

трех и более гравидарных потерь в анамнезе до доношенного срока (до 37 недель) беременности. Согласно рекомендациям Европейского общества по репродукции человека и эмбриологии (European Society of Human Reproduction and Embryology – ESHRE), в настоящее время диагноз «привычное невынашивание» актуален при наличии двух и более выкидышах и/или преждевременных родах в анамнезе (2017, 2023) [131, 132]. В таких случаях необходимо прегравидарное углубленное обследование и проведение комплекса мер по подготовке к беременности. Стоит отметить, что определение «привычное невынашивание» включает в себя такое понятие, как «привычное нарушение имплантации» – это отсутствие клинической беременности при переносе в матку эмбрионов хорошего качества [67, 69]. Таким образом, отсутствие беременности в протоколах вспомогательных репродуктивных технологий, связанное с эндометриальной дисфункцией, в широком смысле также рассматривается, как «привычная потеря беременности», и является актуальной проблемой для современного акушерства.

Этиология гравидарных потерь многокомпонентна: в литературе описано множество факторов, способствующих и/или приводящих к досрочному прерыванию беременности, – анатомических, инфекционных, генетических, эндокринных, соматических и иммунологических [13, 23, 37, 50]. При исключении перечисленных причин, принято говорить о репродуктивных неудачах неясного генеза.

Значение эндокринных факторов, как причин бесплодия и невынашивания беременности, до конца неясно [13, 50, 66]. Наиболее изученной является роль гипофункции щитовидной железы, когда повышается концентрация тиреотропного гормона (ТТГ), и, в некоторых случаях, количество антитиреоидных антител. Такое состояние может неблагоприятно влиять на овуляцию, процессы имплантации плодного яйца и на исходы беременности.

В литературе можно встретить описания недостаточной функции желтого тела яичника, как эндокринного фактора, значимого в патогенезе гравидарных потерь [4, 58]. Не существует четких критериев недостаточности лютеиновой фазы (НЛФ); считается, что это комплекс нарушений, который включает в себя

снижение функции желтого тела и/или относительную недостаточность прогестерона. Это означает, что концентрация прогестерона находится в пределах референсных значений для лютеиновой фазы овариального цикла, однако эффекты данного полового стероидного гормона неполноценны. Такие нарушения ведут к неадекватной секреторной трансформации эндометрия и невозможности имплантации бластоцисты несмотря на то, что стероидогенез в яичниках не нарушен [38, 58]. Клинически НЛФ может проявляться как бесплодием, так и самопроизвольными выкидышами в ранние сроки беременности.

Многие авторы отмечают ановуляцию, как патогномоничный симптом и причину гравидарных неудач у женщин с эндокринной формой бесплодия [12, 47]. Ановуляция определяется примерно у 15% женщин, которые не способны достичь клинической беременности. Наиболее частой причиной ановуляторных менструальных циклов у женщин с бесплодием являются различные варианты нарушения фолликулогенеза в яичниках. Стоит отметить, что у таких женщин обычно наблюдается нормогонадотропная нормопролактинемическая недостаточность яичников.

Эндометриальный фактор играет существенную роль в патогенезе привычных гравидарных потерь и бесплодия [46, 70, 71]. Именно поэтому, в настоящее время внимание современных ученых все более направлено на изучение различных характеристик эндометрия, в том числе экспрессию рецепторов половых стероидных гормонов и других значимых сигнальных молекул, как показателей рецептивности эндометрия. Считается, что оптимальные условия для имплантации плодного яйца имеют место в период так называемого «окна имплантации» [51, 58, 75]. Данный отрезок времени соответствует 6-8 дню после пика лютеинизирующего гормона (ЛГ) в крови женщины [5, 10, 11, 75].

Для того, чтобы произошла имплантация плодного яйца, должно совпасть по времени множество сложных процессов развития эмбриона и динамических изменений в эндометрии [98]. Имплантация бластоцисты состоит из трех последовательных фаз: присоединение (apposition), сцепление (adhesion) и вторжение (invasion) [39, 65]. Началом имплантации служит момент выхода

бластоцисты из блестящей оболочки (*zona pellucida*), что называется хетчингом и происходит в строго определенный момент. Исчезновение *zona pellucida* необходимо, чтобы появились условия для взаимодействия различных рецепторов и сигнальных молекул, которые участвуют в последующих этапах имплантации. Во время «выбора» бластоцистой места прикрепления к эндометрию (*apposition*) на ее наружной мембране образуется множество микроворсинок, которые отвечают за «установление связи» между бластоцистой и эндометрием. Именно этот этап является важной основой для будущего синхронного взаимодействия эндометрия и эмбриона. Второй этап – сцепление (*adhesion*) – характеризуется тесным взаимодействием трофобласта с эндометрием, где формируются их функциональные взаимоотношения. Последний этап – вторжение (*invasion*) бластоцисты в эндометрий, который завершает процесс имплантации и характеризуется глубоким проникновением и прорастанием ворсин трофобласта в толщу функционального слоя эндометрия. За успешную имплантацию плодного яйца отвечает комплекс структурно-функциональных характеристик эндометрия, которые объединяются в понятие «рецептивность эндометрия» [6, 20, 46, 92].

Способность эндометрия адекватно и полноценно реагировать на циклические воздействия половых стероидных гормонов реализуется в том, что формируются необходимые структурные изменения эндометрия для возникновения «окна имплантации», что крайне важно для успешной имплантации бластоцисты, наступления беременности и ее развития [3, 47, 71, 143]. Интересен факт, описанный в литературе, что имплантация бластоцисты может наступить в любой ткани организма без какой-либо специфической подготовки, и только лишь эндометрию необходимы фазовая трансформация и полноценная подготовка для процессов имплантации плодного яйца [39, 46]. Специфическим маркером рецептивности эндометрия служит появление пиноподий в апикальном железистом эпителии слизистой оболочки полости матки. Пиноподии – это микроскопические выпячивания в апикальной части поверхностного эпителия эндометрия, которые образуются на месте микроворсинок во время «окна имплантации» и выступают в полость матки [1, 5, 70]. Предполагается, что

основные рецепторы, отвечающие за успешную имплантацию бластоцисты, располагаются именно на поверхности пиноподий [1].

В настоящее время не разработано универсальных методов диагностики, которые могли бы в полной мере отразить наличие в эндометрии условий для успешной имплантации бластоцисты. Однако существуют современные способы, позволяющие оценить отдельные характеристики рецептивности/рецепторности эндометрия, например, иммуногистохимический метод [36, 49, 71, 76]. Такая диагностическая методика позволяет количественно оценить рецепторы эстрогенов и прогестерона, их соотношение в клетках эндометрия, другие протеомные маркеры рецептивности эндометрия, а также определить иммунологические характеристики эндометрия (CD клетки – cluster designation – маркеры пролиферации и иммунного статуса эндометрия) [4, 40, 76]. Стоит отметить, что использование аспирационной биопсии эндометрия, как способа получения материала для морфологического исследования, практически не повреждает эндометрий и является более современным методом в отличие от диагностического выскабливания матки с использованием хирургических инструментов.

Частота бесплодных пар в Российской Федерации достигает 24%, что по данным ВОЗ является критическим уровнем для демографической ситуации в любой стране мира и актуальной проблемой, требующей решения [13, 37]. Отмечается интенсивный рост числа случаев бесплодия в настоящее время. Около половины бесплодных пар нуждаются в применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Однако эффективность ВРТ при успешной стимуляции овуляции не всегда высока. Успех ВРТ во многом зависит от состояния эндометрия в период «окна имплантации» [20, 37, 63, 95]. В ряде случаев при успешной имплантации плодного яйца после переноса эмбриона (положительные диагностические титры бета-субъединицы хорионического гонадотропина человека – β -ХГЧ), и даже подтверждения клинической беременности (ультразвуковая визуализация плодного яйца в полости матки) происходит ранняя

потеря беременности ввиду неадекватных условий в эндометрии для прогрессивного развития плодного яйца.

Эндометриальный фактор в ряду причин репродуктивных нарушений до конца не изучен. Перспективным является научный поиск в определении роли неадекватных гормонозависимых изменений эндометрия и нарушений эндометриальной экспрессии протеомных факторов, как предикторов неудач репродукции.

1.2 Понятие рецептивности эндометрия. Значение протеомных факторов

Рецептивность или восприимчивость эндометрия – это комплекс его структурно-функциональных характеристик с конкретными временными и пространственными постоянными [11, 40, 75]. В настоящее время выделяют группы морфологических и молекулярных маркеров, которые характеризуют рецептивность эндометрия. Существует несколько уровней рецептивности эндометрия – генетический, протеомный и гистологический [58, 92].

Генетический уровень рецептивности эндометрия выражается в том, что в период «окна имплантации» в эндометрии усиливается экспрессия 395 генов, отвечающих за различные белки (например, аполипопротеин E – АпоЕ, ApoE; фосфолипаза A2 – phospholipase A2, PLA2, др.) и снижается экспрессия 186 генов (значимых для образования различных протеаз, внеклеточных матриксных белков, т.д.). Эти гены кодируют специфические белки, необходимые для реализации полноценной рецептивности эндометрия. Экспрессия данных генов отражает суть генетического уровня рецептивности эндометрия [82, 157].

Среди протеомных маркеров, которые также связаны с рецептивностью эндометрия, выделяют различные молекулы адгезии, цитокины, факторы роста, интерлейкины (IL) (в том числе лейкемия ингибирующий фактор), суперсемейство FOX-белков (Forkhead box – семейство факторов транскрипции), рецепторы эстрогенов и прогестерона. Это второй уровень рецептивности эндометрия – протеомный [33, 73, 152].

По данным литературы, наиболее изученным является лейкемия ингибирующий фактор (leukemia inhibitory factor, LIF, ЛИФ) [43, 81, 90]. Он представляет собой высокогликолизированный полипептид семейства цитокинов, который относится к группе интерлейкинов-6 (IL-6) и у человека кодируется геном, локализованным в хромосоме 22q12. Этот цитокин оказывает значимое влияние на пролиферацию и дифференцировку клеток в различных тканях, в том числе и в эндометрии. Действие LIF осуществляется за счет связывания с двумя типами рецепторов. Существуют LIF-специфический рецептор (LIF-R) и

мембранный рецептор gp130, служащий рецептором для родственных цитокинов, таких как IL-6, IL-11, онкостатин М, что объясняет схожесть эффектов LIF и других цитокинов [2, 63, 73].

В эндометрии LIF продуцируется в течение всего менструального цикла: наиболее низкие значения были обнаружены в функциональном слое эндометрия в пролиферативную фазу, а своего максимума значение LIF достигает в среднюю секреторную фазу менструального цикла (примерно на 6-8 день после овуляции при 28-дневном цикле), опускаясь до базального уровня с началом нового менструального цикла. Именно эти данные, по мнению ученых, являлись первыми указаниями на вероятную роль цитокинов в процессе имплантации бластоцисты [2, 22, 43].

При обследовании женщин с репродуктивными потерями в анамнезе ученые отметили снижение экспрессии мембранного рецептора LIF в период «окна имплантации», чего не наблюдалось у здоровых женщин [14, 73, 90].

В эксперименте С. Stewart (1992), выполненного на самках мышей с помощью методик генной инженерии, были обнаружены прямые доказательства того, что экспрессия LIF является необходимой для полноценного процесса имплантации [139]. У самок мышей инактивировали ген, кодирующий LIF, что впоследствии не нарушало процесс оплодотворения, но эндометрий этих мышей был не пригоден для имплантации бластоцисты. При переносе бластоцисты от самок с интактными генами LIF к самкам с нормальным геном имплантация происходила успешно, что свидетельствует о значении LIF в эндометрии для процесса имплантации. Стоит отметить, что при введении рекомбинантного LIF мышам с дефицитом гена LIF, процесс имплантации восстанавливался.

Еще одним достаточно хорошо изученными протеомным фактором рецептивности эндометрия являются кадгерины [10, 11, 40, 96]. Это основной класс молекул клеточной адгезии, которые обеспечивают кальций-зависимое соединение клеток. Кадгерины относятся к семейству гликопротеинов. Помимо того, что кадгерины ответственны за механическое соединение клеток друг с другом, они важны для образования слоев и групп клеток, передачи сигналов между этими

клетками [49, 57]. Кадгерини разделяются на подклассы E-, P- и N-кадгеринов, которые различаются между собой по иммунологической специфичности и распространению в тканях. E-кадгерини относятся к трансмембранным гликопротеинам клеточной поверхности и способствуют клеточно-клеточной адгезии [51, 57, 75]. Данный подкласс кадгеринов в организме необходим для нормального эмбриогенеза. В литературе описано, что наибольшее количество E-кадгерина наблюдается во время секреторной фазы менструального цикла. Также представлена информация, что прогестерон способен регулировать экспрессию E-кадгерина [57].

Семейство НОХ-генов (гомеозисные гены – homeobox protein, кодируют транскрипционные факторы), в частности НОХА-10 (homeobox protein A-10), также участвует в росте, дифференциации эндометрия и его рецептивности на протеомном уровне [51, 57]. Наибольшая концентрация НОХА-10 наблюдается в секреторную фазу менструального цикла. Данные гены регулируют образование пиноподий. Было выявлено, что НОХА-10 наблюдается в основном в стромальных клетках эндометрия, и его экспрессии у фертильных женщин была намного выше, чем у женщин с бесплодием в анамнезе.

К протеомному уровню рецептивности эндометрия также относится экспрессия специфических белковых структур – эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, а также так называемых FOX-белков.

Третьим уровнем рецептивности эндометрия является гистологический уровень [39, 76, 138]. С целью получения материала для выполнения гистологического исследования выполняют аспирационную биопсию эндометрия. В норме слизистая оболочка матки претерпевает фазовую трансформацию в течение всего менструального цикла. При гистологическом исследовании образцов слизистой из полости матки описано, что в фазу пролиферации происходит постепенное увеличение сосудов и желез в эндометрии. Железы в этот период имеют форму трубочек, а их клетки не обладают секреторной активностью. В это же время, в эндометриальных железах повышается экспрессия рецепторов прогестерона и эстрогенов. В фазу секреции уменьшается отек слизистой оболочки

матки, железы становятся извитыми и их клетки отличаются активной секрецией. В эту фазу происходит снижение экспрессии рецепторов прогестерона в эндометриальных железах [19, 75, 96].

В литературе описано, что эндометрий пациенток, страдающих бесплодием, отличается задержкой развития и/или недостаточной трансформацией функционального слоя слизистой оболочки матки [17, 40]. Однако, клинические исследования показали, что результаты гистологического анализа не могут быть единственным критерием для корректной оценки рецептивности эндометрия. Несоответствие гистологической картины фазовой трансформации эндометрия дню «эндометриального цикла» было обнаружено и у здоровых фертильных женщин, у которых наблюдались регулярные менструации [39, 58].

Исследование биоптатов эндометрия позволяет определить выраженность экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона и определить их соотношение. В норме в эндометрии происходит циклическое изменение баланса рецепторов женских половых гормонов в зависимости от фазы менструального цикла. В раннюю пролиферативную фазу имеет место прогрессивное увеличение эстрогеновых рецепторов (ER) как в строме, так и в железах. Максимальное значение ER наблюдается в предовуляторном периоде и во время овуляции. После овуляции отмечается постепенное снижение экспрессии рецепторов эстрогенов, обусловленное действием прогестерона. Экспрессия рецепторов прогестерона начинается в позднюю пролиферативную фазу и достигает максимума в предовуляторном периоде и во время овуляции. В секреторную фазу происходит постепенное уменьшение экспрессии рецепторов прогестерона (PR) в железах, в то время как экспрессия рецепторов в стромальных клетках остается высокой [49, 57].

Одной из причин бесплодия может быть повышенная экспрессия эстрогеновых рецепторов с одновременным снижением экспрессии рецепторов прогестерона в клетках эндометрия в раннюю секреторную фазу, что не соответствует характеристикам рецептивности эндометрия, обеспечивающим успешную имплантацию плодного яйца.

В эндометрии «окну имплантации» соответствует средняя стадия фазы секреции «эндометриального цикла». Эндометрий может обладать нормальными рецептивными свойствами только в том случае, если большинство молекулярных маркеров его рецептивности адекватно экспрессируются в среднесекреторную эндометриальную фазу. Таким образом, любой дисбаланс экспрессии рецепторов половых гормонов (эстрогеновых и прогестероновых), может привести к нарушению морфофункциональных свойств эндометрия и его рецептивности.

Прогестерон проявляет свое действие через прогестероновые рецепторы (PR) двух типов: А-рецепторы (PRA) и В-рецепторы (PRB). Считается, что рецепторы типа В обладают более сильной транскрипционной активностью [25, 26, 148]. В литературе встречается упоминание о недавно открытых рецепторах прогестерона типа С (PRC), которые способны усиливать активность PRA и PRB, однако последние данные малочисленны [148].

Реализация прогестерон-зависимых эффектов в репродуктивной системе осуществляется за счет рецепторов типа А. Рецепторы PRB необходимы для обеспечения эффектов прогестерона в тканях молочной железы, которые необходимы для регуляции пролиферации и дифференцировки клеток молочной железы [25, 157].

Стоит отметить, что прогестерон является агонистом многих прогестеронных мембранных рецепторов, так же, как и лиганда PGRMC1 (прогестеронного рецепторного мембранного компонента-1). Более того, прогестерон является антагонистом минералкортикоидного рецептора (MR). Прогестерон предотвращает активацию MR, связываясь с этим рецептором. Афинность у прогестерона выше, чем у альдостерона и глюкокортикоидов, поэтому прогестерон способен оказывать антиминералкортикоидный эффект. Также, прогестерон с небольшой силой может вести себя как частичный агонист глюкокортикоидного рецептора (GR) [16, 25].

Прогестерон имеет ряд физиологических эффектов, которые усиливаются в присутствии эстрогенов. Эстрогены через эстрогеновые рецепторы (ER) стимулируют/активируют экспрессию PR [26, 114].

В отсутствие молекулы гормона рецепторы находятся в цитозоле в неактивном виде. То есть, данные рецепторы «не видны» для гормональной молекулы [16, 25]. В момент, когда происходит связывание гормона со своим рецептором, запускается каскад событий, с первоначальной миграцией рецептора из цитозоля в ядро и последующего связывания димера рецептора со специфическими последовательностями ДНК («элемент ответа гормона»). Ответный элемент для каждого гормона кодируется короткой последовательностью ДНК и способен связываться исключительно со «своим» гормоном. Далее, комплекс «ДНК+рецептор+гормон» активирует белки, отвечающие за транскрипцию нити ДНК в матричную РНК (мРНК), что в конечном итоге приводит к изменению функции клетки. Матричная РНК отвечает за перенос информации о структуре белка от ДНК к месту синтеза белка на рибосомах [17, 61].

На рисунке 1 изображена схема взаимодействия гормона с рецептором.

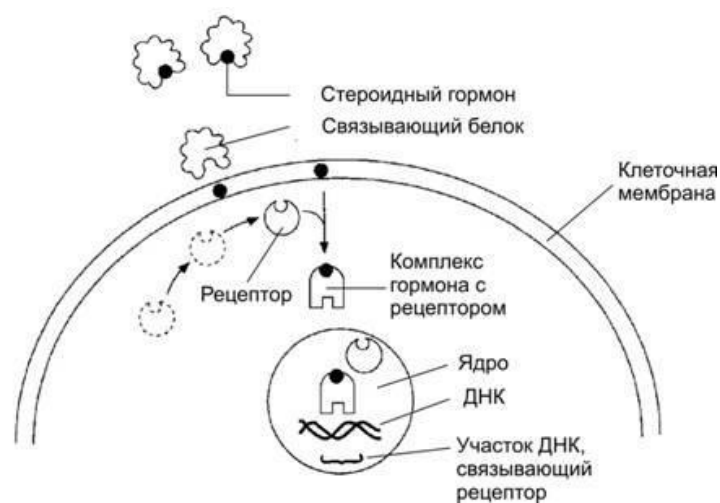


Рис.1. Взаимодействие гормона с рецептором

Различают два вида эстрогеновых рецепторов – альфа и бета ($ER\alpha$ и $ER\beta$) [115]. ER относятся к супер-семейству ядерных рецепторов гормонов и имеют несколько общих структурных областей. Основными такими функциональными доменами являются A/B, C, D, E/F [26, 61, 101].

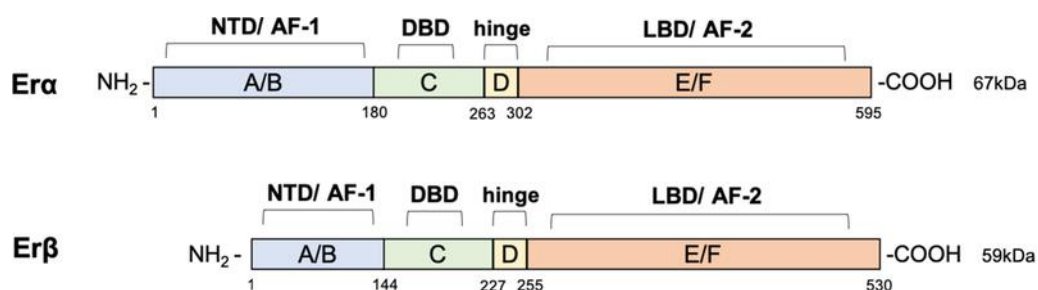


Рис. 2. $ER\alpha$ и $ER\beta$ – функциональные домены

Область домена A/B участвует в транскрипции генов. Область C соответствует ДНК-связывающему домену (DBD), который способствует димеризации рецептора эстрогена и связыванию со специфическими последовательностями в хроматине, известными как эстрогенный ответный элемент (ERE, estrogen response element) [26, 61, 101]. К ERE-регулируемым генам относятся гены, отвечающие за синтез пролактина, прогестерона и утероглобина. Домен D – это шарнирная область, необходимая для связывания доменов C и E/F. Область E/F известна под названием «лиганд-связывающий домен», содержит участки связывания для корепрессоров и коактиваторов. Данный домен отвечает за передачу сигнала к другим компонентам транскрипционного комплекса, что вызывает повышение или понижение уровня экспрессии рецепторов.

Основной механизм функции ER однообразен для всех стероидных гормонов. Стероидные гормоны проникают через клеточную мембрану и связываются со специфическими белками нуклеарного рецептора [40, 46]. Далее, активированный комплекс «гормон+рецептор» реагирует с ядерным хроматином, запуская процесс транскрипции РНК и синтез специфических белков.

Однако, ER имеют ряд особенностей, которые характерны только для них. В отсутствие гормона рецептор остается неактивным. Рецептор связан с белком теплового шока (heat shock protein, hsp90). Данный белок препятствует переходу рецептора в активное состояние. Взаимодействие молекулы эстрогена с лиганд-

связывающим доменом вызывает диссоциацию стабилизаторного протеина hsp90, происходит фосфорилирование рецептора, и он переходит в активное состояние [21, 61].

Для реализации рецепторами своей функции существует несколько механизмов. Первый механизм – прямой («классический»). Вторым механизмом «работает» за счет связывания с другими факторами транскрипции (TF), третий механизм – негеномный и, наконец, четвертый механизм, который особняком стоит среди всех других механизмов, – лиганд-независимая активация эстрогеновых рецепторов [21, 61].

Чаще всего в литературе можно встретить упоминания о первом, простом «классическом» механизме, когда происходит самая обыкновенная активация рецептора гормоном, который вместе с белками-корегуляторами изменяет экспрессию отдельных генов. Именно в реализации этого механизма участвуют пионер-факторы FOX-белки (Forkhead box protein) [21, 80, 108]. Семейство FOX-белков относится к факторам транскрипции, которые играют важную роль в регулировании экспрессии генов, участвующих в росте клеток, их пролиферации, дифференцировке, а также, продолжительности жизни данной клетки. Многие FOX-белки важны для эмбрионального развития. Семейство FOX-белков обладают новаторской транскрипционной активностью, поскольку они способны связывать конденсированный хроматин во время процессов дифференцировки клеток. Хроматин – это нуклеопротеид, который является составляющей частью ДНК, и именно в хроматине происходит реализация генетической информации. Существуют два белка, которые отвечают за процессы пролиферации клеток эндометрия, – это FOXA1 и специфический только для эндометрия FOXA2.

Белок FOXA1, связываясь с определенным участком ядерной ДНК, запускает процесс декомпрессии или, другими словами, деконденсации хроматина [124, 151]. Эти действия обеспечивают связь эстрогеновых рецепторов с ближайшими эстрогеновыми ответными элементами (ERE), что приводит соответствующие регулируемые гены в состояние, которое обеспечивает последующее взаимодействие с комплексом «гормон+рецептор». В результате этих действий

инициируется транскрипция ДНК с образованием матричной РНК и дальнейшим синтезом специфических белков, реализующих эффекты эстрадиола в эндометрии. Таким образом, по данным литературы, при адекватных указанных ранее взаимодействиях в фолликулярную фазу овариального цикла супер-семейство FOX-белков обеспечивает механизмы для достаточной пролиферации эндометрия [86, 124, 151]. FOXA1 является обязательным звеном в этом каскаде, так как облегчает взаимодействие ER с необходимыми дискретными областями в геноме. В гормон-чувствительных тканях почти все взаимодействия ER и хроматина, следовательно, и изменения экспрессии генов зависят от экспрессии FOXA1.

В 2017 году была опубликована работа M. Dorostghoal и соавт., отражающая результаты изучения экспрессии и функции FOXA2 в пролиферативном и среднесекреторном эндометрии у здоровых женщин репродуктивного возраста (19-37 лет) [86, 96, 123]. Исследования биоптатов эндометрия позволили выявить различные биологические процессы, регулируемые генами FOXA2. В исследовании авторов FOXA2 представлен, как регулятор экспрессии генов, который в сочетании с другими факторами транскрипции может влиять на развитие и функционирование эндометрия в зависимости от фазы менструального цикла. При анализе выявлено, что потенциальные FOXA2-регулируемые гены, влияющие на рецептивность эндометрия, имплантацию бластоцисты, децидуализацию стромальных клеток, являются ключевыми факторами в успешном наступлении беременности.

В изученной литературе информация о FOXA1 чаще всего встречается, когда речь идет о генезе рака молочной железы. Данный фактор транскрипции играет ключевую роль в развитии и прогрессировании эстроген-зависимой опухоли указанной локализации [77, 80, 151]. Протеомный фактор из семейства FOX-белков необходим для оптимальной экспрессии более половины эстрогеновых рецепторов (ER), и он в значимом количестве определяется в клетках злокачественной опухоли молочной железы подтипа А и В (эстроген-зависимые варианты рака молочной железы). Результаты исследований показали, что FOXA1 мог бы стать полезным биомаркером для прогноза лечения у пациенток с эстроген-зависимым раком

молочной железы, однако данный протеомный фактор требует более детального исследования [77, 100].

Таким образом, белок FOXA1 «работает» на уровне взаимодействия комплекса «гормон+рецептор» с ДНК, то есть опосредует транскрипционную активность эстрогенов [21, 61, 116]. В изученной литературе описано достаточно большое количество протеомных факторов и механизмов их действия, однако ряд аспектов протеомного уровня рецептивности эндометрия остаются малоизученными. Так, например, нет данных по поводу ассоциаций LIF, FOXA1, FOXA2 и экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона [86, 124]. Учитывая, что адекватность этих механизмов необходима для полноценной трансформации эндометрия и для дальнейшей успешной имплантации бластоцисты, данный вопрос является актуальным для современной науки. Можно предположить, что неполноценное взаимодействие протеомных и гормональных факторов является предиктором возникновения репродуктивных дисфункций, поэтому данный вопрос требует дополнительного изучения.

1.3 Гипопластический эндометрий как причина репродуктивных неудач

У здоровых женщин репродуктивного возраста в течение менструального цикла эндометрий регулярно претерпевает циклическую трансформацию, которая проявляется в изменении его толщины и структуры [13, 40, 91]. Итогом данных изменений является подготовка эндометрия к возможному процессу имплантации плодного яйца. Оценить толщину эндометрия и соответствие данной величины фазе менструального цикла можно при ультразвуковом исследовании органов малого таза. При выполнении данного исследования измеряется параметр – М-эхо. Это изображение двух слоев эндометрия, которые относятся к противоположно расположенным стенкам матки в плоскости сканирования ультразвуковым датчиком. Таким образом, М-эхо определяется от границы слизистой матки с миометрием одной стенки матки до такой же границы другой стенки матки.

В разные дни менструального цикла наблюдаются различные значения М-эхо. Максимальные значения толщины эндометрия, как правило, наблюдаются в середине секреторной фазы, которая при 28-30-дневном менструальном цикле приходится на 19-23 дни [11, 57].

Пролиферативная фаза «эндометриального цикла» необходима для «роста» эндометрия. К 11-13 дню менструального цикла (при его длительности 28-30 дней) толщина нормального эндометрия должна быть не менее 7 мм, что определяется с помощью ультразвукового исследования органов малого таза. Стоит уточнить, что в различных литературных источниках могут быть представлены разные варианты нормальной толщины эндометрия. В некоторых источниках фигурирует значение нормальной толщины эндометрия к концу пролиферативной фазы менструального цикла 8 мм и более, а в других – 7 мм и более [15, 20, 54]. Более обобщенным будет считаться нормальное значение М-эхо 7 мм и более. «Тонким» или гипопластическим считается эндометрий, толщина которого в преовуляторные дни менее 7 мм при сонографическом сканировании. Это состояние можно отнести к категории дефекта эндометриального интерфейса, которое является актуальной проблемой современного акушерства и репродуктологии в целом [20, 52, 54], хотя

данных о частоте встречаемости «тонкого» эндометрия в специальной литературе не представлено.

Патогенез формирования гипопластического эндометрия при нормальных характеристиках гормональных факторов до сих пор мало изучен. Среди ряда протеомных факторов особенное внимание исследователей привлекает два белка, которые вероятно значимы для процессов пролиферации эндометрия, – это FOXA1 и специфический только для эндометрия FOXA2 [100, 108, 151].

Белок FOXA1, связываясь с определенным участком ядерной ДНК, запускает процесс деконденсации хроматина, что приводит соответствующие регулируемые гены в состояние, которое обеспечивает последующее взаимодействие эстрогенового ответного элемента (ERE) с комплексом «гормон+рецептор». В результате этих действий в дальнейшем происходит синтез специфических белков, реализующих эффекты эстрадиола в эндометрии и, как следствие, нормальную пролиферацию эндометрия [101, 116, 129].

В настоящее время представлены сведения о различных биологических процессах в эндометрии, в реализации которых участвует FOXA2. Данный протеомный маркер рассматривается как регулятор экспрессии генов, который в сочетании с другими факторами транскрипции может влиять на развитие и функционирование эндометрия в зависимости от фазы менструального цикла [108]. Выявлены потенциальные FOXA2-регулируемые гены, влияющие на рецептивность эндометрия, имплантацию бластоцисты и децидуализацию стромальных клеток. Данные гены являются ключевыми факторами в успешном наступлении беременности.

Таким образом, можно предположить, что при неадекватном количестве FOX-белков, эффекты эстрогенов в контексте пролиферации эндометрия будут реализованы недостаточно, даже при нормальном уровне данных половых гормонов в крови.

В литературе описана теория возникновения такого феномена, как неполноценная функция FOX-белков. В данной ситуации количество протеомных молекул нормальное, однако свою функцию они выполняют недостаточно [96,

122, 124]: нет нормальной деконденсации хроматина, и гормон ответный элемент ДНК остается в неактивном состоянии, а значит, не может связаться с комплексом «гормон+рецептор». В таком случае также будет наблюдаться формирование гипопластического эндометрия.

В литературе представлено очень незначительное число работ, где освещены проблемы гипопластического эндометрия, связанные именно с семейством FOX-белков. Основные работы по теме гипопластического эндометрия представлены в связи с изучением эндометриозной болезни, хронического эндометрита, а также в контексте применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [19, 27, 35, 67, 91].

В 2006 году В. Lessey, W. Palomino и соавт. провели исследование для изучения ассоциации экспрессии рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) с тонким эндометрием [116, 123]. В основную группу включили пациенток, у которых по данным сонографического сканирования толщина эндометрия была менее 7 мм, а в контрольной группе были пациентки с нормальной толщиной эндометрия. В обеих группах ER и PR определяли с помощью иммуногистохимического метода. Результаты данного исследования продемонстрировали, что экспрессия рецепторов эстрогенов была значительно снижена в стромальных клетках гипопластического эндометрия на протяжении всего менструального цикла. Было выяснено, что экспрессия ER в железистых клетках гипопластического эндометрия ниже, чем в биоптатах нормального эндометрия во время пролиферативной фазы менструального цикла. Однако, в обеих группах не наблюдали значимых различий в прогестероновых рецепторах, как в железистых клетках, так и в стромальных. Представленные данные немногочисленны; требуется дополнительное и более глубокое изучение данной проблемы [45, 122].

Достаточно часто в литературе встречается информация про измерение толщины эндометрия в циклах вспомогательных репродуктивных технологий. В исследованиях репродуктологов толщина эндометрия напрямую коррелирует с возможностью переноса эмбриона в полость матки и во многом определяет его

успешную имплантацию [27, 39, 72]. Пациентки, у которых перенос эмбриона происходит при недостаточной пролиферации эндометрия, имеют повышенный риск неудачи имплантации плодного яйца или потери беременности на раннем сроке. Специалисты в области репродуктологии считают, что минимальная толщина эндометрия, которая будет необходима для успешной имплантации перенесенного эмбриона, составляет 8 мм по данным УЗИ. Экстракорпоральное оплодотворение и перенос эмбрионов в полость матки являются одним из способов преодоления бесплодия. Несмотря на то, что происходит постоянное совершенствование данного метода, его эффективность не является оптимальной и достигает лишь 40%.

Необходимо отметить, что специалисты в области репродуктологии все циклы ВРТ делят на два основных типа [37, 67]. К первому типу можно отнести циклы, пролиферация эндометрия в которых обеспечивается эстрадиолом, продуцируемым растущими фолликулами во время контролируемой овариальной стимуляции в программах ВРТ. В этом случае в проведенном исследовании применялись препараты антиэстрогенов (кломифенцитрат), ингибиторов ароматазы (летрозол; данные показания не зарегистрированы в инструкции в РФ), а также рекомбинантные и мочевые препараты ФСГ в сочетании с агонистами и антагонистами люлиберина [72, 73].

Ко второму типу ВРТ относятся циклы, в которых рост эндометрия происходит под воздействием эстрадиола, поступающего в организм экзогенно, что является одним из вариантов применения заместительной гормональной терапии. К этому типу относится подготовка эндометрия в программе донации ооцитов, суррогатном материнстве и при циклах с размораживанием эмбрионов. В этом случае применяются препараты эстрадиола, которые могут быть доставлены в организм женщины различными путями: пероральным, вагинальным и трансдермальным [20, 112]. Однако стоит отметить, что в обоих случаях достижение адекватной пролиферации эндометрия является трудной задачей, что приводит к снижению эффективности протоколов ВРТ.

В 2015 году Н. Kim и др. провели исследование, в котором в качестве лечения гипопластического эндометрия использовали аутологичную плазму, обогащенную тромбоцитами (Platelet Rich Plasma, PRP) [85, 87, 111]. Такая обогащенная тромбоцитами плазма способствует высвобождению цитокинов и факторов роста, таких как трансформирующий фактор роста, сосудистый эндотелиальный фактор роста и эпидермальный фактор роста. PRP используют в терапевтических областях медицины с целью улучшения процессов регенерации тканей. Целью данного исследования было изучить результаты использования аутологичной плазмы для улучшения пролиферации эндометрия у женщин с гипопластическим эндометрием.

В исследовании были включены 5 женщин, которые находились в протоколе ВРТ, и толщина эндометрия которых была менее 7 мм. Им провели внутривенную инфузию аутологичной плазмы и через 10 дней назначили пероральный прием 12 мг эстрадиола валерата. Через 72 часа после первой внутривенной инфузии плазмы была проведена вторая инфузия, после чего у всех исследуемых женщин толщина эндометрия по данным УЗИ стала больше 7 мм. Такая подготовка эндометрия способствовала успешной имплантации перенесенных эмбрионов. Стоит отметить, что данные исследования не могут считаться завершенными и убедительными в области эффективного лечения женщин с гравидарными потерями в анамнезе при наличии «тонкого» эндометрия. Проведение дальнейших исследований в данной области является перспективным научным направлением [85, 87, 103].

В последние годы был предложен ряд подходов, которые были направлены на увеличение толщины эндометрия в случае наличия «тонкого» эндометрия. Первым из таких подходов следует считать назначение препаратов эстрадиола. S. Chen и соавт. (2006) [89] предложили использовать назначение препаратов эстрадиола и получили значимое увеличение толщины эндометрия с 6,7 до 8,6 мм по данным ультразвуковых исследований. В это же время исследователи из Турции (Dilbaz S., Cinar O. и соавт., 2006) изучали результаты назначения экзогенного эстрадиола у пациенток с гипопластическим эндометрием в программах ВРТ (ИКСИ). В исследовании были включены 117 женщин с тонким

эндометрием (менее 8 мм в данном исследовании). Пациентки были разделены на две группы: 57 пациенток получали 4 мг эстрадиола перорально, 60 вошли в контрольную группу без назначения экзогенного эстрадиола. Не было найдено статистически значимых различий в частоте наступления беременности, частоте имплантации и в частоте выкидышей [20, 95].

Группа российских ученых (Каменецкий Б.А., Корсак В.С. и соавт.) в 2001 году изучали влияние назначения препаратов эстрадиола у пациенток, которые участвовали в протоколах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Пациенткам назначали эстрадиола валерат в дозе 4 мг с 7-го дня менструального цикла. Было выяснено, что эстрадиола валерат значительно увеличивал как толщину эндометрия, так и частоту наступления беременности в протоколах ВРТ. В это время французские ученые (Ciarroni A. Pesce R. и соавт., 2001) предложили использовать не пероральный путь введения препаратов эстрадиола, а вагинальный [85, 155]. Было обнаружено, что при вагинальном применении эстрогенов наблюдается большее увеличение толщины эндометрия, чем при пероральном назначении этих препаратов. Однако, эти результаты требуют более длительного и глубокого изучения, так как данные проведенных исследований весьма противоречивы.

В доступной литературе отсутствуют данные по стимуляции роста эндометрия в циклах естественного зачатия. Описаны исследования, в которых изучали влияние препаратов эстрадиола на пролиферацию эндометрия в рамках программ ВРТ. Было выяснено, что для эндометрия с нормальной рецептивностью достаточно 3-5 дней назначения препаратов эстрадиола, чтобы вызвать его рост. Однако, при недостаточном эффекте, срок использования гормональной терапии может быть продлен до 14 дней и более. Доказано, что нет необходимости в назначении нарастающей дозы эстрадиола [155].

Основной вопрос, который волнует многих ученых, какова оптимальная доза экзогенных эстрогенов, чтобы пролиферация эндометрия была достаточной для успешного наступления беременности. В исследованиях, проведенных в 2000-х гг., использовали пероральный эстрадиола валерат в дозе от 4 мг (максимально – 12

мг), что приводило к росту эндометрия. Однако, при использовании перорального пути введения препаратов при первичном пассаже через печень, эстрадиол быстро переходит в эстрон, который обладает более низким сродством к рецепторам. Данный механизм объясняет необходимость назначения больших доз эстрогенов [155]. Был предложен альтернативный вариант применения препаратов эстрадиола – трансдермальный. При таком варианте поступления эстрогенов в кровь не происходит первичного метаболизма в печени, что обеспечивает устойчивый и более высокий уровень эстрадиола в крови. При использовании трансдермального пути введения эстрогенов наблюдали адекватный и лучший рост эндометрия по данным ультразвукового исследования органов малого таза по сравнению с пероральным применением эстрадиола [112, 155]. В зарубежных источниках описано, что еще большей биодоступностью, в плане коррекции толщины эндометрия, обладает эстрадиол с вагинальным путем введения гормона, однако в РФ таких препаратов не зарегистрировано [112, 144].

Лечение пациенток с наличием гипопластического эндометрия – это актуальная задача для врачей-акушеров-гинекологов. Не у всех пар есть показания для применения ВРТ (проходимые маточные трубы, нормальная спермограмма, т.д.). Ряд пациенток отказываются от ЭКО в силу различных этических, религиозных взглядов, из-за материальных проблем. Таким пациенткам возможно предпринять попытку «нарастить» эндометрий с использованием эстрадиола, что может значительно увеличить шансы на наступление беременности в циклах естественного зачатия.

Таким образом, гипопластический или «тонкий» эндометрий – это сложный и до конца неизученный феномен в современном акушерстве и гинекологии [20, 52, 60]. Общепринято, что нормальная пролиферация эндометрия является важным фактором полноценной фазовой трансформации эндометрия, что необходимо для успешного наступления и развития беременности. В доступной литературе отсутствует четкое описание механизмов формирования гипопластического эндометрия, а также до конца не изучено, как именно протеомные факторы (например, семейство FOX-белков и лейкемия-ингибирующий фактор)

взаимодействуют в гипопластическом эндометрии, и как конкретно они влияют на его рецептивность. В литературе не описаны оптимальные схемы лечения гипопластического эндометрия с применением препаратов эстрадиола, в том числе для улучшения шансов имплантации плодного яйца и развития беременности.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы исследования

Исследование проведено на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России: СПб ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции»; СПб ГБУЗ женская консультация №22; СПб ГБУЗ женская консультация №18; СПб ГБУЗ детская городская поликлиника №68, женская консультация №8; СПб ГБУЗ городская поликлиника №96, женская консультация №32.

Тип проведенного исследования – проспективное исследование по типу случай-контроль.

Первоначально было обследовано 178 женщин с репродуктивными дисфункциями неясного генеза в анамнезе, из которых 114 пациенток были включены в исследование. Всего в исследование были включены 130 женщин в возрасте от 20 до 40 лет. Участницы исследования были разделены на 3 группы: I (основная группа) (n=52) – женщины с репродуктивными дисфункциями в анамнезе с гипопластическим эндометрием (М-эхо менее 7 мм на 11-13 день менструального цикла по данным ультразвукового исследования при длительности менструального цикла 28-30 дней), II (группа сравнения) (n=62) – женщины с репродуктивными дисфункциями в анамнезе и нормальной толщиной эндометрия и III (контрольная группа) (n=16) – здоровые женщины без клинически значимых гинекологических и тяжелых соматических заболеваний.

Все участницы исследования подписывали добровольное информированное согласие, которое среди многих разъяснений содержало пункт о проведении малоинвазивного внутриматочного вмешательства (аспирационная биопсия эндометрия). Женщины с нарушениями репродуктивной функции были мотивированы на полноценное запланированное обследование. Однако планируемое инвазивное вмешательство в полость матки у здоровых фертильных женщин было барьером для набора контрольной группы, что отмечено и в других исследованиях [99, 104]. В начале многокомпонентного продолжительного исследования эндометрия у женщин с нарушениями репродуктивной функции

неясного генеза была сформирована контрольная группа из 16 здоровых женщин, согласившихся на внутриматочное вмешательство [40]. Из этических соображений мы не расширяли контрольную группу и использовали ранее полученные данные морфологических характеристик эндометрия у здоровых женщин без нарушений репродукции в анамнезе.

В основной группе из 52 женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе и гипопластическим эндометрием были 28 женщин с диагнозом «бесплодие неясного генеза» (первичное и вторичное бесплодие, за исключением мужского фактора бесплодия); 13 женщин с неудачами ЭКО в анамнезе; 11 женщин с привычным невынашиванием беременности.

В группе сравнения из 62 женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе и нормальной толщиной эндометрия были 29 женщин с диагнозом «бесплодие неясного генеза» (первичное и вторичное бесплодие, за исключением мужского фактора бесплодия); 13 участниц исследования имели в анамнезе неудачные попытки экстракорпорального оплодотворения, 20 женщин – привычное невынашивание беременности.

В группу контроля были включены здоровые фертильные женщины, проходившие обследование в связи с наличием диагноза «бесплодный брак» по причине мужского фактора бесплодия, женщины-добровольцы в возрасте от 20 до 40 лет, а также пациентки из архивной базы данных патологоанатомического отделения ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России.

Все участницы исследования соответствовали критериям включения и исключения.

Критерии включения в исследование пациенток в основную группу:

- возраст 20-40 лет;
- наличие в анамнезе репродуктивных неудач неясного генеза (бесплодие, неудачные попытки ЭКО, невынашивание беременности);
- гипопластический эндометрий по данным ультразвукового исследования (М-эхо менее 7 мм на 11-13 день менструального цикла при длительности цикла 28-30 дней);
- овуляторный менструальный цикл (уровень прогестерона в периферической крови 16,1 нмоль/л и более (на 6-8 день после овуляции) в соответствии с референсными значениями использованной тест-системы (Beckman Coulter, США));
- нормальный уровень гонадотропных гормонов, пролактина, эстрадиола, андрогенов в периферической крови, эутиреоз;
- наличие подписанного информированного согласия.

Критерии включения в исследование пациенток в группу сравнения:

- возраст 20-40 лет;
- наличие в анамнезе репродуктивных неудач неясного генеза (бесплодие, неудачные попытки ЭКО, невынашивание беременности);
- нормальная толщина эндометрия по данным ультразвукового исследования (М-эхо 7 мм и более на 11-13 день менструального цикла при длительности цикла 28-30 дней);
- овуляторный менструальный цикл (уровень прогестерона в периферической крови 16,1 нмоль/л и более (на 6-8 день после овуляции) в соответствии с референсными значениями использованной тест-системы (Beckman Coulter, США));
- нормальный уровень гонадотропных гормонов, пролактина, эстрадиола, андрогенов в периферической крови, эутиреоз;
- наличие подписанного информированного согласия.

Критерии включения пациенток в контрольную группу:

- возраст 20-40 лет;
- отсутствие репродуктивных дисфункций в анамнезе;
- наличие подписанного информированного согласия.

Критерии исключения для всех женщин:

- тяжелые соматические заболевания (сахарный диабет, артериальная гипертензия, тяжелые заболевания печени и почек, т.д.);
- органическая патология центральной нервной системы;
- системные аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка, ревматоидный артрит и др., кроме аутоиммунного тиреоидита при эутиреозе);
- злокачественные новообразования в анамнезе и в настоящее время;
- гормон-продуцирующие опухоли;
- ожирение (индекс массы тела (ИМТ) ≥ 30 кг/м²);
- наличие артериальных тромбозов и/или тромбозов глубоких вен, тромбозов легочной артерии в личном и семейном анамнезе (у родственников первой генерации в возрасте до 50 лет);
- выявленные генетические маркеры наследственных тромбофилий (мутации Лейдена, протромбиновая мутация, дефицит протеинов С и S, антитромбина);
- хронический эндометрит по данным морфологического исследований биоптатов эндометрия;
- аномалии развития полового аппарата;
- эндометриоз;
- миома матки (миоматозные узлы более 30 мм в диаметре, субмукозная форма миомы матки);
- аменорея (II функциональная группа по ВОЗ);

- прием эстроген- и гестагенсодержащих препаратов менее, чем за 3 месяца до включения в исследование;
- инфекционно-воспалительный процесс уrogenитального тракта в период предполагаемого инвазивного внутриматочного вмешательства.

Проведение работы одобрено Локальным Этическим Комитетом ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России (выписка из протокола №8 от 11.11.2020).

2.2 Методы исследования

Для решения поставленных задач в работе были использованы следующие методы: клинико-anamnestический, бактериологический (микроскопический, молекулярно-генетический (полимеразная цепная реакция, ПЦР), культуральный), ультразвуковой, лабораторные (иммуноферментный и хемилюминесцентный методы исследования уровней гормонов в периферической венозной крови), морфологический (гистологическое исследование биоптатов эндометрия, определение экспрессии белков семейства FOX, LIF, ER и PR иммуногистохимическим методом), статистические методы.

2.2.1 Клинико-anamnestический метод исследования

Для сбора данных анамнеза была разработана специальная карта-анкета, состоящая из 5 разделов (303 вопроса). Первый блок анкеты состоял из 30 вопросов и включал общие сведения об участнице исследования и психосоциальные характеристики пациентки: образование, трудовая деятельность, семейные и рабочие взаимоотношения, удовлетворенность жилищными условиями, наличие/отсутствие профессиональных вредностей, вредные привычки и др.

Второй блок анкеты включал вопросы, касающиеся наследственности пациентки и анамнеза матери пациентки: особенности менструальной и репродуктивной функции, перенесенные гинекологические заболевания.

Третий блок анкеты содержал 66 вопросов, которые освещали акушерско-гинекологический анамнез самой пациентки: особенности менструальной и репродуктивной функции, перенесенные гинекологические заболевания, оперативные вмешательства на органах малого таза, применение гормональной контрацепции.

В четвертом блоке анкеты были вопросы о соматическом анамнезе пациентки: перенесенные заболевания (центральной нервной системы, сердечно-сосудистой, мочевыделительной систем, желудочно-кишечного тракта, щитовидной железы и молочных желез), текущие сопутствующие заболевания, перенесенные детские инфекции; травмы, операции в анамнезе.

Пятый блок анкеты был посвящён объективным данным пациентки. При общем осмотре измеряли артериальное давление, оценивали частоту пульса и его характеристики, частоту дыхательных движений. Оценивали кожу и характер оволосения, проводили осмотр и пальпацию молочных желез. Пациентке измеряли массу тела и рост, окружность талии и бедер. Вычисляли индекс массы тела (ИМТ) ($\text{ИМТ} = \text{Масса тела (кг)} / \text{Рост}^2 (\text{м}^2)$) и отношение окружности талии к окружности бедер. Проводили гинекологический осмотр, который включал оценку наружных половых органов, слизистой оболочки влагалища и влагалищной порции шейки матки в зеркалах, бимануальное влагалищное исследование.

2.2.2 Ультразвуковой метод исследования

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза участницам исследования проводили на 11-13 день менструального цикла (при его длительности 28-30 дней). Оценивали минимум два менструальных цикла у каждой женщины подряд. Обязательно проводили УЗИ органов малого таза в том менструальном цикле, в котором выполняли аспирационную биопсию эндометрия. При необходимости, для более точной оценки овуляторного/ановуляторного менструального цикла, проводили УЗИ органов малого таза на 6-8 день после овуляции. Для данного исследования использовали ультразвуковую диагностическую систему «Mindray DC-55» (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Китай); трансабдоминальное ультразвуковое исследование проводили при помощи конвексного датчика (2-5 МГц), трансвагинальное ультразвуковое исследование – при помощи внутривлагалищного датчика (4-9 МГц). Данный вид обследования выполняли на базе СПб ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции».

При УЗ-исследовании оценивали форму, положение и размеры матки, наличие/отсутствие диффузных и очаговых изменений миометрия. Оценивали толщину эндометрия (М-эхо) и соответствие данной величины фазе менструального цикла. М-эхо измеряли от границы слизистой матки с миометрием одной стенки матки до такой же границы другой стенки матки.

При УЗИ яичников определяли их расположение, размеры, объем; оценивали фолликулярный аппарат яичников, наличие и размер доминантного фолликула и/или желтого тела в яичниках.

Также оценивали экоструктуру шейки матки, наличие/отсутствие патологических образований в полости малого таза.

2.2.3 Определение уровней гормонов в периферической крови

Для определения уровней гормонов в периферической крови использовали иммуноферментный (ИФА) и хемилюминесцентный методы анализа образцов венозной крови. Забор материала для исследования выполняли из срединной локтевой вены с помощью вакуумной системы в пробирки с активатором формирования сгустка.

Определение концентрации фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ) в периферической крови выполняли на 2-3 д.м.ц. Уровни дегидроэпиандростерона-сульфата (ДГЭА-С), 17-гидроксипрогестерона (17-ОНР), андростендиона, общего тестостерона и свободного тестостерона оценивали на 3-5 д.м.ц. Концентрацию пролактина, тиреотропного гормона (ТТГ) и свободной фракции тироксина определяли независимо от д.м.ц. Кровь для оценки уровней эстрадиола получали дважды: на 11-13 д.м.ц. (в день выполнения УЗ-исследования органов малого таза) и на 6-8 день после овуляции (в день выполнения аспирационной биопсии эндометрия). Уровень прогестерона определяли в день проведения биопсии эндометрия (на 6-8 день после овуляции).

Содержание в крови ФСГ, ЛГ, свободного тестостерона, ДГЭА-С, 17-ОНР, пролактина, ТТГ и свободной фракции тироксина определяли при помощи тест-систем компании «АлкорБио» (Россия); андростендиона и свободного тестостерона – с использованием тест-систем фирмы-производителя «DRG Diagnostics» (Германия). Для оценки уровней половых стероидов (эстрадиола и прогестерона) в крови применяли анализатор «Beckman Coulter» (США).

Для определения пролактина, ФСГ и ЛГ применяли «сэндвич»-вариант твердофазного ИФА, использовали два моноклональных антитела с различной

эпитопной специфичностью к определяемому гормону. Одно из этих антител иммобилизовалось на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок планшета), второе конъюгировалось с пероксидазой хрена (конъюгат). Процедура исследования проводилась с использованием автоматического анализатора «Alisei» (Италия).

Для определения ДГЭА-С, прогестерона и 17-ОНР использовали вариант конкурентного твердофазного ИФА. При такой методике используется два антигена, один из которых – определяемый гормон, а второй конъюгирует с пероксидазой хрена (конъюгат). Антигены конкурируют между собой за связывание с антителами, иммобилизованными на твердой фазе. Процедуру исследования проводят с использованием автоматического анализатора «Alisei» (Италия).

Определение эстрадиола и свободного тестостерона проводили вручную с применением варианта конкурентного твердофазного ИФА.

Гормональное обследование пациенток, включенных в исследование, проводили в эндокринной лаборатории ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» (в период проведения диссертационного исследования – заведующая лабораторией к.б.н. Ткаченко Н.Н.).

2.2.4 Бактериологический метод исследования

Материал из урогенитального тракта участниц оценивали при помощи микробиологических методов.

Метод микроскопии. Забор материала для исследования на микробиоценоз выполняли при помощи пластиковой ложки Фолькмана из цервикального канала, заднего свода влагалища и уретры. Мазок наносили на предметное стекло, затем окрашивали по Граму и оценивали под микроскопом при стандартном увеличении. Были определены количество, морфологические и тинкториальные характеристики эпителиальных клеток, количество лейкоцитов, наличие/отсутствие фагоцитоза, морфотипы микроорганизмов, и проведена относительная количественная оценка общего числа микроорганизмов в исследуемом препарате.

Культуральный метод. Материал для микробиологического исследования получали с помощью использования стерильного ватного тампона из цервикального канала, который затем погружали в стерильную пробирку со стандартной транспортной средой. Универсальные питательные среды засеивали полученным материалом. По результатам культивирования оценивали видовой и количественный состав микрофлоры, а также ее чувствительность к антибактериальным препаратам.

Молекулярно-биологический метод. Исследование соскоба эпителия из цервикального канала проводили при помощи ПЦР. Определяли наличие/отсутствие ДНК нормальной, патогенной и условно- патогенной флоры. У ряда пациенток была использована методика «Фемофлор-16» (ДНК-Технология, Россия) для оценки биоценоза урогенитального тракта.

Бактериологическое обследование женщин проводили в лаборатории микробиологии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» (заведующая лабораторией д.м.н., профессор Савичева А.М.).

2.2.5 Морфологический метод исследования эндометрия

2.2.5.1 Гистологическое исследование эндометрия

Получение образцов эндометрия выполняли на 6-8 день после овуляции (при средней длительности менструального цикла 28-30 дней) аспирационным методом. В течение всего менструального цикла, в котором проводили аспирационную биопсию материала из полости матки, пациентки использовали барьерный метод контрацепции. Обязательным условием для проведения биопсии эндометрия являлся нормобиоценоз урогенитального тракта.

В асептических условиях шейку матки обнажали в зеркалах Куско и фиксировали пулевыми щипцами. С помощью маточного зонда, введенного в матку, измеряли длину полости матки и цервикального канала. Аспирационную биопсию эндометрия производили с использованием урогенитального зонда типа Pipelle («Jiangsu Suyun Medical Materials Co. Ltd.», Китай). Полученный материал

помещали в контейнер, наполненный 10% нейтральным забуферным раствором формалина.

Дальнейшую обработку фрагментов эндометрия проводили с помощью гистопроцессора Leica ASP200 (Германия) через серию изопропанолового спирта с последующим формированием парафиновых блоков. Для гистологического и иммуногистохимического исследований с парафиновых блоков выполняли срезы толщиной 3-5 мкм при помощи микротомы Microm HM340E (Thermo Scientific, США). Для проведения гистологического исследования срезы с парафиновых блоков окрашивали гематоксилином и эозином и заключали в бальзам под покровное стекло.

Исходно морфологическое исследование биоптатов эндометрия было проведено у 178 женщин, которые соответствовали критериям включения и имели нарушения репродуктивной функции неясного генеза в анамнезе. После первичной оценки образцов эндометрия у 64 женщин были выявлены признаки хронического эндометрита: наличие плазматических клеток (CD138), фиброза стромы, склероза спиральных артерий, воспалительных инфильтратов в виде «лимфоидных фолликулов», располагающихся в базальном слое эндометрия и во всех отделах функционального слоя слизистой оболочки матки; диагноз «хронический эндометрит» был поставлен на основании общепринятых критериев – сочетания минимум трех из четырех перечисленных признаков при обязательном наличии плазматических клеток (CD138). Данные 64 пациентки не были включены в исследование.

У остальных 114 пациенток (I группа – 52 женщины; II группа – 62 пациентки) по результатам гистологического и иммуногистохимического исследований в образцах эндометрия не было выявлено признаков хронического эндометрита. В некоторых случаях у этих женщин по результатам морфологического исследования биоптатов слизистой тела матки встречалась такая изолированная гистологическая характеристика, как фиброз стромы, однако данные изменения были рассмотрены как возникшие после выскабливаний полости матки. В ряде случаев у обследованных 114 пациенток (11%, n=13) в

образцах эндометрия были выявлены CD138 в значении 0-1 без других признаков хронического эндометрита, что по существующим критериям не является достаточным для верификации диагноза «хронический эндометрит».

В итоге 114 пациенток, не имевших гистологических и иммуногистохимических критериев диагноза «хронический эндометрит», были включены в наше исследование в основную группу или группу сравнения в зависимости от толщины эндометрия в перивуляторные дни.

2.2.5.2 Иммуногистохимическое исследование экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии

Иммуногистохимическое исследование образцов слизистой оболочки тела матки для оценки экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона в железах и в строме выполняли полимерным EnVision-методом с помощью системы визуализации («DakoCytomation», Дания) на парафиновых срезах. Для окрашивания иммуногистохимическим методом срезы с парафиновых блоков наносили на стекла с адгезивным покрытием HistoBond (Германия). Далее эндометриальные срезы были депарафинизированы и дегидратированы при помощи авидин-биотинового иммунопероксидазного метода. Для температурной демаскировки использовали цитратный буфер (pH=6,0). Блокада эндогенной пероксидазы проводилась в 3% растворе перекиси водорода. Промывание срезов выполняли с использованием трис-ЭДТА буфера (pH 9,0) («DakoCytomation», Дания).

Окрашивание срезов с парафиновых блоков по иммуногистохимической методике проводили с помощью антител: моноклональных мышинных антител к рецепторам эстрогенов (clone 1D5, RTU, DakoCytomation, Дания), моноклональных антител к рецепторам прогестерона (clonePgR 636, RTU, DakoCytomation, Дания).

Результат реакции считался положительным при визуализации коричневого окрашивания ядер в клетках стромы и железах эндометрия на исследуемом срезе. Для визуализации результата окрашивания использовали микроскоп «Leica DM200»; оценку полученных данных проводили полуколичественным способом.

Применяли систему H-score (Histochemical Score) для рецепторов эстрогенов и прогестерона в железах и строме эндометрия. Подсчитывали процент положительно окрашенных клеток – от 0 до 100%, также принимали во внимание интенсивность окраски: 0 – нет окрашивания; 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное окрашивание, 3 – сильное окрашивание. Результат окрашивания оценивали по формуле: $H\text{-score} = 1 \times (\% \text{ клеток со слабо окрашенными ядрами}) + 2 \times (\% \text{ клеток с умеренно окрашенными ядрами}) + 3 \times (\% \text{ клеток с сильно окрашенными ядрами})$; значения H-score экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов были в диапазоне от 0 до 300.

Гистологическое исследование эндометрия и определение количества рецепторов эстрогенов и прогестерона в железах и строме слизистой тела матки иммуногистохимическим методом проводили в патоморфологическом отделении ФГБУ «Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России (в период проведения диссертационного исследования – заведующая отделением к.м.н. Эллиниди В.Н.).

2.2.5.3 Иммуногистохимическое исследование экспрессии протеомных маркеров (лейкемия ингибирующего фактора, FOX-белков в эндометрии)

Готовые микропрепараты биоптатов эндометрия, окрашенные гематоксилином и эозином, были отсканированы с помощью сканера гистологических препаратов Pannoramic 250 (3D Hitech, Венгрия). С помощью программного обеспечения Case Viewer (3D Hitech, Венгрия) полученные цифровые изображения были визуально проанализированы и размечены для определения наилучшего места для последующего получения «столбика» ткани из соответствующего парафинового блока с целью формирования ТМА-матрицы (мультиблока). В каждом гистологическом срезе определены два оптимальных участка. При помощи установки ТМА Grand Master (3D Hitech, Венгрия) изготовлены ТМА-матрицы (мультиблоки). Каждый сформированный мультиблок содержал «столбцы» ткани, по 2 мм диаметром каждый. Далее с готовых мультиблоков выполнены срезы толщиной 3-4 мкм при помощи микротомы Microm

HM 340E (Thermo scientific, США); полученные срезы монтировались на заряженные предметные стекла, которые окрашивались гематоксилином и эозином с использованием автоматического гистостейнера Leica ST5020 по стандартной программе. Иммуногистохимическая окраска полученных срезов производилась в автоматизированной системе Ventana BenchMark ULTRA (Ventana, США), использовались следующие антитела для каждой из ТМА-матриц:

- Моноклональное Anti-FOXA1
- Моноклональное Anti-FOXA2
- Поликлональное Anti-LIF

Окрашенные гематоксилин-эозином препараты для иммуногистохимического исследования были отсканированы с помощью сканера гистологических препаратов Panoramic 1000 (3D Histech, Венгрия), полученные цифровые изображения ТМА-матриц оценивали помощью программного обеспечения Case Viewer 3D (Histech, Венгрия) используя визуально-количественную шкалу.

Экспрессию белковых молекул оценивали полуколичественным методом: 0 – отсутствие окрашивания, 1 – слабое окрашивание, 2 – выраженное окрашивание. При оценке результатов иммуногистохимического исследования экспрессии протеомных молекул принимали во внимание следующие критерии: распространенность окрашивания (очаговое, диффузное), локализацию окрашивания в клетке (цитоплазма, мембрана, ядра), окрашивание различных компонентов эндометрия (люминальный эпителий, железистый эпителий, строма). В конечном итоге, экспрессию протеомных молекул определяли как сниженную (слабое окрашивание или его отсутствие) или выраженную (выраженное окрашивание).

Иммуногистохимическое окрашивание и оценку экспрессии белковых маркеров рецептивности эндометрия (LIF, FOXA1, FOXA2) проводили в патологоанатомическом отделении ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения России (заведующая отделением к.м.н. Артемьева А.С.).

2.2.6 Статистический метод исследования

Статистическую обработку данных, которые были получены в ходе исследования, проводили с использованием стандартных пакетов программ прикладного статистического анализа «Statistica portable v.13.5» (TIBCO Software Inc., США), «Microsoft Excel 2010» (США) IBM SPSS 23 (США).

Были использованы методы описательной статистики: для количественных показателей определяли среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m); качественные значения представляли в виде процентных соотношений. Был использован многофакторный статистический метод обработки данных: оценка достоверности различий между исследуемыми группами проводилась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни; для качественных показателей применялся критерий Хи-квадрат; для оценки взаимосвязей между показателями применялся критерий ранговой корреляции r -Спирмена, а также был использован линейный дискриминантный анализ по Фишеру. Статистическая обработка данных была проведена при курировании сотрудником кафедры педагогики, философии и права ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова – к.б.н. доцентом Клиценко О.А.

Различия определяли статистически значимыми при $p < 0,05$ – 95% уровень значимости.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клинико-анамнестические характеристики и результаты общего обследования женщин, включенных в исследование

В исследовании были сформированы три группы женщин в соответствии с критериями включения/исключения на основании данных анамнеза и значения толщины М-эхо по данным ультразвукового исследования в преовуляторный период (на 11-13 день менструального цикла при его длительности 28-30 дней).

В основную группу (I) исследования вошли женщины (n=52) с толщиной эндометрия <7 мм и различными вариантами репродуктивных дисфункций в анамнезе неясного генеза (бесплодие (n=41) или невынашивание беременности (n=11)).

В группу сравнения (II) были включены женщины (n=62) с величиной М-эхо по данным УЗ-исследования ≥ 7 мм и такими же различными вариантами нарушений репродуктивной функции (бесплодие (n=42); невынашивание беременности (n=20)), как у женщин основной группы.

Группу контроля (III) составили 16 здоровых фертильных женщин без гинекологической патологии и без тяжелых соматических заболеваний, которые дали добровольное согласие на включение в исследование.

Во всех группах средний возраст женщин не имел достоверных различий ($p > 0,05$). Средний возраст участниц основной группы был $32,5 \pm 0,6$ (от 23 до 40 лет включительно), в группе сравнения этот показатель составил $33,1 \pm 0,6$ (от 24 до 40 лет включительно), в группе контроля – $32,5 \pm 0,6$ (от 25 до 40 лет включительно).

Мы сравнили антропометрические данные участниц всех групп (таблица 1), чтобы выяснить, являются ли эти показатели предрасполагающими для возникновения репродуктивных дисфункций у пациенток основной группы и группы сравнения.

Таблица 1 – Антропометрические показатели женщин, включенных в исследование

Показатели \ Группы	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52)	Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм) (n=62)	Группа контроля (М-эхо ≥7 мм) (n=16)
Масса тела, кг	60,2±1,2	61,4±1,2	58,6±2,3
Рост, см	164,5±0,8	166,4±0,9	164,0±0,2
ИМТ, кг/м ²	21,5±0,4	22,1±0,4	21,2±0,7
Окружность талии (ОТ), см	70,2±1,3	70,6±1,3	71,5±1,8
Окружность бедер (ОБ), см	94,7±1,1	96,1±0,9	96,1±0,5
ОТ/ОБ	0,74±0,01	0,73±0,01	0,7±0,01

*для всех сравнений показателей $p > 0,05$

У всех женщин контрольной группы (n=16) индекс массы тела (ИМТ) находился в пределах нормальных значений (18,5-24,9 кг/м²). В основной группе ИМТ, соответствующий нормальным значениям, имели 87% (n=45) пациенток, в группе сравнения – 85% (n=53) пациенток. Избыточную массу тела (ИМТ от 25 до 30 кг/м²) имели 10% (n=5) женщин в основной группе и 10% (n=6) в группе сравнения. Дефицит массы тела (ИМТ менее 18,5 кг/м²) отмечали у 4% (n=2) женщин в основной группе и у 5% (n=3) в группе сравнения. Достоверных различий при сравнительном анализе физических показателей участниц трех групп не было ($p > 0,05$) (таблица 1).

С целью определения психосоциальных факторов, способствующих нарушениям репродуктивной функции у женщин основной группы и группы сравнения, был проведен сравнительный анализ уровня образования, условий профессиональной деятельности и отношений на рабочем месте, семейного положения, социально-бытовых условий, вредных привычек, характера семейных взаимоотношений. Сравнительный анализ проводился у участниц всех групп.

Вредные привычки, в частности курение в прошлом, отметили 25% (n=13) респонденток основной группы, 24% женщин (n=15) группы сравнения и 31% (n=5) женщин контрольной группы. В каждой из трех групп (основная, группа сравнения

и контрольная группа) были участницы, которые продолжали курить сигареты на момент начала исследования – 12% женщин (n=6), 21% участниц (n=13) и 19% женщин (n=3) соответственно.

Официально зарегистрированные отношения имели 83% участниц (n=43) основной группы, остальные 17% женщин (n=9) на момент исследования проживали в гражданском браке. В группе сравнения брак был официально зарегистрирован у 87% женщин (n=54), в гражданском браке проживали 11% участниц (n=7), в разводе на момент исследования было 2% (n=1) из всех женщин. В группе контроля 75% участниц (n=12) официально были замужем, а 25% женщин (n=4) имели гражданский брак на момент включения в исследование.

85% женщин (n=44) первой группы, 71% участниц (n=44) во второй группе и 100% женщин (n=16) третьей группы отметили, что сексуальная жизнь с партнером их полностью удовлетворяет. Одна женщина из основной группы отметила, что на момент участия в исследовании не живет половой жизнью.

У 98% участниц (n=51) в основной группе и 95% женщин (n=59) в группе сравнения были отмечены доброжелательные отношения в семье. Остальные респондентки (2% (n=1) и 5% (n=3) соответственно) сообщили о нейтральных отношениях в своей семье. В группе контроля все 100% женщин (n=16) отметили доброжелательные семейные отношения.

Три четверти женщин имели высшее образование – 71% женщин (n=37) в основной группе, 77% женщин (n=48) в группе сравнения и 75% участниц (n=12) в группе контроля. Со средним специальным образованием в группах были 29% (n=15), 23% (n=14) и 25% (n=4) женщин, соответственно.

Большинство участниц исследования всех групп работали по специальности – 62% (n=32), 61% (n=38) и 69% (n=11) женщин, соответственно. На момент включения в исследование до 15% респонденток в каждой группе не имели постоянного места работы – в основной группе 12% участниц (n=6), в группе сравнения 11% женщин (n=7) и в группе контроля 13% женщин (n=2).

Была проведена оценка особенностей профессиональной деятельности участниц исследования. Постоянную работу с компьютером имели 50% женщин

(n=26) в основной группе, 58% женщин (n=36) в группе сравнения и 100% женщин (n=16) контрольной группы. В основной группе и группе сравнения у 10% (n=5) и у 6% (n=4) женщин соответственно труд был связан с химическими вредностями на производстве, у 4% (n=2) и у 2% (n=1) женщин – с физическими вредными факторами (шум, вибрация, др.). В ряде случаев работа участниц исследования была связана с физическим и эмоциональным напряжением: у 27% (n=14), у 6% (n=4), у 6% (n=1) и у 52% (n=27), у 66% (n=41), у 56% (n=9) женщин соответственно в основной группе, группе сравнения и контрольной группе. Существенные умственные нагрузки в профессиональной деятельности отмечали 67% респонденток (n=35) первой группы, 74% участниц (n=46) второй группы и 81% женщин (n=13) третьей группы. Трудовая деятельность с ненормированным рабочим графиком была отмечена примерно у каждой 3-4-й женщины в группах (29% (n=15), 29% (n=18) и 25% (n=4) соответственно). Работа с риском для жизни была отмечена у одной женщины в группе сравнения.

Не было выявлено достоверных различий ($p>0,05$) в проанализированных показателях у женщин с репродуктивными нарушениями в анамнезе и без таковых. Вероятно, данные психосоциальные факторы у женщин основной группы и группы сравнения не являются предикторами нарушений у них репродуктивной функции.

Показатели, характеризующие менструальную функцию, были сходны у женщин всех групп ($p>0,05$) (таблица 2).

Таблица 2 – Характеристики менструальной функции женщин, включенных в исследование

Показатели \ Группы	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52)	Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм) (n=62)	Группа контроля (М-эхо ≥7 мм) (n=16)
Менархе, лет	12,6±0,2	12,8±0,1	12,9±0,7
Длительность менструации, дней	4,3±0,3	5,1±0,2	5,7±0,2
Длительность м.ц., дней	29,1±0,6	28,5±0,8	28,7±0,9

*для всех сравнений показателей $p > 0,05$

Средний возраст менархе во всех группах соответствовал среднепопуляционному и не имел достоверных различий ($p > 0,05$): в основной группе – 12,6±0,2 лет (от 10 до 16 лет), в группе сравнения – 12,8±0,1 лет (от 11 до 15 лет), в контрольной группе – 12,9±0,7 (от 11 до 15 лет).

Все участницы, включенные в исследование, имели регулярный менструальный цикл, но у женщин обеих групп с репродуктивными дисфункциями в анамнезе в течение последнего года до участия в исследовании отмечались периоды нарушения менструального цикла: по типу пройоменореи – у 6% женщин (n=3) и у 11% женщин (n=7) соответственно; по типу олигоменореи – у 27% участниц (n=14) основной группы и у 27% участниц (n=17) группы сравнения.

Возраст начала половой жизни был сопоставим у всех женщин без достоверных различий: 17,5±0,3 в I группе, 18,2±0,4 во II группе и 18,4±0,5 в III группе ($p > 0,05$).

При оценке семейного анамнеза у женщин, включенных в исследование, были отмечены нарушения менструальной функции у матерей участниц основной группы в 15% случаев (n=8), в группе сравнения в 5% случаев (n=3) и в контрольной группе в 6% случаев (n=1). Миома матки встречалась у 15% матерей (n=8) женщин первой группы, у 21% матерей (n=13) женщин второй группы и у 19% матерей (n=3) участниц третьей группы. Невынашивание беременностей в анамнезе у своих матерей отметили 12% женщин (n=6) основной группы, 10% женщин (n=6) в группе сравнения и 6% женщин (n=1) в контрольной группе.

Достоверных различий в характеристиках семейного анамнеза у женщин всех групп выявлено не было ($p > 0,05$). Таким образом, особенности семейного анамнеза не были значимыми предрасполагающими факторами для нарушений фертильности у женщин основной группы и группы сравнения, включенных в исследование.

Чуть больше половины женщин в каждой группе имели в анамнезе беременности: в основной группе 63% женщин ($n=33$), в группе сравнения 56% женщин ($n=35$) и в контрольной группе 50% участниц ($n=8$). Роды в анамнезе были у 27% участниц ($n=14$) основной группы (из них у 86% ($n=12$ из 14) – в срок), у 15% женщин ($n=9$) в группе сравнения (из них у 78% участниц ($n=7$ из 9) – в срок) и у 50% участниц ($n=8$) (все роды в срок) в контрольной группе. У одной участницы из основной группы при беременности была антенатальная гибель плода при доношенном сроке беременности. У двух женщин в основной группе произошли преждевременные роды: у одной участницы в 34 недели беременности (на момент включения в исследование ребенок здоров); у второй участницы преждевременные роды случились в 28 недель беременности (ребенок умер). В группе сравнения преждевременные роды были у двух женщин: в сроке 32 недели беременности у одной пациентки и 25 недель у второй пациентки (оба ребенка умерли). Сравнительные данные акушерско-гинекологического анамнеза представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Данные акушерско-гинекологического анамнеза женщин, включенных в исследование

Группы / Показатели	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52) n (%)	Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм) (n=62) n (%)	Группа контроля (М-эхо ≥7 мм) (n=16) n (%)	p
Беременности	33 (63)	35 (56)	8 (50)	p ₁₋₂ =0,5 p ₁₋₃ =0,3 p ₂₋₃ =0,7
Роды (всего)	14 (28)	9 (15)	8 (50)	p ₁₋₂ =0,07 p ₁₋₃ =0,1 p ₂₋₃ =0,002
Преждевременные роды (из всех родов)	2 (4)	2 (3)	0 (0)	p ₁₋₂ =0,8 p ₁₋₃ =0,4 p ₂₋₃ =0,5
Искусственные аборты	8 (15)	17 (27)	0 (0)	p ₁₋₂ =0,1 p ₁₋₃ =0,09 p ₂₋₃ =0,02
Неразвивающиеся беременности	16 (30)	13 (21)	0 (0)	p ₁₋₂ =0,6 p ₁₋₃ =0,03 p ₂₋₃ =0,04
Самопроизвольные выкидыши раннего срока	15 (29)	10 (16)	0 (0)	p ₁₋₂ =0,1 p ₁₋₃ =0,01 p ₂₋₃ =0,09
Эктопические беременности	5 (10)	12 (19)	0 (0)	p ₁₋₂ =0,2 p ₁₋₃ =0,2 p ₂₋₃ =0,06

В основной группе 15% женщин (n=8) имели в анамнезе искусственные аборты, проведенные путем выскабливания полости матки. Среди этой когорты женщин у половины в анамнезе был один искусственный аборт, у оставшейся половины – два и более искусственных прерываний беременности. В группе сравнения искусственный аборт в анамнезе имели 27% участниц (n=17), из которых у 76% женщин (n=13) было по одному выскабливанию полости матки, а у 24% женщин (n=4) было более трех искусственных абортов в анамнезе.

В основной группе и группе сравнения среди диагнозов, касающихся женской репродуктивной функции, основную долю занимало бесплодие: первичное бесплодие в основной группе было у 37% женщин (n=19), а у женщин в группе сравнения – у 39% (n=24), вторичное бесплодие было у 42% женщин (n=22)

и у 29% женщин (n=18) соответственно ($p>0,05$). В основной группе 11 респонденток использовали ранее попытки преодоления бесплодия путем вспомогательных репродуктивных технологий, которые у одной участницы закончились родами, у 4 пациенток была неразвивающаяся беременность, у двух участниц попытка ЭКО закончилась эктопической беременностью, у 5 женщин попытки ЭКО завершились неудачей имплантации бластоцисты. В группе сравнения попытки ЭКО в анамнезе были у 44% участниц исследования (n=27), из которых у 26 женщин данная процедура завершилась неудачей имплантации плодного яйца, а у одной пациентки – эктопической (трубной) беременностью.

Клинически незначимая миома матки (интрамуральные и/или интрамурально-субсерозные миоматозные узлы диаметром до 30 мм) была диагностирована у 13% женщин (n=7) в основной группе и у 10% участниц (n=6) из группы сравнения. Диагноз «хронический сальпингоофорит вне обострения» в анамнезе имели 17% женщин (n=9) в основной группе и 13% участниц (n=8) из группы сравнения. В основной группе вагинит в анамнезе был диагностирован у 17% женщин (n=9). В группе сравнения наличие данного заболевания в анамнезе указали 24% женщин (n=15). Не было существенных различий в структуре гинекологических заболеваний у женщин основной группы и группы сравнения ($p>0,05$). Женщины из группы контроля не имели никаких гинекологических заболеваний в анамнезе.

Гинекологические хирургические операции в области малого таза в прошлом имели 67% женщин (n=35) основной группы и 76% женщин (n=47) из группы сравнения (таблица 4). Внутриматочные операции (выскабливание полости матки) в анамнезе имели 40% женщин (n=21) в основной группе и 47% участниц (n=29) в группе сравнения. Из женщин, имевших выскабливания полости матки в анамнезе, почти половина (52% (n=11 из 21)) участниц основной группы и 45% (n=13 из 29) пациенток в группе сравнения имели два и более внутриматочных вмешательств в анамнезе. Практически половина женщин в основной группе и группе сравнения перенесли ранее диагностическую или лечебную лапароскопию – 44% женщин (n=23) и 45% женщин (n=28) соответственно. Односторонняя тубэктомия была

выполнена у 10% женщин (n=5) основной группы и у 13% участниц (n=8) из группы сравнения. Двустороннюю тубэктомию в анамнезе имели 12% участниц (n=6) первой группы и 13% женщин (n=8) во второй группе (таблица 4). У пациенток из группы контроля не было в анамнезе хирургических операций на органах женской репродуктивной системы (таблица 4). У пациенток основной группы и группы сравнения не было выявлено достоверных различий по указанным данным ($p > 0,05$ для всех сравнений) (таблица 4).

Таблица 4 – Хирургические операции на органах малого таза у женщин, включенных в исследование

Группы	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52) n (%)	Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм) (n=62) n (%)	Группа контроля (М-эхо ≥7 мм) (n=16) n (%)	p
Оперативные вмешательства в анамнезе				
Выскабливание полости матки (всего)	21 (40)	29 (47)	0 (0)	$p_{1-2}=0,4$ $p_{1-3}=0,002$ $p_{2-3}=5*10^{-4}$
Два и более выскабливаний полости матки	11 (21)	13 (21)	0 (0)	$p_{1-2}=0,9$ $p_{1-3}=0,04$ $p_{2-3}=0,04$
Гистероскопия	23 (44)	21 (34)	0 (0)	$p_{1-2}=0,3$ $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,006$
Лапароскопия	23 (44)	28 (45)	0 (0)	$p_{1-2}=0,9$ $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=8*10^{-4}$
Односторонняя тубэктомия	5 (10)	8 (13)	0 (0)	$p_{1-2}=0,6$ $p_{1-3}=0,2$ $p_{2-3}=0,1$
Двусторонняя тубэктомия	6 (12)	8 (13)	0 (0)	$p_{1-2}=0,7$ $p_{1-3}=0,2$ $p_{2-3}=0,1$

По данным анамнеза «детские» инфекции перенесли 69% женщин (n=36) в основной группе, 63% участниц (n=39) в группе сравнения и 56% женщин (n=9) в контрольной группе; ОРВИ в анамнезе отметили все женщины. Черепно-мозговые травмы в анамнезе имели 13% участниц (n=7) основной группы и 16% женщин (n=10) в группе сравнения.

Варианты и распространенность хронических соматических заболеваний у участниц исследования представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Соматические заболевания по данным анамнеза у женщин, включенных в исследование

Заболевания	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52) n (%)	Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм) (n=62) n (%)	Группа контроля (М-эхо ≥7 мм) (n=16) n (%)
Заболевания органов желудочно-кишечного тракта			
Хронический гастродуоденит, ремиссия	7 (13)	7 (11)	2 (12)
Язвенная болезнь желудка и/или двенадцатиперстной кишки, ремиссия	1 (2)	1 (2)	0 (0)
Болезни желчного пузыря и желчевыводящих путей, ремиссия	6 (11)	3 (5)	0 (0)
Заболевания органов мочевыделительной системы			
Хронический цистит, ремиссия	5 (10)	7 (11)	0 (0)
Хронический пиелонефрит, ремиссия	9 (17)	11 (7)	1 (6)
Заболевания щитовидной железы			
Нетоксический диффузный или узловой зоб, эутиреоз	1 (2)	1 (2)	0 (0)
Аутоиммунный тиреоидит, эутиреоз	5 (10)	9 (15)	1 (6)
Заболевания молочных желез			
Доброкачественная дисплазия молочных желез	9 (17)	16 (26)	2 (12)
ЛОР-заболевания			
Хронический тонзиллит, ремиссия	15 (29)	13 (21)	2 (12)
Заболевания сердечно-сосудистой системы			
Гипотония (рабочее АД 90/60 мм рт.ст.)	19 (37)	13 (21)	3 (19)

*для всех сравнений показателей $p > 0,05$

Как видно из таблицы 5, у 10% (n=5) пациенток основной группы, у 15% (n=9) участниц из группы сравнения и 6% (n=1) участниц контрольной группы был аутоиммунный тиреоидит. При включении в исследование у всех пациенток определен эутиреоз, что соответствовало критериям включения в исследование.

При проведении аспирационной биопсии слизистой оболочки матки, у всех пациенток был определен нормобиоценоз урогенитального тракта (не было выявлено клинических и/или лабораторных признаков воспалительных или дисбиотических процессов во влагалище). У всех участниц перед внутриматочным вмешательством получали отделяемое из половых путей и уретры для исследования на микробиоценоз; все женщины в цикле проведения биопсии эндометрия использовали барьерные методы контрацепции (мужской презерватив). У женщин, включенных в исследование, не было обнаружено патогенной микрофлоры, а также условно-патогенной микрофлоры в диагностическом титре $>10^4$ методом ПЦР.

Проведенный сравнительный анализ клинико-anamнестических данных и общих объективных показателей (антропометрических показателей, психосоциальных факторов, характеристик менструальной функции и соматических заболеваний в анамнезе) не выявил достоверных различий у женщин в трех группах. Были обнаружены значимые различия акушерско-гинекологического анамнеза между женщинами с репродуктивными дисфункциями (основная группа и группа сравнения) и здоровыми женщинами из группы контроля.

3.2 Результаты гормонального и ультразвукового обследования женщин, включенных в исследование

Все женщины, включенные в исследование, имели нормальные значения уровней гонадотропных гормонов, пролактина, исследованных андрогенов, гормонов, характеризующих функцию щитовидной железы (таблица 6). Все показатели были в пределах референсных значений и были сопоставимы у женщин трех групп ($p>0,05$).

Таблица 6 – Результаты гормонального обследования женщин, включенных в исследование

Показатели	М±m			Референсные значения
	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52)	Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм) (n=62)	Группа контроля (М-эхо ≥7 мм) (n=16)	
ФСГ (2-3 д.м.ц.), МЕ/мл	8,3±0,3	7,6±0,3	6,2±0,5	1,8-11,3
ЛГ (2-3 д.м.ц.), мМЕ/мл	6,1±0,3	5,3±0,3	5,3±0,4	1,1-8,7
Пролактин, мМЕ/мл	290,6±14,4	286,8±18,2	285,4±25,7	70-566
17-ОНР (3-5 д.м.ц.), нмоль/л	1,8±0,1	1,5±0,1	1,7±0,5	0,3-2,8
ДГЭА-С (3-5 д.м.ц.), мкмоль/л	2,5±0,3	4,3±0,3	4,6±0,4	0,8-10,1
FTest (3-5 д.м.ц.), пмоль/л	1,5±0,1	2,9±0,3	4,1±0,2	0,1-9,89
ТТГ, мМЕ/мл	1,3±0,1	1,5±0,1	1,5±0,3	0,34—3,5
FT ₄ , нмоль/л	12,6±0,2	13,4±0,4	12,4±0,4	10,2-23,2

*для всех сравнений показателей $p>0,05$

Овуляторным считали менструальный цикл при уровне прогестерона в крови 16,1 нмоль/л и более (по инструкции использованной в исследовании тест-системы «Beckman Coulter»), который определяли в крови пациенток на 6-8 день после овуляции (при длительности менструального цикла 28-30 дней). У женщин всех групп были овуляторный менструальный цикл и нормоэстрогенемия. Значения уровней эстрадиола (E₂), прогестерона (P) в крови были сходны у участниц исследования в различных группах ($p>0,05$) (таблица 7).

Таблица 7 – Уровни половых стероидов в периферической крови в цикле проведения биопсии эндометрия (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование

Группы Показатели	M±m			p	Референсные значения
	Основная группа (M-эхо <7 мм) (n=52)	Группа сравнения (M-эхо ≥7 мм) (n=62)	Группа контроля (M-эхо ≥7 мм) (n=16)		
E ₂ , пмоль/л (11-13 д.м.ц.)	531,7±32,4	589,7±34,3	624,4±52,2	p ₁₋₂ =0,8 p ₁₋₃ =0,4 p ₂₋₃ =0,6	180-1070
E ₂ , пмоль/л (6-8 д.п.о.)	595,2±36,2	685,9±40,3	707,4±66,1	p ₁₋₂ =0,1 p ₁₋₃ =0,1 p ₂₋₃ =0,8	180-1070
P, нмоль/л (6-8 д.п.о.)	47,7±3,4	44,2±2,6	39,1±4,9	p ₁₋₂ =0,4 p ₁₋₃ =0,2 p ₂₋₃ =0,4	16,1-59,1
E ₂ /P (6-8 д.п.о.)	14,2±0,9	15,9±1,3	19,9±1,8	p ₁₋₂ =0,3 p ₁₋₃ =0,06 p ₂₋₃ =0,1	

Ультразвуковое исследование органов малого таза проводилось в динамике в двух менструальных циклах подряд у всех пациенток на 11-13 день менструального цикла (при его длительности 28-30 дней). В преовуляторные дни (поздняя фолликулярная фаза) менструального цикла оценивали общепринятые параметры при ультразвуковом исследовании, включая толщину эндометрия (M-эхо) (таблица 8).

Таблица 8 – Результаты УЗ-исследования органов малого таза на 11-13 д.м.ц у женщин, включенных в исследование

Показатели	Группы	M±m			p
		Основная группа (M-эхо <7 мм) (n=52)	Группа сравнения (M-эхо ≥7 мм) (n=62)	Группа контроля (M-эхо ≥7 мм) (n=16)	
M-эхо, мм		5,7±0,7	9,1±0,6	8,3±0,8	p ₁₋₂ =1*10 ⁻⁸ p ₁₋₃ =1*10 ⁻⁷ p ₂₋₃ =0,6
Длина тела матки, мм		4,6±0,1	4,9±0,1	4,7±0,2	p ₁₋₂ =0,4 p ₁₋₃ =0,8 p ₂₋₃ =0,7
Ширина тела матки, мм		4,6±0,1	4,7±0,2	4,7±0,3	p ₁₋₂ =0,3 p ₁₋₃ =0,4 p ₂₋₃ =0,2
Передне-задний размер тела матки, мм		3,8±0,6	4,1±0,4	3,8±0,2	p ₁₋₂ =0,5 p ₁₋₃ =0,6 p ₂₋₃ =0,4
Объем правого яичника, см ³		4,6±0,7	4,7±0,3	4,3±0,9	p ₁₋₂ =0,2 p ₁₋₃ =0,3 p ₂₋₃ =0,3
Объем левого яичника, см ³		4,3±0,2	4,6±0,1	5,1±0,9	p ₁₋₂ =0,3 p ₁₋₃ =0,5 p ₂₋₃ =0,6

Ультразвуковые показатели размеров тела матки и яичников были сравнимы у женщин трех групп, и не было выявлено достоверных различий между здоровыми фертильными женщинами и участницами с нарушениями репродуктивной функции ($p > 0,05$). Существенные различия наблюдались в величине M-эхо ($p < 0,01$) между когортами женщин с «тонким» эндометрием (основная группа) и с нормальной толщиной эндометрия (группа сравнения и контрольная группа), что наряду с анамнестическими данными было основанием для разделения участниц на группы. Не было выявлено патологических образований органов малого таза у женщин, включенных в исследование.

3.3 Результаты морфологического исследования образцов эндометрия у женщин, включенных в исследование

Всем женщинам, включенным в исследование, на 6-8 день после овуляции (д.п.о.) проводили биопсию эндометрия. Полученные образцы слизистой оболочки матки оценивали гистологическим методом (определяли полноценность или неполноценность фазовой трансформации эндометрия). Затем оценивали иммуногистохимическим методом счет рецепторов эстрогенов и прогестерона в строме и железах эндометрия, экспрессию лейкемия ингибирующего фактора (LIF) в железах, строме и в клетках люминального эпителия слизистой тела матки, семейства FOX-белков (FOXA1 и FOXA2) в эндометрии.

Пункцию локтевой вены для получения образца периферической крови с целью определения в ней уровней половых стероидных гормонов (эстрадиола и прогестерона) проводили в тот же день, что и вакуум-аспирационную биопсию эндометрия.

3.3.1 Результаты гистологического исследования образцов эндометрия у женщин, включенных в исследование

У всех женщин (n=16) контрольной группы при гистологическом исследовании образцов эндометрия в 100% случаев были определены полноценные секреторные преобразования слизистой оболочки тела матки. Такой эндометрий соответствовал средней стадии фазы секреции: определялись хорошо извитые железы с широким просветом, крупные везикулярные ядра, извитые спиральные артерии и полигональные клетки стромы округлой формы (рисунок 3).

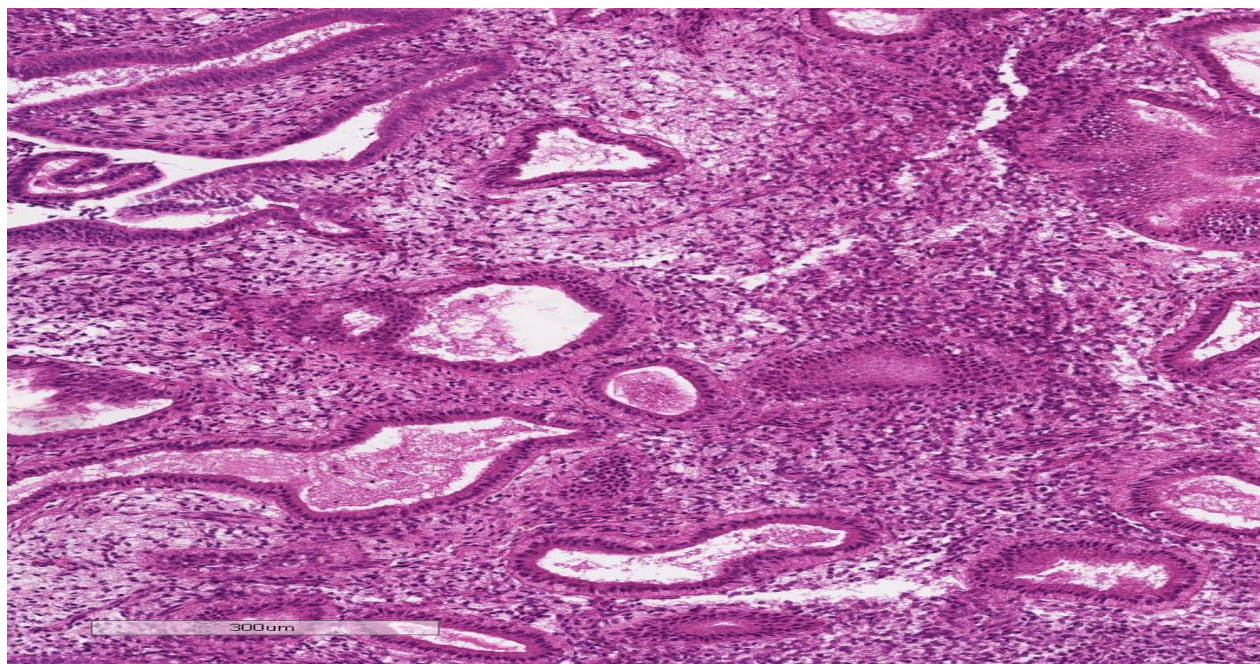


Рисунок 3 – Эндометрий средней стадии фазы секреции (6-8 д.п.о.), окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$ (пациентка Б., 2018 г.)

В основной группе женщин с «тонким» эндометрием средняя стадия фазы секреции по данным гистологического анализа наблюдалась у 25% женщин ($n=13$ из 52), в группе сравнения полноценная фазовая трансформация эндометрия была у 39% женщин ($n=24$ из 62). У остальных женщин основной группы и группы сравнения слизистая оболочка тела матки имела гистологические признаки неполноценной секреторной трансформации – в 75% ($n=39$ из 52) и в 61% ($n=38$ из 62) случаев соответственно. В таком эндометрии имели место железы ранней или поздней стадии фазы секреции, железы были мелкие, единичные, нефункциональные, гипопластического типа со слабыми секреторными изменениями (рисунок 4).

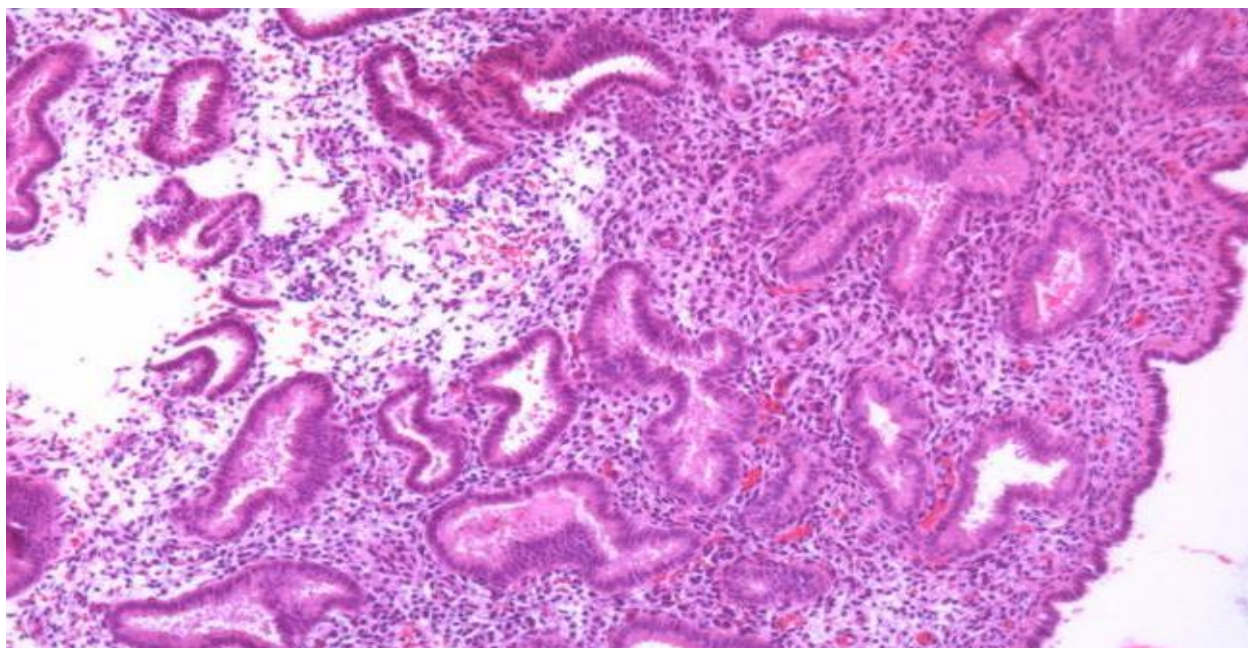


Рисунок 4 – Эндометрий с неполноценной секреторной трансформацией (6-8 д.п.о.), окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$ (пациентка Б., 2019 г.)

Распределение пациенток с полноценной/неполноценной фазовой трансформацией эндометрия представлено в таблице 9.

Таблица 9 – Варианты секреторной трансформации эндометрия (6-8 д.п.о.) по данным гистологического исследования у женщин различных групп

Секреторная трансформация эндометрия \ Группы	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52) n (%)	Группа сравнения (М-эхо ≥ 7 мм) (n=62) n (%)	Группа контроля (М-эхо ≥ 7 мм) (n=16) n (%)
Полноценная	13 (25)	24 (39)	16 (100)
Неполноценная	39 (75)	38 (61)	0 (0)

При сравнительном анализе уровней половых стероидных гормонов (эстрадиола и прогестерона) в крови в соотношении с секреторной трансформацией эндометрия у пациенток трех групп не было выявлено существенных различий ($p > 0,05$) (таблица 10).

Таблица 10 – Содержание половых стероидных гормонов (E₂, P) в периферической крови в цикле проведения биопсии эндометрия (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в соотношении с гистологической характеристикой эндометрия

Группы Секреторная трансформация эндометрия Показатели (6-8 д.п.о)	M±m				
	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52)		Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм) (n=62)		Группа контроля (М-эхо ≥7 мм) (n=16)
	Полноценная (n=13)	Неполноценная (n=39)	Полноценная (n=24)	Неполноценная (n=38)	Полноценная (n=16)
E ₂ , пмоль/л	591,0±75,8	596,5±41,8	614,1±49,3	732,4±57,3	707,4±66,1
P, нмоль/л	49,6±9,0	47,0±3,4	40,3±3,3	46,7±3,7	39,1±4,9
E ₂ /P	14,3±1,9	14,2±1,0	15,5±1,7	16,2±1,8	19,9±1,8

*для всех сравнений показателей $p > 0,05$

У пациенток с репродуктивными нарушениями в анамнезе характеристики эндометрия, сходные со здоровыми женщинами (полноценная секреторная трансформация), наблюдались в 25% случаев (n=13) в основной группе и в 39% случаев (n=24) в группе сравнения. У большинства участниц исследования (75% женщин в основной группе и 61% женщин в группе сравнения) с репродуктивными дисфункциями в анамнезе выявлены неполноценные секреторные преобразования слизистой оболочки тела матки. При этом значения уровней эстрадиола и прогестерона в периферической крови были сходными у всех участниц исследования, и не было ассоциаций с полноценностью/неполноценностью секреторных преобразований эндометрия ($p > 0,05$).

Исходно морфологическое исследование биоптатов эндометрия проводили у 178 женщин с репродуктивными дисфункциями неясного генеза в анамнезе, которые соответствовали критерия включения/исключения. После первичной оценки эндометриальных образцов у 64 женщин были выявлены критерии диагноза «хронический эндометрит»: фиброз стромы, склероз спиральных артерий, воспалительные инфильтраты в виде «лимфоидных фолликулов» в эндометрии, наличие плазматических клеток (CD138). Для постановки диагноза «хронический

эндометрит» необходимо сочетание минимум трех критериев их четырех с обязательным наличием плазматических клеток (CD138). Данные 64 пациентки не были включены в диссертационное исследование.

У остальных 114 пациенток (I группа – 52 женщины; II – 62 женщины) по результатам морфологического исследования не было выявлено критериев диагноза «хронический эндометрит». В некоторых случаях у этих участниц в биоптатах эндометрия встречались такие изолированные гистологические характеристики, как фиброз стромы. Данные изменения были расценены как возникшие после внутриматочных вмешательств (выскабливания полости матки) (*abrasio cavi uteri*). В ряде случаев у включенных в исследование 114 женщин (11%, n=13) в эндометриальных биоптатах были выявлены CD138 в значении 0-1 без других признаков хронического эндометрита, что по существующим критериям не является достаточным для постановки диагноза «хронический эндометрит».

В конечном итоге, 114 пациенток, у которых не было морфологических критериев «хронический эндометрит», были включены в исследование в основную группу или группу сравнения в зависимости от величины параметра М-эхо на 11-13 день менструального цикла.

3.3.2 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии у женщин, включенных в исследование

3.3.2.1 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии у женщин, включенных в исследование, в соотношении с толщиной эндометрия

Проводили сравнительный анализ показателей экспрессии эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в эндометрии в соотношении с толщиной слизистой оболочки тела матки. По всем показателям эндометриальной экспрессии рецепторов половых стероидов (кроме PR в строме) были выявлены существенные различия ($p < 0,01$) между женщинами с репродуктивными неудачами в анамнезе и здоровыми женщинами из группы контроля, но без достоверных отличий ($p > 0,05$) в основной группе и группе сравнения. Данные по экспрессии ER, PR в эндометрии в соотношении с толщиной слизистой оболочки матки представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Показатели счета рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) в эндометрии (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в соотношении с толщиной эндометрия

Группы Показатели (6-8 д.п.о.)	M±m			p
	Основная группа (M-эхо < 7 мм) (n=52)	Группа сравнения (M-эхо ≥ 7 мм) (n=62)	Группа контроля (M-эхо ≥ 7 мм) (n=16)	
	1	2	3	
ER в железах	185,2±11,5	178,7±10,3	113,7±8,3	p ₁₋₂ =0,7 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,002
ER в строме	161,5±10,9	160,9±9,8	80,6±8,7	p ₁₋₂ =0,9 p ₁₋₃ =1*10 ⁻⁴ p ₂₋₃ =1*10 ⁻⁴
PR в железах	186,7±15,7	162,2±2,4	28,1±2,4	p ₁₋₂ =0,3 p ₁₋₃ =1*10 ⁻⁶ p ₂₋₃ =1*10 ⁻⁵
PR в строме	266,3±4,8	273,4±3,1	285,0±1,8	p ₁₋₂ =0,2 p ₁₋₃ =0,05 p ₂₋₃ =0,07

У всех здоровых фертильных женщин (n=16) из группы контроля по результатам гистологического исследования биоптатов слизистой тела матки определена полноценная секреторная трансформация эндометрия.

При проведении иммуногистохимического исследования биоптатов эндометрия (6-8 д.п.о.) у женщин контрольной группы в 100% случаев определяли низкую экспрессию эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в железах эндометрия, тенденцию к снижению экспрессии ER в строме слизистой тела матки и высокую экспрессию PR в строме эндометрия (рисунки 5, 6). Такие характеристики эндометрия были обозначены как иммунофенотип-1 (ИФТ-1) гормонально-рецепторного «ответа» эндометрия [5].

У пациенток основной группы с гипопластическим эндометрием и репродуктивными дисфункциями в анамнезе ИФТ-1 был определен в 21% случаев (n=11). В группе сравнения у пациенток с нормальной толщиной эндометрия и репродуктивными неудачами в анамнезе сходные со здоровыми женщинами гормонально-рецепторные характеристики слизистой тела матки были у 32% женщин (n=20).

У остальных участниц исследования были следующие варианты гормонально-рецепторного эндометриального «ответа», отличные от здоровых женщин [8, 59]:

- второй иммунофенотип (ИФТ-2) гормонально-рецепторного «ответа» слизистой тела матки с высокой экспрессией ER, PR в железах и строме эндометрия (рисунки 7, 8) – у 50% женщин (n=26) основной группы и у 37% участниц (n=23) в группе сравнения;
- третий иммунофенотип (ИФТ-3) эндометриального «ответа»: наблюдались высокая экспрессия ER в железах и высокая/низкая экспрессия ER в строме эндометрия, низкая экспрессия PR в железах, высокая экспрессия PR в строме слизистой тела матки – у 10% женщин (n=5) в основной группе и у 12% женщин (n=7) в группе сравнения;
- четвертый иммунофенотип (ИФТ-4) гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии со следующими характеристиками: низкая экспрессия ER в железах и

высокая/низкая экспрессия ER в строме слизистой тела матки, высокая экспрессии PR в железах и строме эндометрия – в 19% случаев (n=10) в основной группе и в 19% случаев (n=12) в группе сравнения.

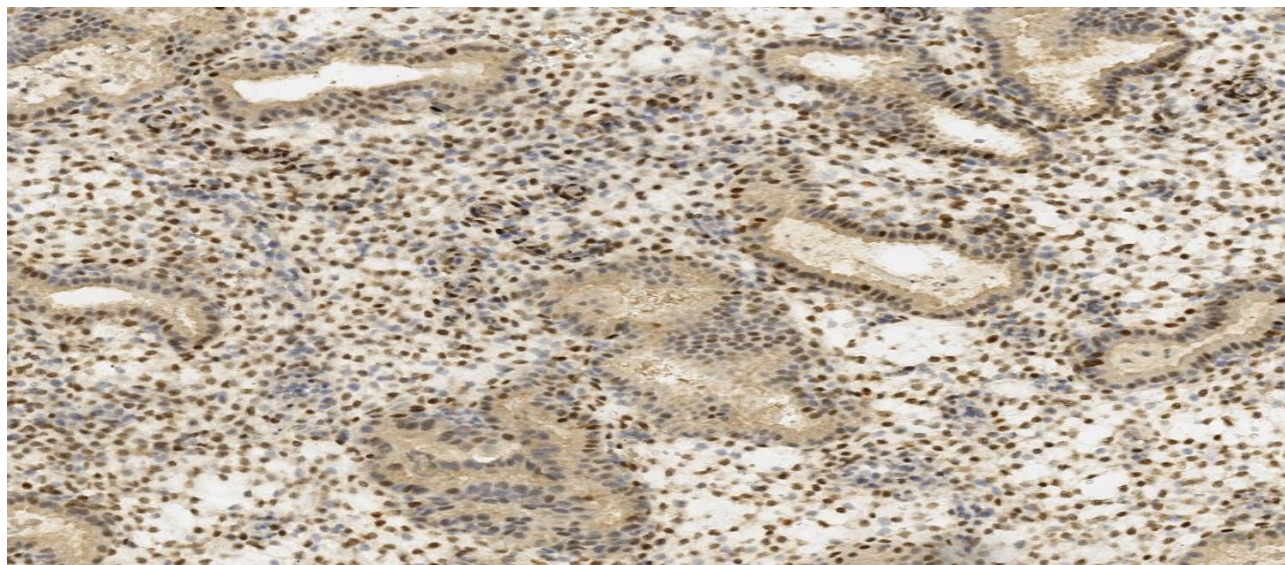


Рисунок 5 – Иммуногистохимическое исследование: низкий уровень экспрессии рецепторов эстрогенов в железах эндометрия (6-8 д.п.о.), $\times 100$ (пациентка К., 2021 г.)

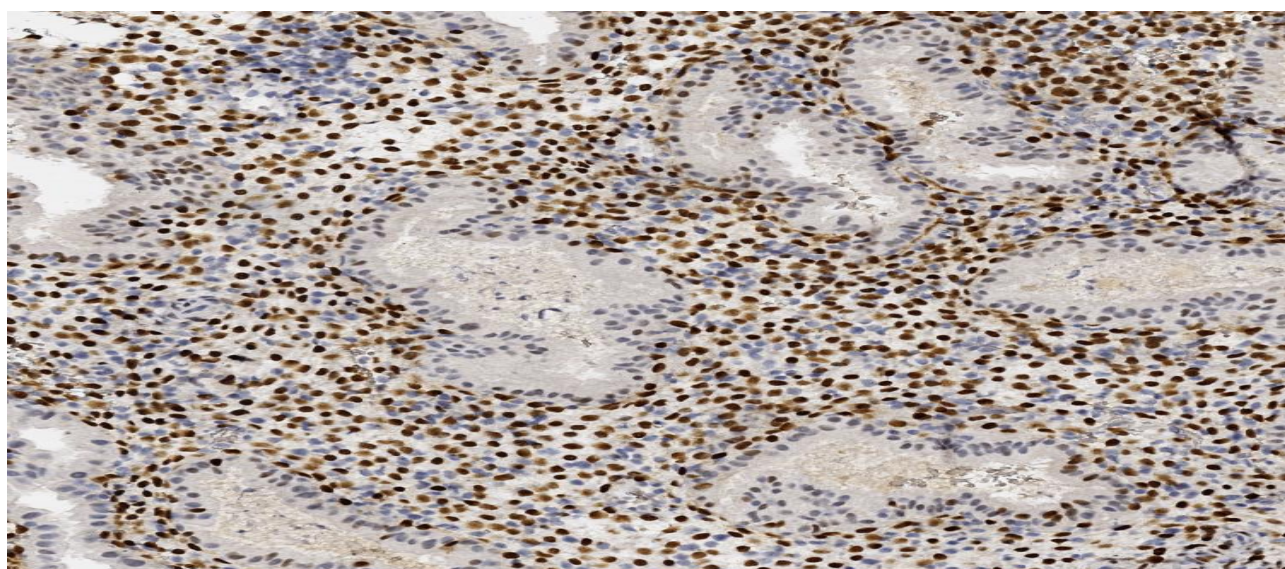


Рисунок 6 – Иммуногистохимическое исследование: низкий уровень экспрессии рецепторов прогестерона в железах эндометрия (6-8 д.п.о.), $\times 100$ (пациентка К., 2021 г.)

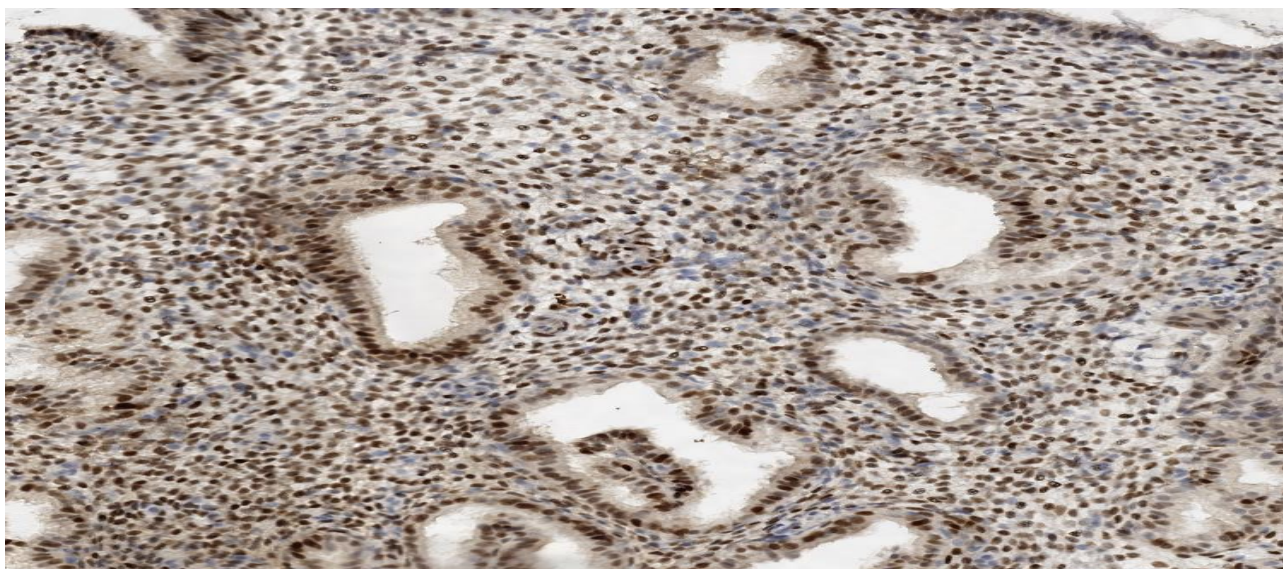


Рисунок 7 – Иммуногистохимическое исследование: высокие уровни экспрессии рецепторов эстрогенов в железах и в строме эндометрия (6-8 д.п.о.), ×100 (пациентка С., 2018 г.)

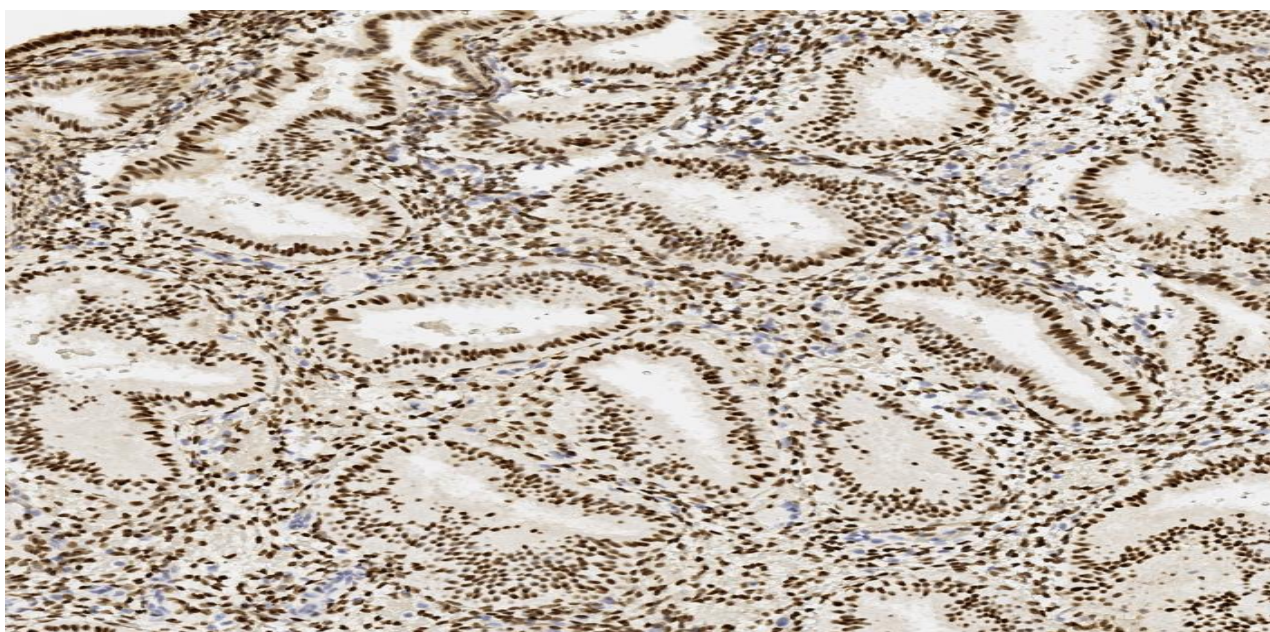


Рисунок 8 – Иммуногистохимическое исследование: высокие уровни экспрессии рецепторов прогестерона в железах и в строме эндометрия (6-8 д.п.о.), ×50 (пациентка Ч., 2018 г.)

В таблице 12 представлены данные о распределении всех участниц исследования в зависимости от иммунофенотипа гормонально-рецепторного «ответа» эндометрия.

Таблица 12 – Варианты гормонально-рецепторного «ответа» эндометрия у женщин, включенных в исследование

Группы Тип ИФТ	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52) n (%)	Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм) (n=62) n (%)	Группа контроля (М-эхо ≥7 мм) (n=16) n (%)	p
ИФТ-1	11 (21)	20 (32)	16 (100)	p ₁₋₂ =0,4 p ₁₋₃ =0,0002 p ₂₋₃ =0,001
ИФТ-2	26 (50)	23 (37)	0 (0)	p ₁₋₂ =0,1 p ₁₋₃ =0,0003 p ₂₋₃ =0,0004
ИФТ-3	5 (10)	7 (12)	0 (0)	p ₁₋₂ =0,7 p ₁₋₃ =0,2 p ₂₋₃ =0,1
ИФТ-4	10 (19)	12 (19)	0 (0)	p ₁₋₂ =0,9 p ₁₋₃ =0,06 p ₂₋₃ =0,06

Был проведен сравнительный анализ распределения типов гормонально-рецепторных характеристик эндометрия в соотношении с гистологическими характеристиками эндометрия.

В целом отмечены соответствия результатов гистологического и иммуногистохимического исследований образцов эндометрия у большинства женщин: при полноценной фазовой трансформации слизистой тела матки были выявлены гормонально-рецепторные взаимодействия в эндометрии (ИФТ-1), соответствующие таковым у здоровых женщин, а при отставании секреторных преобразований слизистой тела матки были отмечены отличные от женщин контрольной группы данные счета ER, PR (ИФТ-2,3,4) (таблицы 13 и 14).

В ряде случаев, в основной группе и группе сравнения было определено несоответствие гистологических характеристик эндометрия и его рецепторности

(таблицы 13 и 14). При полноценной секреторной трансформации слизистой тела матки наблюдались варианты эндометриальной экспрессии ER и PR, отличные (ИФТ-2,3,4) от здоровых женщин контрольной группы (в основной группе – 6% случаев (n=3 из 52), в группе сравнения – 13% случаев (n=8 из 62)). И наоборот, при отставании секреторных преобразований эндометрия от соответствующих дней менструального цикла наблюдалась сходная с группой контроля экспрессия ER и PR (в основной группе – 2% (n=1 из 52), в группе сравнения – 6% (n=4 из 62)).

Таблица 13 – Соотношение результатов гистологического и иммуногистохимического (счет ER и PR) методов исследования образцов эндометрия (6-8 д.п.о.) у пациенток **основной группы**

ИФТ и секреторные преобразования эндометрия (n=52)	n (%)
Соответствие результатов гистологического и ИГХ (счет ER, PR) исследований эндометрия	
ИФТ-1 и полноценная секреторная трансформация эндометрия	10 (19)
ИФТ-2, ИФТ-3, ИФТ-4 и неполноценная секреторная трансформация эндометрия	38 (73)
Несоответствие результатов гистологического и ИГХ (счет ER, PR) исследований эндометрия	
ИФТ-1 и неполноценная секреторная трансформация эндометрия	1 (2)
ИФТ-2, ИФТ-3, ИФТ-4 и полноценная секреторная трансформация эндометрия	3 (6)

Таблица 14 – Соотношение результатов гистологического и иммуногистохимического (счет ER и PR) методов исследования образцов эндометрия (6-8 д.п.о.) у пациенток **группы сравнения**

ИФТ и секреторные преобразования эндометрия (n=62)	n (%)
Соответствие результатов гистологического и ИГХ (счет ER, PR) исследований эндометрия	
ИФТ-1 и полноценная секреторная трансформация эндометрия	16 (26)
ИФТ-2, ИФТ-3, ИФТ-4 и неполноценная секреторная трансформация эндометрия	34 (55)
Несоответствие результатов гистологического и ИГХ (счет ER, PR) исследований эндометрия	
ИФТ-1 и неполноценная секреторная трансформация эндометрия	4 (6)
ИФТ-2, ИФТ-3, ИФТ-4 и полноценная секреторная трансформация эндометрия	8 (13)

Пациентки в основной группе и группе сравнения были разделены на подгруппы в зависимости от варианта гормонально-рецепторного «ответа» эндометрия (ИФТ-1 и ИФТ-2, 3, 4). Значения уровней гонадотропинов, пролактина, половых стероидов, гормонов щитовидной железы в крови не отличались в подгруппах женщин, с различной толщиной эндометрия ($p>0,05$) (таблица 15).

Таблица 15 – Содержание E_2 , P в периферической крови в цикле проведения биопсии эндометрия (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование; значения уровней гонадотропинов, пролактина, некоторых половых стероидных гормонов (17-ОНР, ДГЭА-С, FTest), показателей функционирования щитовидной железы в периферической крови, значение М-эхо (по данным УЗИ на 11-13 д.м.ц.) у женщин, включенных в исследование

Группы	M±m					P
	Основная группа (n=52)		Группа сравнения (n=62)		Группа контроля (n=16)	
	М-эхо <7 мм + ИФТ 1 (n=11)	М-эхо <7 мм + ИФТ 2,3,4 (n=41)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 1 (n=20)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 2,3,4 (n=42)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 1 (n=20)	
Показатели	1	2	3	4	5	
E_2 , пмоль/л (6-8 д.п.о.)	662,5±106,1	577,1±36,5	659,4±72,5	700,1±48,6	707,4±66,1	$p>0,05$
P, нмоль/л (6-8 д.п.о.)	50,6±8,2	46,3±3,1	39,6±4,8	46,4±3,1	39,1±4,9	$p>0,05$
E_2/P (6-8 д.п.о.)	15,2±2,2	13,9±1,0	18,2±1,7	14,9±1,7	19,9±1,8	$p>0,05$
ФСГ (2-3 д.м.ц.), МЕ/мл	8,9±0,4	8,1±0,3	7,4±0,4	7,8±0,4	6,2±0,5	$p>0,05$
ЛГ (2-3 д.м.ц.), мМЕ/мл	6,9±0,3	6,0±0,3	5,8±0,5	5,0±0,3	5,3 ±0,4	$p>0,05$
Пролактин, мМЕ/мл	275,1±35,2	294,5±15,8	254,6±23,1	302,0±24,3	285,4±25,7	$p>0,05$
17-ОНР (3-5 д.м.ц.), нмоль/л	1,4±0,1	1,8±0,1	1,4±0,1	1,6±0,1	1,7±0,5	$p>0,05$
ДГЭА-С (3-5 д.м.ц.), мкмоль/л	1,9±0,2	2,5±0,4	2,8±0,4	5,0±0,4	4,6±0,4	$p>0,05$
FTest (3-5 д.м.ц.), пмоль/л	1,2±0,04	1,6±0,1	2,1±0,1	3,6±0,5	4,1±0,2	$p>0,05$

ТТГ, мМЕ/мл	1,5±0,2	1,2±0,1	1,8±0,2	1,4±0,1	1,5±0,3	p>0,05
FT ₄ , нмоль/л	12,9±0,5	12,5±0,2	12,9±0,6	13,6±0,5	12,4±0,4	p>0,05
Для всех сравнений показателей p>0,05						
М-эхо, мм (11-13 д.ц.)	5,9±0,3	5,7±0,1	8,9±0,4	9,1±0,3	8,3±0,8	p ₁₋₂ =0,5 p ₁₋₃ =3*10 ⁻⁵ p ₁₋₄ =1*10 ⁻⁶ p ₁₋₅ =1*10 ⁻⁸ p ₂₋₃ =1*10 ⁻⁷ p ₂₋₄ =1*10 ⁻⁷ p ₂₋₅ =1*10 ⁻⁷ p ₃₋₄ =0,6 p ₃₋₅ =0,4 p ₄₋₅ =0,7

В исследуемых подгруппах не было выявлено различий в экспрессии PR в строме эндометрия (p>0,05) (таблица 16). Однако, остальные показатели (экспрессия ER и PR в железах, ER в строме эндометрия) у пациенток основной группы и группы сравнения с нарушенным эндометриальным «ответом» (ИФТ-2, 3, 4) существенно отличались от таковых у пациенток основной группы и группы сравнения с нормальными гормонально-рецепторными эндометриальными характеристиками (ИФТ-1) и у женщин контрольной группы (ИФТ-1) (p<0,01). В то же время показатели счета рецепторов половых стероидов не отличались у женщин с различной толщиной эндометрия и репродуктивными дисфункциями в прошлом, имеющих полноценный гормонально-рецепторный эндометриальный «ответ», и у здоровых женщин (p>0,05) (таблица 16).

Таблица 16 – Показатели счета рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) в эндометрии (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в соотношении с характером гормонально-рецепторного статуса эндометрия

Группы Показатели (6-8 д.п.о.)	M±m					p
	Основная группа (n=52)		Группа сравнения (n=62)		Группа контроля (n=16)	
	М-эхо <7 мм + ИФТ 1 (n=11)	М-эхо <7 мм + ИФТ 2,3,4 (n=41)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 1 (n=20)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 2,3,4 (n=42)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 1 (n=20)	
	1	2	3	4	5	
ER в железах	90,9±13,9	210,5±11,2	103,5±8,3	214,5±11,1	113,7±8,3	p ₁₋₂ =3*10 ⁻⁶ p ₁₋₃ =0,4 p ₁₋₄ =2*10 ⁻⁶ p ₁₋₅ =0,1 p ₂₋₃ =1*10 ⁻⁷ p ₂₋₄ =0,8 p ₂₋₅ =3*10 ⁻⁶ p ₃₋₄ =1*10 ⁻⁷ p ₃₋₅ =0,4 p ₄₋₅ =2*10 ⁻⁶
ER в строме	109,1±16,4	175,6±12,3	119,5±14,7	180,7±11,6	80,6±8,7	p ₁₋₂ =0,01 p ₁₋₃ =0,6 p ₁₋₄ =0,004 p ₁₋₅ =0,1 p ₂₋₃ =0,008 p ₂₋₄ =0,8 p ₂₋₅ =2*10 ⁻⁵ p ₃₋₄ =0,003 p ₃₋₅ =0,06 p ₄₋₅ =4*10 ⁻⁶
PR в железах	26,4±12,4	229,7±13,0	20,5±4,4	229,8±12,3	28,1±2,4	p ₁₋₂ =1*10 ⁻⁷ p ₁₋₃ =0,6 p ₁₋₄ =1*10 ⁻⁷ p ₁₋₅ =0,9 p ₂₋₃ =1*10 ⁻⁷ p ₂₋₄ =1,0 p ₂₋₅ =1*10 ⁻⁷ p ₃₋₄ =1*10 ⁻⁷ p ₃₋₅ =0,2 p ₄₋₅ =1*10 ⁻⁷
PR в строме	252,7±16,9	270,0±4,0	270,0±6,1	275,0±3,6	285,0±1,8	p ₁₋₂ =0,1 p ₁₋₃ =0,2 p ₁₋₄ =0,05 p ₁₋₅ =0,05 p ₂₋₃ =1,0 p ₂₋₄ =0,4 p ₂₋₅ =0,05 p ₃₋₄ =0,5 p ₃₋₅ =0,06 p ₄₋₅ =0,1

При проведении комплексного морфологического (гистологического и иммуногистохимического) исследования образцов эндометрия (6-8 д.п.о.) было выявлено, что у 21% женщин с репродуктивными дисфункциями в основной группе и у 32% женщин в группе сравнения показатели счета рецепторов эстрогенов и прогестерона в слизистой тела матки были сходны со здоровыми фертильными женщинами независимо от толщины эндометрия. У остальных 79% и 68% участниц соответствующих групп гормонально-рецепторные характеристики эндометрия имели достоверные различия от группы контроля; однако не было выявлено различий в счете рецепторов эстрогенов и прогестерона у женщин с нарушениями репродукции в анамнезе в зависимости от толщины эндометрия. Указанные данные определены при сходных значениях уровней стероидных гормонов в крови и независимо от толщины эндометрия.

Для уточнения более детальных особенностей экспрессии ER, PR в соотношении с величиной М-эхо, пациентки основной группы с «тонким» эндометрием и репродуктивными дисфункциями (n=52) были разделены на две подгруппы в зависимости от величины М-эхо. В подгруппу с «тонким» эндометрием (Ia) были включены женщины (n=42) из основной группы, у которых величина М-эхо по данным УЗИ была $7 \text{ мм} > \text{М-эхо} \geq 5 \text{ мм}$; в подгруппу с «абсолютно тонким» эндометрием (Ib) вошли женщины (n=10), величина М-эхо у которых по данным УЗИ была $< 5 \text{ мм}$.

Был проведен сравнительный анализ показателей счета рецепторов эстрогенов и прогестерона в образцах слизистой тела матки при различной толщине гипопластического эндометрия в сравнении со здоровыми женщинами без неудач репродукции (n=16).

Между женщинами с различной толщиной гипопластического эндометрия, имеющими в анамнезе репродуктивные нарушения, и когортой женщин из группы контроля были выявлены существенные различия по всем показателям эндометриальной экспрессии ER, PR ($p < 0,01$), кроме экспрессии PR в строме. Не было выявлено достоверных различий в уровнях экспрессии рецепторов половых

стероидов среди женщин с «тонким» и «абсолютно тонким» эндометрием ($p > 0,05$) (таблица 17).

Таблица 17 – Показатели счета рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) в эндометрии (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в зависимости от толщины гипопластического эндометрия

Группы Показатели (6-8 д.п.о)	M±m			p
	Основная группа (n=52)		Группа контроля (M-эхо \geq 7 мм) (n=16)	
	Подгруппа Ia (7 мм > M-эхо \geq 5 мм) (n=42)	Подгруппа Ib (M-эхо < 5 мм) (n=10)		
	1	2	3	
ER в железах	184,1±12,8	190,0±27,1	113,7±8,3	p ₁₋₂ =0,8 p ₁₋₃ =0,002 p ₂₋₃ =0,004
ER в строме	161,7±12,4	161,0±24,1	80,6±8,7	p ₁₋₂ =0,9 p ₁₋₃ =3*10 ⁻⁴ p ₂₋₃ =0,001
PR в железах	190,5±16,9	171,0±42,3	28,1±2,4	p ₁₋₂ =0,6 p ₁₋₃ =1*10 ⁻⁷ p ₂₋₃ =2*10 ⁻⁴
PR в строме	264,8±5,8	273,0±4,7	285,0±1,8	p ₁₋₂ =0,5 p ₁₋₃ =0,04 p ₂₋₃ =0,01

При гистологическом исследовании у всех здоровых женщин (n=16) была определена полноценная фазовая трансформация эндометрия. В подгруппе Ia основной группы (7 мм > M-эхо \geq 5 мм) средняя стадия фазы секреции была выявлена у 24% женщин (n=10 из 42), в подгруппе Ib основной группы (M-эхо < 5 мм) – у 30% женщин (n=3 из 10). При сравнении показателей эндометриальной экспрессии рецепторов ER и PR в соотношении с полноценными/неполноценными преобразованиями слизистой оболочки тела матки между когортами участниц с «тонким» и «абсолютно тонким» эндометрием, были выявлены существенные различия ($p < 0,05$) (таблица 18).

Таблица 18 – Показатели счета рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) в эндометрии (6-8 д.п.о.) у женщин с различной толщиной гипопластического эндометрия, включенных в исследование, в соотношении с гистологической характеристикой эндометрия

Группы Секреторная трансформация эндометрия (6-8 д.п.о.)	M±m					p
	Основная группа (n=52)				Группа контроля (M-эхо ≥ 7 мм) (n=16)	
	Подгруппа Ia (7 мм > M-эхо ≥ 5 мм) (n=42)		Подгруппа Ib (M-эхо < 5 мм) (n=10)			
	Полноценная (n=10)	Неполноценная (n=32)	Полноценная (n=3)	Неполноценная (n=7)	Полноценная (n=16)	
	1	2	3	4	5	
ER в железах	120,0±23,9	204,1±13,4	113,3±47,0	222,8±25,7	113,7±8,3	p ₁₋₂ =0,0004 p ₁₋₃ =0,9 p ₁₋₄ =0,01 p ₁₋₅ =0,8 p ₂₋₃ =0,04 p ₂₋₄ =0,5 p ₂₋₅ =4*10 ⁻⁵ p ₃₋₄ =0,04 p ₃₋₅ =1,0 p ₄₋₅ =3*10 ⁻⁵
ER в строме	123,0±21,9	173,7±14,3	120,0±17,3	178,6±32,0	80,6±8,7	p ₁₋₂ =0,08 p ₁₋₃ =0,9 p ₁₋₄ =0,1 p ₁₋₅ =0,05 p ₂₋₃ =0,3 p ₂₋₄ =0,9 p ₂₋₅ =6*10 ⁻⁵ p ₃₋₄ =0,3 p ₃₋₅ =0,1 p ₄₋₅ =6*10 ⁻⁴
PR в железах	50,0±30,1	234,4±12,3	100,0±100,0	201,4±43,4	28,1±2,4	p ₁₋₂ =1*10 ⁻⁸ p ₁₋₃ =0,5 p ₁₋₄ =0,009 p ₁₋₅ =0,4 p ₂₋₃ =0,009 p ₂₋₄ =0,3 p ₂₋₅ =1*10 ⁻⁷ p ₃₋₄ =0,03 p ₃₋₅ =0,1 p ₄₋₅ =4*10 ⁻⁶
PR в строме	249,0±18,2	269,7±5,0	283,3±3,3	268,6±5,9	285,0±1,8	p ₁₋₂ =0,1 p ₁₋₃ =0,3 p ₁₋₄ =0,4 p ₁₋₅ =0,1 p ₂₋₃ =0,4 p ₂₋₄ =0,9 p ₂₋₅ =0,06 p ₃₋₄ =0,2 p ₃₋₅ =0,7 p ₄₋₅ =0,2

Здоровые фертильные женщины имели полноценный вариант гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии (ИФТ-1) [5]. У женщин с различными вариантами гипопластического эндометрия такие же варианты экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона имела каждая пятая участница – 21% (n=9 из 42) женщин с «тонким» эндометрием (М-эхо 5-7 мм) и 20% (n=2 из 10) женщин с «абсолютно тонким» эндометрием (М-эхо <5 мм). Остальные участницы исследования (79% женщин (n=33 из 42) и 80% женщин (n=8 из 10) соответственно) имели отличные от здоровых женщин варианты гормонально-рецепторных взаимодействий в слизистой тела матки (ИФТ-2,3,4).

Экспрессия прогестероновых рецепторов в строме слизистой тела матки достоверно не отличалась во всех исследуемых когортах женщин ($p>0,05$). По остальным показателям экспрессии рецепторов половых стероидов были выявлены существенные различия у женщин с нарушенным эндометриальным «ответом» (ИФТ-2,3,4) от пациенток с различной толщиной гипопластического эндометрия с нормальными гормонально-рецепторными эндометриальными характеристиками (ИФТ-1) и от женщин контрольной группы (ИФТ-1) ($p<0,01$). «Иммуногистохимическая характеристика» слизистой тела матки не отличалась у женщин с синдромом гипопластического эндометрия и нарушениями репродуктивной функции в анамнезе, имеющих полноценные гормонально-рецепторные взаимодействия в эндометрии, и у здоровых женщин ($p>0,05$) (таблица 19).

Таблица 19 – Показатели счета рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) в эндометрии (6-8 д.п.о.) у женщин с различной толщиной гипопластического эндометрия, включенных в исследование, в соотношении с характером гормонально-рецепторного статуса эндометрия

Группы Варианты ИФТ Показатели (6-8 д.п.о.)	M±m					p
	Основная группа (n=52)				Группа контроля (M-эхо ≥ 7 мм) (n=16)	
	Подгруппа Ia (7 мм > M-эхо ≥ 5 мм) (n=42)		Подгруппа Ib (M-эхо < 5 мм) (n=10)			
	ИФТ-1 (n=9)	ИФТ-2,3,4 (n=33)	ИФТ-1 (n=2)	ИФТ-2,3,4 (n=8)	ИФТ-1 (n=16)	
	1	2	3	4	5	
ER в железах	92,2±13,3	209,1±12,8	85,0±35,0	216,2±23,2	113,7±8,3	p ₁₋₂ =5*10 ⁻⁵ p ₁₋₃ =0,8 p ₁₋₄ =2*10 ⁻⁴ p ₁₋₅ =0,2 p ₂₋₃ =0,02 p ₂₋₄ =0,8 p ₂₋₅ =1*10 ⁻⁵ p ₃₋₄ =0,03 p ₃₋₅ =0,3 p ₄₋₅ =4*10 ⁻⁵
ER в строме	110,0±20,1	175,7±14,1	105,0±15,0	175,0±27,9	80,6±8,7	p ₁₋₂ =0,03 p ₁₋₃ =0,9 p ₁₋₄ =0,04 p ₁₋₅ =0,1 p ₂₋₃ =0,02 p ₂₋₄ =0,9 p ₂₋₅ =4*10 ⁻⁵ p ₃₋₄ =0,04 p ₃₋₅ =0,3 p ₄₋₅ =5*10 ⁻⁴
PR в железах	32,2±12,4	233,6±13,4	0	213,7±39,6	28,1±2,4	p ₁₋₂ =1*10 ⁻⁷ p ₁₋₃ =0,3 p ₁₋₄ =4*10 ⁻⁴ p ₁₋₅ =0,7 p ₂₋₃ =2*10 ⁻⁴ p ₂₋₄ =0,5 p ₂₋₅ =1*10 ⁻⁷ p ₃₋₄ =0,01 p ₃₋₅ =0,1 p ₄₋₅ =1*10 ⁻⁶
PR в строме	245,5±20,0	270,0±4,9	285,0±5,0	270,0±5,3	285,0±1,8	p ₁₋₂ =0,1 p ₁₋₃ =0,4 p ₁₋₄ =0,3 p ₁₋₅ =0,06 p ₂₋₃ =0,4 p ₂₋₄ =1,0 p ₂₋₅ =0,05 p ₃₋₄ =0,2 p ₃₋₅ =1,0 p ₄₋₅ =0,07

Одновременный анализ результатов гормонального обследования, показателей ультразвукового исследования органов малого таза и комплексного гистологического и иммуногистохимического методов исследования биоптатов эндометрия позволяет получить более точные данные о полноценности процессов фазовой трансформации эндометрия и гормонально-рецепторного эндометриального взаимодействия у женщин с нарушениями фертильности неясного генеза в анамнезе и сопоставить эти данные с толщиной слизистой тела матки. Недостаточная величина М-эхо в преовуляторный период (менее 7 мм) по результатам трансвагинального ультразвукового исследования не всегда является главенствующей характеристикой слизистой тела матки в контексте нарушений репродуктивной функции, не всегда предопределяет отличия в экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов от здоровых женщин. У каждой пятой пациентки с гипопластической слизистой оболочкой матки с репродуктивными дисфункциями в анамнезе гистологические характеристики эндометрия и показатели экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона в слизистой тела матки были сходны со здоровыми женщинами.

3.3.2.2 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии у женщин, включенных в исследование, в соотношении с различной функциональной активностью желтого тела яичника

Был проведен сравнительный анализ показателей счета рецепторов эстрогенов и прогестерона при различной функциональной активности желтого тела яичника.

Все женщины, включенные в исследование, имели нормальные уровни эстрадиола и прогестерона. Результаты исследования уровней половых стероидов в периферической крови представлены в главе 3, раздел 3.2, таблица 7.

По данным литературы, уровень прогестерона в периферической крови (на 6-8-й день после овуляции), свидетельствующий о высокой функциональной активности желтого тела яичника, – 30 нмоль/л и более [113]. Нижняя граница овуляторного уровня прогестерона в периферической крови на 6-8 день после овуляции в нашем исследовании была 16,1 нмоль/л в соответствии с референсными значениями тест-системы Beckman Coulter (США).

В основной группе 65% женщин (n=34 из 52) имели высокую функциональную активность желтого тела яичника, у 35% участниц (n=18 из 52) уровень прогестерона в периферической крови в цикле проведения биопсии эндометрия был ниже 30 нмоль/л. В группе сравнения у 74% женщин (n=46 из 62) отмечалась высокая функциональная активность желтого тела яичника, а у 26% женщин (n=16 из 62) – невысокая. В контрольной группе распределение женщин с невысокой/высокой функциональной активностью желтого тела яичника было примерно одинаковым (44% (n=7 из 16) и 56% (n=9 из 16), соответственно).

Пациентки всех групп были разделены на когорты в зависимости от высокой или невысокой активности желтого тела яичника для оценки экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии (таблица 20).

Таблица 20 - Показатели счета рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) в эндометрии (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, при различной функциональной активности желтого тела яичника

Группы Показатели (6-8 д.п.о.)	M±m					
	Основная группа M-эхо <7 мм (n=52)		Группа сравнения M-эхо ≥7 мм (n=62)		Группа контроля M-эхо ≥7 мм (n=16)	
	P <30 нмоль/л (n=18)	P ≥30 нмоль/л (n=34)	P <30 нмоль/л (n=16)	P ≥30 нмоль/л (n=46)	P <30 нмоль/л (n=7)	P ≥30 нмоль/л (n=9)
	1	2	3	4	5	6
ER в железах	166,1±19,7	195,3±14,0	186,9±20,7	175,9±12,1	114,3±6,8	113,3±14,1
p	p ₁₋₂ =0,2; p ₁₋₃ =0,5; p ₁₋₄ =0,1; p ₁₋₅ =0,1; p ₁₋₆ =0,09; p ₂₋₃ =0,7; p ₂₋₄ =0,3; p ₂₋₅ =0,01; p ₂₋₆ =0,006; p ₃₋₄ =0,6; p ₃₋₅ =0,03; p ₃₋₆ =0,02; p ₄₋₅ =0,04; p ₄₋₆ =0,03; p ₅₋₆ =0,9					
ER в строме	152,8±19,2	166,2±13,4	153,7±20,1	163,5±11,4	82,8±11,3	78,9±13,3
p	p ₁₋₂ =0,6; p ₁₋₃ =0,9; p ₁₋₄ =0,6; p ₁₋₅ =0,04; p ₁₋₆ =0,02; p ₂₋₃ =0,6; p ₂₋₄ =0,9; p ₂₋₅ =0,009; p ₂₋₆ =0,002; p ₃₋₄ =0,7; p ₃₋₅ =0,03; p ₃₋₆ =0,01; p ₄₋₅ =0,009; p ₄₋₆ =0,002; p ₅₋₆ =0,8					
PR в железах	155,0±28,7	203,5±18,3	125,0±33,3	175,2±16,5	30,0±0	26,7±4,4
p	p ₁₋₂ =0,1; p ₁₋₃ =0,5; p ₁₋₄ =0,5; p ₁₋₅ =0,01; p ₁₋₆ =0,004; p ₂₋₃ =0,05; p ₂₋₄ =0,2; p ₂₋₅ =0,0001; p ₂₋₆ =1*10 ⁻⁵ ; p ₃₋₄ =0,1; p ₃₋₅ =0,04; p ₃₋₆ =0,04; p ₄₋₅ =0,001; p ₄₋₆ =0,0002; p ₅₋₆ =0,5					
PR в строме	261,1±6,5	269,1±6,5	280,6±3,1	270,9±4,1	282,8±3,6	286,7±1,7
p	p ₁₋₂ =0,4; p ₁₋₃ =0,1; p ₁₋₄ =0,2; p ₁₋₅ =0,05; p ₁₋₆ =0,06; p ₂₋₃ =0,2; p ₂₋₄ =0,8; p ₂₋₅ =0,3; p ₂₋₆ =0,2; p ₃₋₄ =0,2; p ₃₋₅ =0,7; p ₃₋₆ =0,2; p ₄₋₅ =0,3; p ₄₋₆ =0,1; p ₅₋₆ =0,3					

В основной группе, в группе сравнения и контрольной группе не было выявлено достоверных различий в экспрессии ER, PR в железах и строме эндометрия при различной функциональной активности желтого тела яичника ($p > 0,05$). При данном анализе также не было выявлено достоверных различий в эндометриальной экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов между женщинами основной группы с «тонким» эндометрием и женщинами с нормальной толщиной эндометрия из группы сравнения ($p > 0,05$). Значимые различия наблюдались только между женщинами обеих групп с репродуктивными дисфункциями в анамнезе и контрольной группой по всем показателям ($p < 0,05$), кроме экспрессии PR в строме эндометрия ($p > 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что овуляторное значение прогестерона в периферической крови, высокая функциональная активность

желтого тела яичника ($P \geq 30$ нмоль/л) не определяют адекватную экспрессию рецепторов эстрогенов и прогестерона.

3.3.3 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии лейкемия ингибирующего фактора в эндометрии у женщин, включенных в исследование, в соотношении с результатами гистологического и иммуногистохимического (счет ER, PR) исследований биоптатов слизистой тела матки

У пациенток с различной толщиной эндометрия и репродуктивными дисфункциями в анамнезе, а также у здоровых женщин, оценивали экспрессию лейкемия ингибирующего фактора (LIF) в люминальном эпителии, железах и строме слизистой тела матки. Экспрессию LIF определяли как сниженную (слабое окрашивание или его отсутствие при иммуногистохимическом исследовании) (рисунок 9) или выраженную (выраженное окрашивание при иммуногистохимическом исследовании) (рисунок 10).

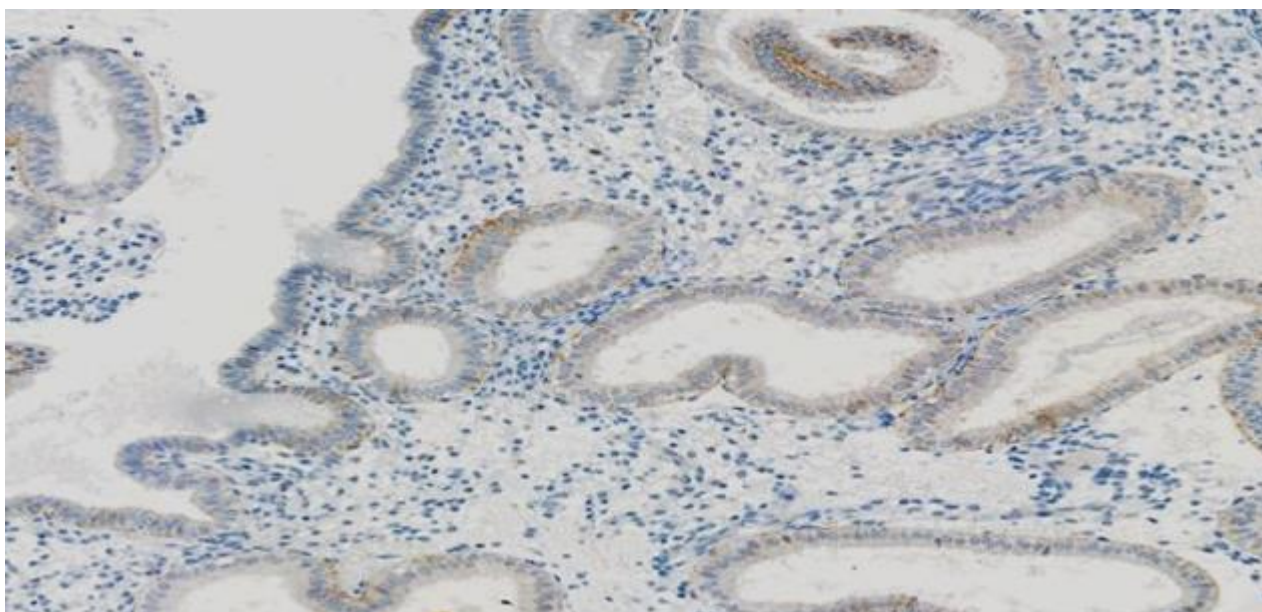


Рисунок 9 – Иммуногистохимическое исследование: сниженная экспрессия LIF в эндометрии (6-8 д.п.о.) ×100 (пациентка М., 2020 г.)

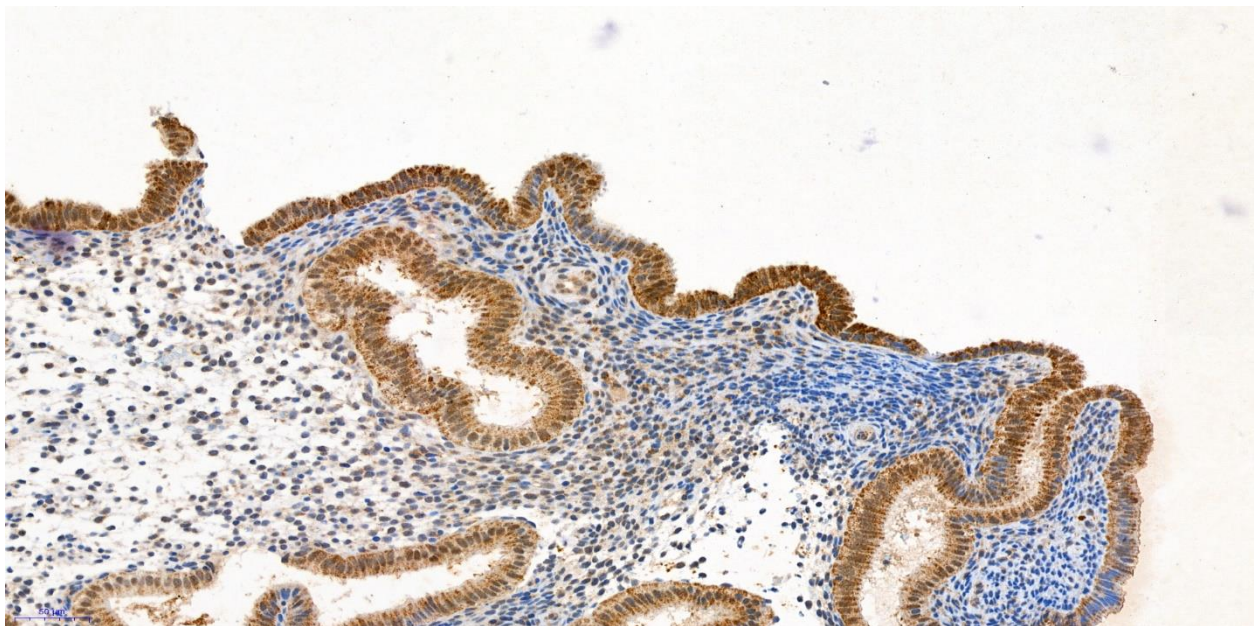


Рисунок 10 – Иммуногистохимическое исследование: выраженная экспрессия LIF в эндометрии (6-8 д.п.о.) $\times 22.2$ (пациентка Р., 2020 г.)

Все пациентки, включенные в исследование, имели нормоэстрогемию (пмоль/л; 6-8 д.п.о.) (I – $595,2 \pm 36,2$; II – $685,9 \pm 40,3$; III – $707,4 \pm 66,1$) и овуляторное значение уровня прогестерона (нмоль/л; 6-8 д.п.о.) в крови (I – $47,7 \pm 3,4$; II – $44,2 \pm 2,6$; III – $39,1 \pm 4,9$). Результаты гормонального обследования участниц исследования представлены в главе 3 (раздел 3.2, таблицы 6 и 7).

Первоначально был проведен сравнительный анализ эндометриальной экспрессии LIF в соотношении с толщиной слизистой оболочки тела матки. В ряде образцов эндометрия, у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе, отсутствовал люминальный эпителий слизистой тела матки, поэтому экспрессия LIF в поверхностном эпителии была оценена у части женщин (данные по количеству образцов представлены в таблице 21).

Таблица 21 – Число эндометриальных образцов, в которых оценивали экспрессию LIF в люминальном эпителии в соотношении с толщиной эндометрия

Группы Экспрессия LIF	Основная группа	Группа сравнения	Группа контроля
Экспрессия LIF в люминальном эпителии			
n (всего женщин)	52	62	16
n (исследованных образцов)	45	45	16

В основной группе (I) женщин с гипопластическим эндометрием достоверно чаще встречалась сниженная экспрессия LIF в люминальном эпителии и в железах эндометрия, чем у женщин из группы сравнения (II) с нормальной толщиной эндометрия и у здоровых женщин из группы контроля (III) ($p < 0,05$). Достоверных различий в экспрессии LIF в люминальном эпителии и железах эндометрия между женщинами из группы сравнения и из группы контроля обнаружено не было ($p > 0,05$).

В строме слизистой оболочки тела матки сниженная экспрессия LIF встречалась достоверно чаще у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе в целом (женщины I и II групп), чем у здоровых фертильных женщин ($p < 0,05$), но без достоверных различий между гипопластическим эндометрием и нормальной по толщине слизистой тела матки ($p > 0,05$).

Данные по характеристикам экспрессии LIF в эндометрии в соотношении с толщиной слизистой тела матки представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Характеристики экспрессии LIF в люминальном эпителии, железах и строме эндометрия (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в соотношении с толщиной эндометрия

Экспрессия LIF	Группы	Основная группа (М-эхо <7 мм), n (%)	Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм), n (%)	Группа контроля (М-эхо ≥7 мм), n (%)	p
		n=52	n=62	n=16	
		1	2	3	
Экспрессия LIF в люминальном эпителии					
n (число образцов эндометрия)		n=45	n=45	n=16	p ₁₋₂ =0,01
Сниженная (0-1/2 1)		17 (38)	7 (16)	1 (6)	p ₁₋₃ =0,01
Выраженная (2/2 0)		28 (62)	38 (84)	15 (94)	p ₂₋₃ =0,3
Экспрессия LIF в железах эндометрия					
n (число образцов эндометрия)		n=52	n=62	n=16	p ₁₋₂ =0,03
Сниженная (0-1/2 1)		17 (33)	12 (19)	1 (6)	p ₁₋₃ = 0,03
Выраженная (2/2 0)		35 (67)	50 (81)	15 (94)	p ₂₋₃ =0,2
Экспрессия LIF в строме эндометрия					
n (число образцов эндометрия)		n=52	n=62	n=16	p ₁₋₂ =0,3
Сниженная (0-1/2 1)		28 (54)	39 (63)	2 (12,5)	p ₁₋₃ = 0,003
Выраженная (2/2 0)		24 (46)	23 (37)	14 (87,5)	p ₂₋₃ =0,0003

Был проведен сравнительный анализ экспрессии LIF в эндометрии в соотношении с гистологическими характеристиками слизистой тела матки.

По результатам гистологического исследования образцов эндометрия у 100% женщин контрольной группы (n=16) была выявлена полноценная секреторная трансформация эндометрия. У каждой четвертой женщины в основной группе (25% женщин (n=13 из 52)) гистологическая характеристика слизистой тела матки была сходна со здоровыми фертильными женщинами из группы контроля. В группе сравнения эндометрий с полноценными секреторными преобразованиями наблюдался у 39% женщин (n=24 из 62). У остальных женщин основной группы и группы сравнения гистологические характеристики эндометрия не соответствовали средней стадии фазы секреции.

У части женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе в сформированных ТМА-матрицах отсутствовал люминальный эпителий. Число женщин, у которых в биоптатах эндометрия определяли экспрессию LIF в

поверхностном эпителии в соотношении с гистологическими характеристиками эндометрия, представлено в таблице 23.

Таблица 23 – Число эндометриальных образцов, в которых оценивали экспрессию LIF в люминальном эпителии в соотношении с гистологическими характеристиками эндометрия (полноценная/неполноценная среднесекреторная трансформация)

Группы Экспрессия LIF	Основная группа		Группа сравнения		Группа контроля
	n=52		n=62		n=16
	Полноценная	Неполноценная	Полноценная	Неполноценная	Полноценная
Экспрессия LIF в люминальном эпителии					
n (всего женщин)	13	39	24	38	16
n (исследованных образцов)	11	34	20	25	16

В люминальном эпителии сниженная экспрессия LIF достоверно чаще встречалась у женщин с «тонким» эндометрием, чем у женщин из группы контроля ($p < 0,05$). Сходная ситуация в экспрессии данного протеомного маркера наблюдалась почти в половине случаев при сравнении эндометриальных биоптатов от женщин с «тонким» эндометрием (основная группа – I) и с нормальной толщиной слизистой оболочки тела матки (у женщин из группы сравнения – II). В основной группе и группе сравнения не было выявлено достоверных различий в экспрессии LIF в поверхностном эпителии при полноценных и неполноценных преобразованиях слизистой тела матки ($p > 0,05$).

В железах эндометрия, независимо от результатов гистологического исследования, у женщин с гипопластическим эндометрием сниженная экспрессия LIF встречалась достоверно чаще, чем у здоровых фертильных женщин ($p < 0,05$).

Сниженная экспрессия LIF в строме слизистой оболочки тела матки достоверно чаще отмечалась у женщин с нарушениями репродуктивной функции в целом (независимо от толщины эндометрия), чем у здоровых женщин ($p < 0,05$).

Данные по характеристикам эндометриальной экспрессии LIF в соотношении с результатами гистологического исследования представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Характеристики экспрессии LIF в люминальном эпителии, железах и строме эндометрия (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в соотношении с гистологическими характеристиками эндометрия (полноценная/неполноценная среднесекреторная трансформация)

Группы / полноценность секреторных преобразований Экспрессия LIF / p	Основная группа, n (%)		Группа сравнения, n (%)		Группа контроля, n (%)
	n=52		n=62		n=16
	Полно- ценная (n=13)	Неполно- ценная (n=39)	Полно- ценная (n=24)	Неполно- ценная (n=38)	Полно- ценная (n=16)
	1	2	3	4	5
Экспрессия LIF в люминальном эпителии					
n (число образцов эндометрия)	n=11	n=34	n=20	n=25	n=16
Сниженная (0-1/2 1)	5 (45)	12 (35)	4 (20)	3 (12)	1 (6)
Выраженная (2/2 0)	6 (55)	22 (65)	16 (80)	22 (88)	15 (94)
p	p ₁₋₂ =0,5; p ₁₋₃ =0,1; p ₁₋₄ =0,02; p ₁₋₅ =0,01; p ₂₋₃ =0,2; p ₂₋₄ =0,04; p ₂₋₅ =0,03; p ₃₋₄ =0,5; p ₃₋₅ =0,2; p ₄₋₅ =0,5				
Экспрессия LIF в железах эндометрия					
n (число образцов эндометрия)	n=13	n=39	n=24	n=38	n=16
Сниженная (0-1/2 1)	4 (31)	13 (33)	5 (21)	7 (18)	1 (6)
Выраженная (2/2 0)	9 (69)	26 (67)	19 (79)	31 (82)	15 (94)
p	p ₁₋₂ =0,9; p ₁₋₃ =0,5; p ₁₋₄ =0,3; p ₁₋₅ =0,04; p ₂₋₃ =0,3; p ₂₋₄ =0,1; p ₂₋₅ =0,04; p ₃₋₄ =0,8; p ₃₋₅ =0,2; p ₄₋₅ =0,3				
Экспрессия LIF в строме эндометрия					
n (число образцов эндометрия)	n=13	n=39	n=24	n=38	n=16
Сниженная (0-1/2 1)	11 (85)	17 (44)	18 (75)	21 (55)	2 (12,5)
Выраженная (2/2 0)	2 (15)	22 (56)	6 (25)	17 (45)	14 (87,5)
p	p ₁₋₂ =0,07; p ₁₋₃ =0,5; p ₁₋₄ =0,06; p ₁₋₅ =0,01; p ₂₋₃ =0,06; p ₂₋₄ =0,3; p ₂₋₅ =0,03; p ₃₋₄ =0,1; p ₃₋₅ =0,0001; p ₄₋₅ =0,004				

Сравнительный анализ эндометриальной экспрессии LIF проводился в соотношении с результатами иммуногистохимического исследования (экспрессия ER, PR) биоптатов слизистой оболочки тела матки.

У всех женщин контрольной группы определяли полноценные эндометриальные гормонально-рецепторные взаимодействия (ИФТ-1) с низкой экспрессией ER, PR в железах эндометрия, высокой экспрессией PR в строме и снижением экспрессии ER в строме слизистой тела матки [5]. Показатели счета

рецепторов эстрогенов и прогестерона, сходные с женщинами контрольной группы, имели 21% (n=11 из 52) женщин основной группы и 32% (n=20 из 62) женщин из группы сравнения. Остальные участницы основной группы и группы сравнения имели отличные от группы контроля характеристики эндометриальной экспрессии ER, PR (ИФТ-2,3,4).

Оценивали экспрессию LIF в слизистой оболочке тела матки в соотношении с величиной М-эхо и вариантом гормонально-рецепторных характеристик эндометрия.

В части эндометриальных биоптатов у женщин с репродуктивными дисфункциями после формирования ТМА-матриц отсутствовал поверхностный эпителий эндометрия. Число образцов эндометрия, в которых оценивали экспрессию LIF в люминальном эпителии в соотношении с экспрессией ER, PR представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Число эндометриальных образцов, в которых оценивали экспрессию LIF в люминальном эпителии в соотношении с характеристиками гормонально-рецепторного статуса эндометрия

Группы Экспрессия LIF	Основная группа		Группа сравнения		Группа контроля
	n=52		n=62		n=16
	ИФТ-1 (n=11)	ИФТ-2,3,4 (n=41)	ИФТ-1 (n=20)	ИФТ-2,3,4 (n=42)	ИФТ-1 (n=16)
Экспрессия LIF в люминальном эпителии					
n (всего женщин)	11	41	20	42	16
n (исследованных образцов)	10	35	15	30	16

В люминальном эпителии сниженную экспрессию LIF достоверно чаще определяли у женщин с гипопластическим эндометрием (независимо от варианта гормонально-рецепторных характеристик слизистой тела матки), чем у женщин контрольной группы ($p < 0,05$). Сходная ситуация с экспрессией данного протеомного маркера отмечена у женщин с «тонким» эндометрием (I группа) при различных вариантах экспрессии рецепторов половых стероидов и у женщин из

группы сравнения с нормальной толщиной эндометрия при экспрессии ER, PR отличной от здоровых женщин ($p < 0,05$).

Сниженная экспрессия LIF в эндометриальных железах была выявлена достоверно чаще у женщин основной группы с гипопластическим эндометрием и нормальным вариантом экспрессии ER, PR, чем у здоровых женщин из группы контроля. Сходная ситуация в экспрессии LIF в железах слизистой тела матки была выявлена у женщин с гипопластическим эндометрием и нормальной экспрессией эстрогеновых и прогестероновых рецепторов и у женщин из группы сравнения с нарушенным эндометриальным «ответом» (ИФТ-2,3,4).

Сниженную экспрессию LIF в строме эндометрия достоверно чаще определяли у женщин с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе, чем у здоровых фертильных женщин, независимо от толщины эндометрия и экспрессии ER, PR в слизистой тела матки ($p < 0,05$).

Характеристики экспрессии LIF в соотношении с гормонально-рецепторным статусом эндометрия при различной толщине слизистой тела матки представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Характеристики экспрессии LIF в люминальном эпителии, железах и строме эндометрия (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в соотношении с характеристиками гормонально-рецепторного статуса эндометрия

Группы Экспрессия LIF	Основная группа, n (%)		Группа сравнения, n (%)		Группа контроля, n (%)
	n=52		n=62		n=16
	М-эхo <7 мм + ИФТ 1 (n=11)	М-эхo <7 мм + ИФТ 2,3,4 (n=41)	М-эхo ≥7 мм + ИФТ 1 (n=20)	М-эхo ≥7 мм + ИФТ 2,3,4 (n=42)	М-эхo ≥7 мм + ИФТ 1 (n=16)
	1	2	3	4	5
Экспрессия LIF в люминальном эпителии					
n (число образцов эндометрия)	n=10	n=35	n=15	n=30	n=16
Сниженная (0-1/2 1)	6 (60)	11 (31)	4 (27)	3 (10)	1 (6)
Выраженная (2/2 0)	4 (40)	24 (69)	11 (73)	27 (90)	15 (94)
p	p ₁₋₂ =0,09; p ₁₋₃ =0,09; p ₁₋₄ =0,001; p ₁₋₅ =0,003; p ₂₋₃ =0,8; p ₂₋₄ =0,04; p ₂₋₅ =0,04; p ₃₋₄ =0,1; p ₃₋₅ =0,1; p ₄₋₅ =0,7				
Экспрессия LIF в железах эндометрия					
n (число образцов эндометрия)	n=11	n=41	n=20	n=42	n=16
Сниженная (0-1/2 1)	5 (46)	12 (29)	5 (25)	7 (17)	1 (6)
Выраженная (2/2 0)	6 (54)	29 (71)	15 (75)	35 (83)	15 (94)
p	p ₁₋₂ =0,3; p ₁₋₃ =0,2; p ₁₋₄ =0,04; p ₁₋₅ =0,02; p ₂₋₃ =0,7; p ₂₋₄ =0,2; p ₂₋₅ =0,06; p ₃₋₄ =0,4; p ₃₋₅ =0,1; p ₄₋₅ =0,3				
Экспрессия LIF в строме эндометрия					
n (число образцов эндометрия)	n=11	n=41	n=20	n=42	n=16
Сниженная (0-1/2 1)	6 (55)	22 (54)	13 (65)	26 (62)	2 (12,5)
Выраженная (2/2 0)	5 (45)	19 (46)	7 (35)	16 (38)	14 (87,5)
p	p ₁₋₂ =0,9; p ₁₋₃ =0,6; p ₁₋₄ =0,6; p ₁₋₅ =0,02; p ₂₋₃ =0,4; p ₂₋₄ =0,5; p ₂₋₅ =0,004; p ₃₋₄ =0,8; p ₃₋₅ =0,001; p ₄₋₅ =0,0007				

Для более детального изучения экспрессии LIF в соотношении с толщиной эндометрия, пациентки были поделены на подгруппы в зависимости от соответствия/несоответствия вариантов экспрессии рецепторов половых стероидов в слизистой оболочке тела матки и фазовой трансформации эндометрия.

У всех женщин контрольной группы (n=16) в 100% случаев были выявлены нормальные эндометриальные гормонально-рецепторные взаимодействия и средняя стадия фазы секреции. В ряде случаев у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе были выявлены несоответствия гистологических характеристик эндометрия и показателей эндометриальной экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона. При полноценной фазовой трансформации эндометрия были выявлены отличные от здоровых женщин варианты экспрессии ER, PR – в 15% случаев (n=2 из 13) в основной группе и в 33% случаев (n=8 из 24) в группе сравнения. И наоборот, была когорта женщин с репродуктивными дисфункциями, у которых при неполноценных гистологических характеристиках эндометрия определяли экспрессию рецепторов половых стероидов, сходную с женщинами из группы контроля (в основной группе – 3% (n=1 из 39), в группе сравнения – 10% (n=4 из 38)) (раздел 3.3.2.1., таблицы 13, 14).

Характеристики экспрессии LIF в соотношении с толщиной эндометрия, вариантами гормонально-рецепторных характеристик слизистой тела матки и гистологическим заключением представлены в таблице 27.

В части сформированных TMA-матриц у женщин с нарушениями репродукции в анамнезе отсутствовал люминальный эпителий. В изученных эндометриальных образцах, содержащих поверхностный эпителий, в 82% случаев (n=37 из 45) у женщин с гипопластическим эндометрием достоверно чаще встречалась сниженная экспрессия LIF, чем у женщин из группы контроля ($p < 0,05$). У остальных 18% женщин (n=8 из 45 образцов с люминальным эпителием) наблюдалась сходная с группой контроля экспрессия LIF. Не было выявлено достоверных различий в экспрессии LIF в люминальном эпителии между женщинами из группы сравнения и здоровыми женщинами из группы контроля ($p > 0,05$) (таблица 27).

В эндометриальных железах сниженная экспрессия LIF была выявлена в 81% случаев (n=42 из 52) у женщин с гипопластическим эндометрием, что было достоверно чаще, чем у женщин в контрольной группе ($p < 0,05$). У 19% участниц (n=10 из 52) с гипопластическим эндометрием, у которых характеристики

слизистой тела матки (экспрессия ER, PR; полноценная фазовая трансформация эндометрия) были сходны с группой контроля, экспрессия LIF в железах эндометрия не отличалась от здоровых женщин ($p > 0,05$) (таблица 27).

У всех участниц с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе (женщины из основной группы и группы сравнения) достоверно чаще определяли сниженную экспрессию LIF в строме эндометрия, чем у здоровых женщин ($p < 0,05$). Также сниженная экспрессия LIF в строме слизистой оболочки тела матки достоверно чаще была выявлена у женщин с «тонким» эндометрием, неполноценной секреторной трансформацией и неадекватными вариантами экспрессии ER, PR, чем у женщин группы сравнения с нормальной толщиной эндометрия и полноценной фазовой трансформацией слизистой тела матки (таблица 27).

Таблица 27 – Характеристики экспрессии LIF в люминальном эпителии, железах и строме эндометрия у женщин (6-8 д.п.о.), включенных в исследование, в соотношении с вариантами гормонально-рецепторного статуса эндометрия и гистологическими характеристиками (полноценная/неполноценная среднесекреторная трансформация)

Группы	Основная группа, n (%)				Группа сравнения, n (%)				Группа контроля, n (%)
	n=52				n=62				n=16
	М-эхо <7 мм + ИФТ1 + полноцен. (n=10)	М-эхо <7 мм + ИФТ2,3,4 + неполноцен (n=38)	М-эхо <7 мм + ИФТ1 + неполноцен. (n=1)	М-эхо <7 мм + ИФТ2,3,4 + полноцен (n=3)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ1 + полноцен. (n=16)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ2,3,4 + неполноцен (n=34)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ1 + неполноцен. (n=4)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ2,3,4 + полноцен (n=8)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 1 + полноцен (n=16)
Экспрессия LIF	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Экспрессия LIF в люминальном эпителии									
n	n=8	n=33	n=1	n=3	n=14	n=23	n=2	n=6	n=16
Сниженная (0-1/2 1)	3 (38)	11 (33)	1 (100)	2 (67)	2 (14)	3 (13)	0 (0)	2 (33)	1 (6)
Выраженная (2/2 0)	5 (62)	22 (67)	0 (0)	1 (33)	12 (86)	20 (87)	2 (100)	4 (67)	15 (94)
p	p ₁₋₂ =0,8; p ₁₋₃ =0,2; p ₁₋₄ =0,4; p ₁₋₅ =0,2; p ₁₋₆ =0,1; p ₁₋₇ =0,3; p ₁₋₈ =0,8; p ₁₋₉ =0,06; p ₂₋₃ =0,1; p ₂₋₄ =0,2; p ₂₋₅ =0,1; p ₂₋₆ =0,08; p ₂₋₇ =0,3; p ₂₋₈ =1,0; p ₂₋₉ =0,04; p ₃₋₄ =0,5; p ₃₋₅ =0,03; p ₃₋₆ =0,02; p ₃₋₇ =0,08; p ₃₋₈ =0,2; p ₃₋₉ =0,005; p ₄₋₅ =0,04; p ₄₋₆ =0,02; p ₄₋₇ =0,1; p ₄₋₈ =0,3; p ₄₋₉ =0,008; p ₅₋₆ =0,9; p ₅₋₇ =0,6; p ₅₋₈ =0,3; p ₅₋₉ =0,5; p ₆₋₇ =0,6; p ₆₋₈ =0,2; p ₆₋₉ =0,5; p ₇₋₈ =0,3; p ₇₋₉ =0,7; p ₈₋₉ =0,1								
Экспрессия LIF в железах эндометрия									
n	n=10	n=38	n=1	n=3	n=16	n=34	n=4	n=8	n=16
Сниженная (0-1/2 1)	2 (20)	12 (32)	1 (100)	2 (67)	4 (24)	5 (15)	2 (50)	1 (12,5)	1 (6)
Выраженная (2/2 0)	8 (80)	26 (68)	0 (0)	1 (33)	12 (75)	29 (85)	2 (50)	7 (87,5)	15 (94)
p	p ₁₋₂ =0,4; p ₁₋₃ =0,08; p ₁₋₄ =0,1; p ₁₋₅ =0,7; p ₁₋₆ =0,7; p ₁₋₇ =0,3; p ₁₋₈ =0,7; p ₁₋₉ =0,3; p ₂₋₃ =0,1; p ₂₋₄ =0,2; p ₂₋₅ =0,6; p ₂₋₆ =0,09; p ₂₋₇ =0,5; p ₂₋₈ =0,3; p ₂₋₉ =0,04; p ₃₋₄ =0,5; p ₃₋₅ =0,1; p ₃₋₆ =0,02; p ₃₋₇ =0,4; p ₃₋₈ =0,04; p ₃₋₉ =0,005; p ₄₋₅ =0,1; p ₄₋₆ =0,02; p ₄₋₇ =0,6; p ₄₋₈ =0,07; p ₄₋₉ =0,008; p ₅₋₆ =0,4; p ₅₋₇ =0,3; p ₅₋₈ =0,4; p ₅₋₉ =0,1; p ₆₋₇ =0,08; p ₆₋₈ =0,8; p ₆₋₉ =0,4; p ₇₋₈ =0,1; p ₇₋₉ =0,02; p ₈₋₉ =0,6								
Экспрессия LIF в строме эндометрия									
n	n=10	n=38	n=1	n=3	n=16	n=34	n=4	n=8	n=16
Сниженная (0-1/2 1)	8 (80)	16 (42)	1 (100)	3 (100)	11 (69)	18 (53)	3 (75)	7 (87,5)	2 (12,5)
Выраженная (2/2 0)	2 (20)	22 (58)	0 (0)	0 (0)	5 (31)	16 (47)	1 (25)	1 (12,5)	14 (87,5)
p	p ₁₋₂ =0,03; p ₁₋₃ =0,6; p ₁₋₄ =0,4; p ₁₋₅ =0,5; p ₁₋₆ =0,1; p ₁₋₇ =0,8; p ₁₋₈ =0,7; p ₁₋₉ =0,0006; p ₂₋₃ =0,2; p ₂₋₄ =0,04; p ₂₋₅ =0,07; p ₂₋₆ =0,3; p ₂₋₇ =0,2; p ₂₋₈ =0,02; p ₂₋₉ =0,03; p ₃₋₄ =1,0; p ₃₋₅ =0,5; p ₃₋₆ =0,3; p ₃₋₇ =0,6; p ₃₋₈ =0,7; p ₃₋₉ =0,03; p ₄₋₅ =0,3; p ₄₋₆ =0,1; p ₄₋₇ =0,3; p ₄₋₈ =0,5; p ₄₋₉ =0,002; p ₅₋₆ =0,3; p ₅₋₇ =0,8; p ₅₋₈ =0,3; p ₅₋₉ =0,001; p ₆₋₇ =0,4; p ₆₋₈ =0,07; p ₆₋₉ =0,006; p ₇₋₈ =0,6; p ₇₋₉ =0,01; p ₈₋₉ =0,0003								

При детальном делении участниц исследования на подгруппы в зависимости от варианта экспрессии рецепторов половых стероидов и полноценности/неполноценности фазовой трансформации эндометрия были выявлены достоверные различия в эндометриальной экспрессии LIF. У большинства женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе значительно чаще была определена сниженная экспрессия LIF в слизистой тела матки, чем у здоровых фертильных женщин из группы контроля. Вероятно, сниженная эндометриальная экспрессия LIF у женщин с синдромом гипопластического эндометрия (80%) имеет значение для нарушения фертильности в анамнезе.

У каждой пятой участницы с «тонким» эндометрием (20% (n=10 из 52) показатели экспрессии ER, PR и данные гистологического исследования были сходны с женщинами из группы контроля. Экспрессия LIF у данной когорты женщин была такая же, как у здоровых женщин, без достоверных различий. Этот факт является аргументом в пользу возможности беременности в естественном менструальном цикле у небольшого числа женщин с «тонким» эндометрием.

Сочетанное изучение эндометриальных биоптатов иммуногистохимическим и гистологическим методами, в том числе с одновременным изучением экспрессии LIF, дает более глубинные понятия о нарушениях механизмов рецептивности эндометрия.

3.3.4 Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии FOX-белков (FOXA1 и FOXA2) в эндометрии у женщин, включенных в исследование, в соотношении с результатами гистологического и иммуногистохимического (счет ER, PR) исследований биоптатов слизистой тела матки

В эндометриальных биоптатах, полученных от участниц исследования с различной толщиной эндометрия и репродуктивными дисфункциями в анамнезе, а также от здоровых женщин, оценивали экспрессию FOX-белков (FOXA1 и FOXA2). Для оценки экспрессии FOX-белков использовали визуально-оценочную шкалу: экспрессию определяли как сниженную (слабое окрашивание или его отсутствие при иммуногистохимическом исследовании) (FOXA1 и FOXA2 – рисунки 11 и 12) или выраженную (выраженное окрашивание при иммуногистохимическом исследовании) (FOXA1 и FOXA2 – рисунки 13 и 14).

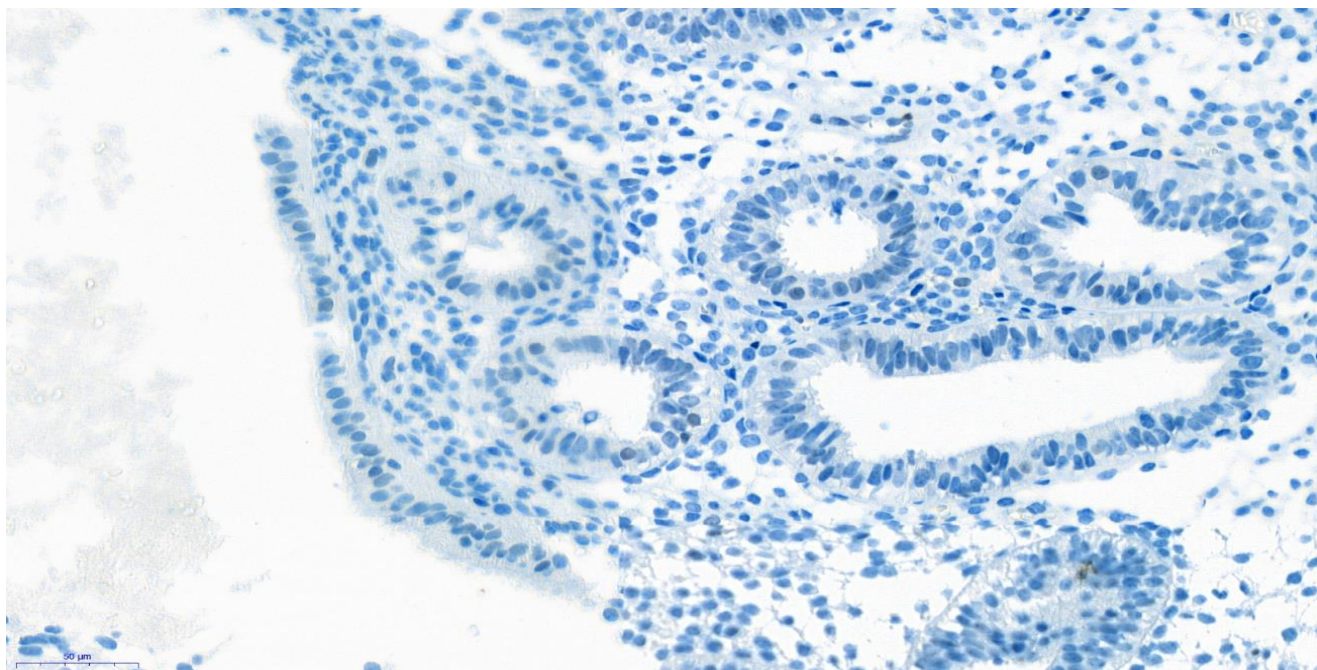


Рисунок 11 – Иммуногистохимическое исследование: сниженная экспрессия FOXA1 в эндометрии (6-8 д.п.о.), $\times 34.4$ (пациентка П., 2021 г.)

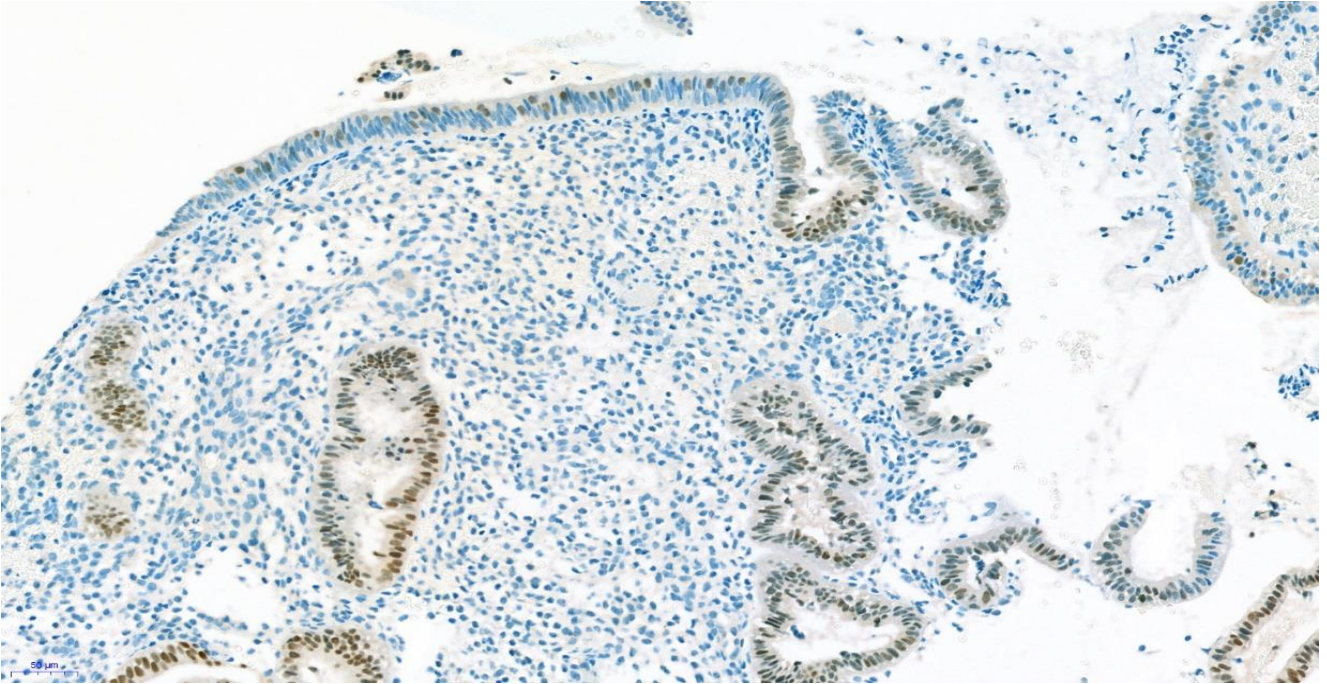


Рисунок 12 – Иммуногистохимическое исследование: сниженная экспрессия FOXA2 в эндометрии (6-8 д.п.о.), $\times 18.8$ (пациентка Ж., 2021 г.)

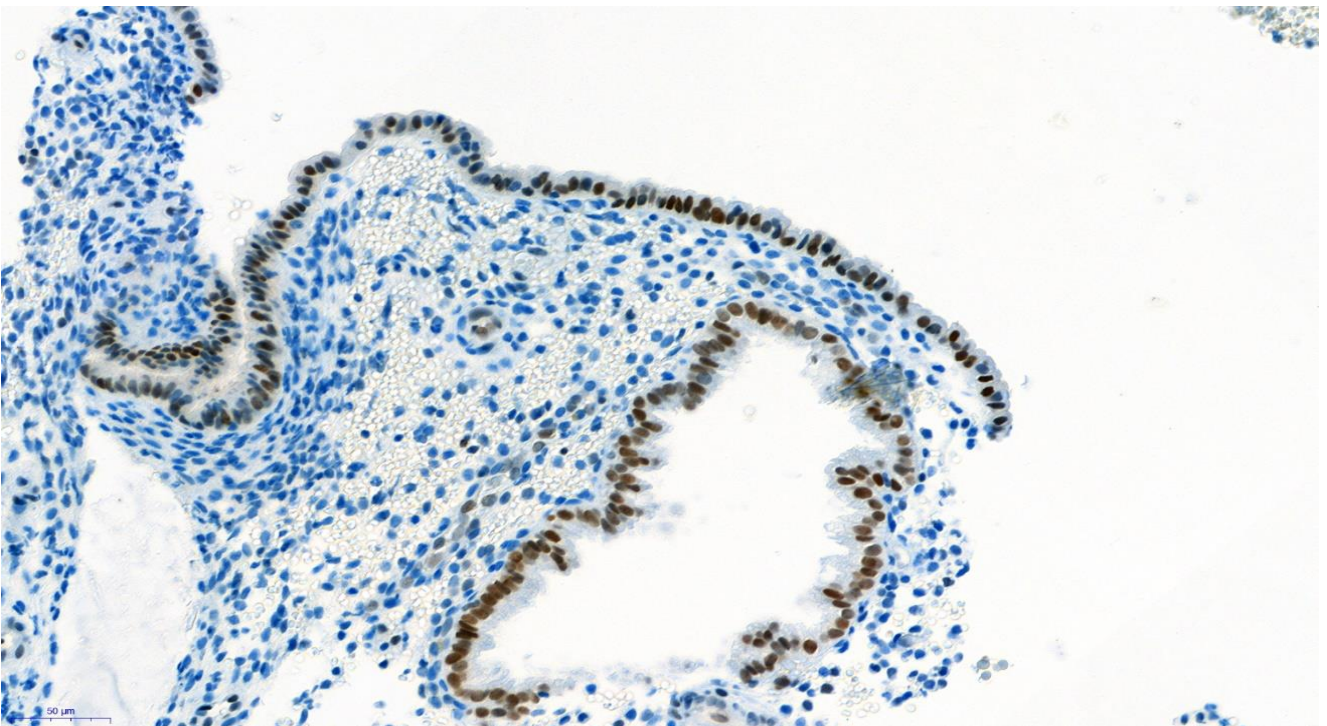


Рисунок 13 – Иммуногистохимическое исследование: выраженная экспрессия FOXA1 в эндометрии (6-8 д.п.о.), $\times 27.9$ (пациентка Д., 2021 г.)

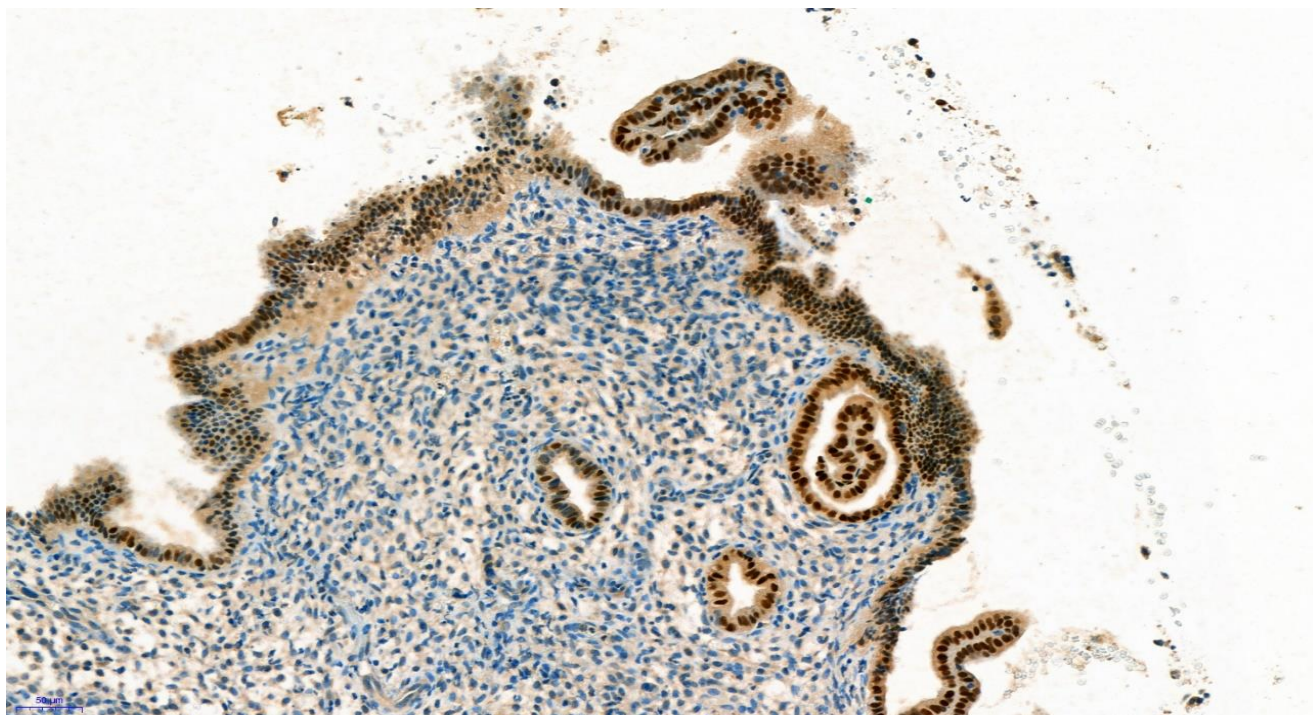


Рисунок 14 – Иммуногистохимическое исследование: выраженная экспрессия FOXA2 в эндометрии (6-8 д.п.о.), $\times 18.6$ (пациентка Т., 2021 г.)

У всех участниц диссертационного исследования в крови были выявлены нормоэстрогенемия (пмоль/л; 6-8 д.п.о.) (I – $595,2 \pm 36,2$; II – $685,9 \pm 40,3$; III – $707,4 \pm 66,1$) и овуляторное значение уровня прогестерона (нмоль/л; 6-8 д.п.о.) (I – $47,7 \pm 3,4$; II – $44,2 \pm 2,6$; III – $39,1 \pm 4,9$). Результаты гормонального обследования женщин, включенных в исследование, представлены в главе 3 (раздел 3.2, таблицы 6 и 7).

Через 6-8 дней после овуляции участницам исследования выполняли аспирационную биопсию, получали образец эндометрия для последующего гистологического и иммуногистохимического исследования (экспрессия ER, PR, FOX-белков). В связи с недостаточным количеством материала в ТМА-матрицах у одной женщины контрольной группы не было возможности оценить экспрессию FOXA1, а еще у одной участницы этой же группы – экспрессию FOXA2.

В 100% образцов эндометрия женщин группы контроля ($n=15$) была выявлена сниженная экспрессия FOXA1 в эндометрии на 6-8 день после овуляции (при длительности менструального цикла 28-30 дней). Данные результаты

позволяют полагать, что в среднюю секреторную фазу цикла в эндометрии в норме происходит снижение экспрессии FOXA1 под воздействием прогестерона, который тормозит дальнейшие процессы пролиферации эндометрия, а также экспрессию эстрогеновых рецепторов в железах и строме слизистой тела матки. Вероятно, наибольшая экспрессия FOXA1 должна определяться в пролиферативную фазу менструального цикла, когда обеспечивается максимально интенсивный процесс взаимодействия молекул эстрадиола с гормон-ответным участком ядерных рецепторов эстрогенов. В 93% случаев (n=14 из 15 исследованных образцов эндометрия) у женщин контрольной группы была выявлена выраженная экспрессия FOXA2 (6-8 д.п.о.).

Был проведен сравнительный анализ экспрессии FOX-белков в эндометрии в соотношении с толщиной слизистой оболочки тела матки.

Выраженная экспрессия FOXA1 (отличная от группы контроля) (6-8 д.п.о.) достоверно чаще была выявлена у женщин с нарушениями репродукции в целом (женщины основной группы и группы сравнения), чем у здоровых фертильных женщин ($p < 0,05$). Не было выявлено достоверных различий в эндометриальной экспрессии FOXA1 (6-8 д.п.о.) между женщинами с гипопластическим эндометрием из основной группы и женщинами из группы сравнения с нормальной толщиной эндометрия ($p > 0,05$).

Сниженная экспрессия FOXA2 (отличная от группы контроля) (6-8 д.п.о.) достоверно чаще была выявлена при гипопластическом эндометрии, чем у женщин с нормальным по толщине эндометрием как из группы сравнения, так и из контрольной группы ($p < 0,05$).

Характеристики эндометриальной экспрессии FOX-белков (6-8 д.п.о.) в соотношении с толщиной эндометрия представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Характеристики эндометриальной экспрессии FOX-белков (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в соотношении с толщиной эндометрия

Экспрессия FOX-белков	Группы	Основная группа, n (%)	Группа сравнения, n (%)	Группа контроля, n (%)	P
		n=52	n=62	n=16	
		1	2	3	
Экспрессия FOX A1					
n (число образцов эндометрия)		n=52	n=62	n=15	p ₁₋₂ =0,1 p ₁₋₃ =0,002 p ₂₋₃ =0,02
Сниженная (0-1)		30 (58)	45 (73)	15 (100)	
Выраженная (2)		22 (42)	17 (27)	0 (0)	
Экспрессия FOX A2					
n (число образцов эндометрия)		n=52	n=62	n=15	p ₁₋₂ =0,0003 p ₁₋₃ =0,0007 p ₂₋₃ =0,9
Сниженная (0-1)		29 (56)	5 (8)	1 (7)	
Выраженная (2)		23 (44)	57 (92)	14 (93)	

У 100% женщин из группы контроля по результатам гистологического исследования была выявлена полноценная секреторная трансформация эндометрия. Сходные гистологические характеристики слизистой тела матки были выявлены у 25% женщин (n=13 из 52) с гипопластическим эндометрием в основной группе и у 39% участниц с нормальной толщиной эндометрия из группы сравнения (n=24 из 62). Остальные женщины основной группы и группы сравнения имели отличные от здоровых женщин характеристики эндометрия, не соответствующие средней стадии фазы секреции (раздел 3.3.1, таблица 9).

Проводили сравнительную оценку эндометриальной экспрессии FOX-белков в соотношении с фазовой трансформацией эндометрия.

У женщин с нарушениями репродуктивной функции (участницы I и II групп) достоверно чаще была выявлена выраженная экспрессия FOXA1 в слизистой тела матки, чем у здоровых фертильных женщин из группы контроля независимо от полноценной/неполноценной трансформации эндометрия (p<0,05). В целом, у 34% (n=39 из 114) женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе была выявлена выраженная эндометриальная экспрессия FOXA1 в отличие от здоровых

женщин. Экспрессия FOXA1 достоверно не отличалась у женщин с анамнезом репродуктивных неудач при гипопластическом эндометрии и у женщин группы сравнения при нормальной толщине слизистой тела матки ($p>0,05$).

У участниц исследования с гипопластическим эндометрием (независимо от гистологических характеристик слизистой оболочки матки) достоверно чаще была выявлена сниженная экспрессия FOXA2 в эндометрии, чем у женщин из группы сравнения и из группы контроля с нормальной толщиной эндометрия ($p<0,05$).

Данные об экспрессии FOX-белков в эндометрии (6-8 д.п.о.) в соотношении с гистологическими характеристиками слизистой тела матки представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Характеристики эндометриальной экспрессии FOX-белков (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в соотношении с гистологическими характеристиками эндометрия (полноценная/неполноценная среднесекреторная трансформация)

Группы Экспрессия FOX-белков	Основная группа, n (%)		Группа сравнения, n (%)		Группа контроля, n (%)	p
	n=52		n=62		n=16	
	Полно- ценная (n=13)	Неполно- ценная (n=39)	Полно- ценная (n=24)	Неполно- ценная (n=38)	Полно- ценная (n=16)	
	1	2	3	4	5	
Экспрессия FOX A1						
n (число образцов эндометрия)	n=13	n=39	n=24	n=38	n=15	
Сниженная (0-1)	8 (62)	22 (56)	18 (75)	27 (71)	15 (100)	p ₁₋₂ =0,7 p ₁₋₃ =0,4 p ₁₋₄ =0,5 p ₁₋₅ =0,008 p ₂₋₃ =0,1
Выраженная (2)	5 (38)	17 (44)	6 (25)	11 (29)	0 (0)	p ₂₋₄ =0,1 p ₂₋₅ =0,002 p ₃₋₄ =0,7 p ₃₋₅ =0,03 p ₄₋₅ =0,02
Экспрессия FOX A2						
n (число образцов эндометрия)	n=13	n=39	n=24	n=38	n=15	
Сниженная (0-1)	10 (77)	19 (49)	3 (12,5)	2 (5)	1 (7)	p ₁₋₂ =0,08 p ₁₋₃ =2*10 ⁻⁵ p ₁₋₄ =1*10 ⁻⁵ p ₁₋₅ =1*10 ⁻⁴ p ₂₋₃ =0,003
Выраженная (2)	3 (23)	20 (51)	21 (87,5)	36 (95)	14 (93)	p ₂₋₄ =1*10 ⁻⁵ p ₂₋₅ =0,004 p ₃₋₄ =0,3 p ₃₋₅ =0,6 p ₄₋₅ =0,8

Ранее (раздел 3.3.2.1) было отмечено, что при иммуногистохимическом исследовании проведена оценка экспрессии рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) в эндометрии. У здоровых женщин были выявлены следующие характеристики экспрессии рецепторов половых стероидов: низкая экспрессия ER, PR в железах, снижение ER в строме, высокая экспрессия PR в строме эндометрия,

что было условно определено как полноценный вариант гормонально-рецепторных характеристик слизистой тела матки (иммунофенотип-1; ИФТ-1) [5]. Сходные показатели экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов имели 21% женщин основной группы (n=11 из 52) и 32% женщин из группы сравнения (n=20 из 62). У большинства женщин с нарушениями репродуктивной функции (79% женщин (n=41) в основной группе и 68% женщин (n=42) из группы сравнения) варианты гормонально-рецепторных характеристик эндометрия отличались от здоровых женщин (была выявлена изолированная или сочетанная гиперэкспрессия стероидных рецепторов в железах и/или строме слизистой тела матки – ИФТ-2,3,4) [5, 9] (раздел 3.3.2.1, таблицы 11 и 12).

Была проведена оценка экспрессии FOX-белков в эндометрии в соотношении с вариантами гормонально-рецепторных характеристик слизистой тела матки.

Число случаев с выраженной экспрессией FOXA1 (отличной от здоровых женщин) в эндометрии на 6-8 день после овуляции было достоверно больше у женщин с «тонким» эндометрием (42%, n=22 из 52) (независимо от варианта экспрессии рецепторов половых стероидов), чем у здоровых женщин из группы контроля (0%, n=0) ($p<0,05$). Также достоверные различия в экспрессии FOXA1 чаще были определены у женщин при сочетании гипопластического эндометрия и ИФТ-2,3,4, чем у женщин группы сравнения с нормальным гормонально-рецепторным ответом эндометрия ($p<0,05$).

В эндометрии сниженную экспрессию FOXA2 (отличную от здоровых женщин) на 6-8 день после овуляции достоверно чаще определили у женщин с «тонким» эндометрием при различных вариантах гормонально-рецепторного ответа (56%, n=29 из 52), чем у женщин с нормальной толщиной эндометрия как из группы сравнения, так и из группы контроля ($p<0,05$).

Данные о характеристиках экспрессии FOX-белков в эндометрии в соотношении с вариантом гормонально-рецепторного ответа в слизистой тела матки представлены в таблице 30.

Таблица 30 – Характеристики эндометриальной экспрессии FOX-белков (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование, в соотношении с характеристиками гормонально-рецепторного статуса эндометрия

Экспрессия FOX-белков	Основная группа, n (%)		Группа сравнения, n (%)		Группа контроля, n (%)	p
	n=52		n=62		n=16	
	М-эхо <7 мм + ИФТ 1 (n=11)	М-эхо <7 мм + ИФТ 2,3,4 (n=41)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 1 (n=20)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 2,3,4 (n=42)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 1 (n=16)	
	1	2	3	4	5	
Экспрессия FOX A1						
n (число образцов эндометрия)	n=11	n=41	n=20	n=42	n=15	
Сниженная (0-1)	8 (73)	22 (54)	17 (85)	28 (67)	15 (100)	p ₁₋₂ =0,2 p ₁₋₃ =0,4 p ₁₋₄ =0,7 p ₁₋₅ =0,03 p ₂₋₃ =0,02
Выраженная (2)	3 (27)	19 (46)	3 (15)	14 (33)	0 (0)	p ₂₋₄ =0,2 p ₂₋₅ =0,001 p ₃₋₄ =0,1 p ₃₋₅ =0,1 p ₄₋₅ =0,01
Экспрессия FOX A2						
n (число образцов эндометрия)	n=11	n=41	n=20	n=42	n=15	
Сниженная (0-1)	6 (53)	23 (56)	1 (5)	4 (9,5)	1 (7)	p ₁₋₂ =0,8 p ₁₋₃ =0,001 p ₁₋₄ =6*10 ⁻⁴ p ₁₋₅ =0,006 p ₂₋₃ =1*10 ⁻⁴
Выраженная (2)	5 (45)	18 (44)	19 (95)	38 (90,5)	14 (93)	p ₂₋₄ =1*10 ⁻⁴ p ₂₋₅ =0,001 p ₃₋₄ =0,5 p ₃₋₅ =0,8 p ₄₋₅ =0,7

Для более подробного изучения характеристик экспрессии FOX-белков в эндометрии, участницы исследования были разделены на подгруппы с учетом гистологических характеристик слизистой оболочки матки и вариантом гормонально-рецепторных характеристик эндометрия. В ряде случаев в основной группе и группе сравнения были выявлены несоответствия показателей экспрессии рецепторов половых стероидов и заключения гистологического исследования. При

полноценной фазовой трансформации эндометрия наблюдалась отличная от здоровых женщин экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона (в основной группе – 15% случаев (n=2 из 13), в группе сравнения – 33% случаев (n=8 из 24)). И наоборот, при неполноценной фазовой трансформации эндометрия были выявлены гормонально-рецепторные взаимодействия в слизистой тела матки, сходные с группой контроля (в основной группе – 3% (n=1 из 39), в группе сравнения – 10% (n=4 из 38)) (раздел 3.3.2.1, таблицы 13 и 14).

Выраженная эндометриальная экспрессия FOXA1 (отличная от здоровых женщин) на 6-8 день после овуляции достоверно чаще была выявлена у женщин с гипопластическим эндометрием (42%, n=22 из 52) при различных сочетаниях вариантов секреторной трансформации эндометрия и экспрессии рецепторов половых стероидов в слизистой тела матки, чем у здоровых фертильных женщин (0%, n=0) ($p<0,05$). Также выраженная экспрессия FOXA1 на 6-8 день после овуляции чаще была выявлена у женщин с гипопластическим эндометрием, чем у некоторых подгрупп участниц с нормальной толщиной слизистой оболочки матки из группы сравнения. В группе сравнения у женщин с репродуктивными дисфункциями и нормальной толщиной эндометрия (при соответствии экспрессии ER, PR и гистологических характеристик эндометрия) чаще была выявлена выраженная экспрессия FOXA1, чем у здоровых женщин из группы контроля ($p<0,05$).

У участниц с «тонким» эндометрием (56%, n=29 из 52) (независимо от варианта гормонально-рецепторных характеристик и фазовой трансформации эндометрия) достоверно чаще определяли сниженную экспрессию FOXA2 (отличную от здоровых женщин) на 6-8 день после овуляции, чем у всех женщин группы сравнения и группы контроля (при нормальной толщине слизистой оболочки тела матки) ($p<0,05$).

Данные о характеристиках эндометриальной экспрессии FOX-белков при разделении на подгруппы представлены в таблице 31.

Таблица 31 – Характеристики эндометриальной экспрессии FOX-белков (6-8 д.п.о.) в соотношении с вариантами гормонально-рецепторного статуса эндометрия и гистологическими характеристиками эндометрия (полноценная/неполноценная среднесекреторная трансформация) у женщин, включенных в исследование

Группы	Основная группа, n (%)				Группа сравнения, n (%)				Группа контроля, n (%)
	n=52				n=62				n=16
	М-эхо <7 мм + ИФТ1 + полноцен. (n=10)	М-эхо <7 мм + ИФТ2,3,4 + неполноцен (n=38)	М-эхо <7 мм + ИФТ1 + неполноцен. (n=1)	М-эхо <7 мм + ИФТ2,3,4 + полноцен (n=3)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ1 + полноцен. (n=16)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ2,3,4 + неполноцен (n=34)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ1 + неполноцен. (n=4)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ2,3,4 + полноцен (n=8)	М-эхо ≥7 мм + ИФТ 1 + полноцен (n=16)
Экспрессия FOX	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Экспрессия FOX A1									
п (число образцов эндометрия)	n=10	n=38	n=1	n=3	n=16	n=34	n=4	n=8	n=15
Сниженная (0-1)	6 (60)	22 (58)	0 (0)	2 (67)	10 (62,5)	23 (68)	4 (100)	8 (100)	15 (100)
Выраженная (2)	4 (40)	16 (42)	1 (100)	1 (33)	6 (37,5)	11 (32)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
p	p ₁₋₂ =0,9; p ₁₋₃ =0,2; p ₁₋₄ =0,8; p ₁₋₅ =0,9; p ₁₋₆ =0,6; p ₁₋₇ =0,1; p ₁₋₈ =0,04; p ₁₋₉ =0,007; p ₂₋₃ =0,2; p ₂₋₄ =0,8; p ₂₋₅ =0,7; p ₂₋₆ =0,4; p ₂₋₇ =0,1; p ₂₋₈ =0,02; p ₂₋₉ =0,003; p ₃₋₄ =0,2; p ₃₋₅ =0,2; p ₃₋₆ =0,2; p ₃₋₇ =0,02; p ₃₋₈ =0,003; p ₃₋₉ =2*10 ⁻⁷ ; p ₄₋₅ =0,9; p ₄₋₆ =0,9; p ₄₋₇ =0,2; p ₄₋₈ =0,09; p ₄₋₉ =0,02; p ₅₋₆ =0,7; p ₅₋₇ =0,1; p ₅₋₈ =0,04; p ₅₋₉ =0,008; p ₆₋₇ =0,2; p ₆₋₈ =0,06; p ₆₋₉ =0,01; p ₇₋₈ =1,0; p ₇₋₉ =1,0; p ₈₋₉ =1,0								
Экспрессия FOX A2									
п (число образцов эндометрия)	n=10	n=38	n=1	n=3	n=16	n=34	n=4	n=8	n=15
Сниженная (0-1)	7 (70)	19 (50)	0 (0)	3 (100)	2 (12,5)	2 (6)	0 (0)	1 (12,5)	1 (7)
Выраженная (2)	3 (30)	50 (19)	1 (100)	0 (0)	14 (87,5)	32 (94)	4 (100)	7 (87,5)	14 (93)
p	p ₁₋₂ =0,2; p ₁₋₃ =0,2; p ₁₋₄ =0,3; p ₁₋₅ =0,003; p ₁₋₆ =1*10 ⁻⁶ ; p ₁₋₇ =0,01; p ₁₋₈ =0,01; p ₁₋₉ =0,0009; p ₂₋₃ =0,04; p ₂₋₄ =0,1; p ₂₋₅ =0,01; p ₂₋₆ =1*10 ⁻⁵ ; p ₂₋₇ =0,04; p ₂₋₈ =0,04; p ₂₋₉ =0,003; p ₃₋₄ =0,03; p ₃₋₅ =0,7; p ₃₋₆ =0,8; p ₃₋₇ =1,0; p ₃₋₈ =0,7; p ₃₋₉ =0,8; p ₄₋₅ =0,002; p ₄₋₆ =1*10 ⁻⁶ ; p ₄₋₇ =0,008; p ₄₋₈ =0,007; p ₄₋₉ =0,0004; p ₅₋₆ =0,4; p ₅₋₇ =0,4; p ₅₋₈ =1,0; p ₅₋₉ =0,6; p ₆₋₇ =0,6; p ₆₋₈ =0,5; p ₆₋₉ =0,9; p ₇₋₈ =0,5; p ₇₋₉ =0,6; p ₈₋₉ =0,6								

В группах участниц с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе (основная группа и группа сравнения) был проведен обобщенный анализ числа случаев с характеристиками экспрессии FOX-белков в эндометрии (6-8 д.п.о.), отличными от здоровых фертильных женщин (выраженная экспрессия FOXA1, сниженная экспрессия FOXA2 или их сочетание). Отличающиеся от группы контроля характеристики экспрессии FOX-белков были выявлены у 71% (n=37 из 52) пациенток с гипопластической слизистой тела матки и у 35,5% (n=22 из 62) участниц с нормальным по толщине эндометрием из группы сравнения. В целом, у каждой второй (50%, n= 57 из 114) женщины с репродуктивными нарушениями в анамнезе имела место отличная от здоровых фертильных женщин эндометриальная экспрессия FOX-белков, но у женщин с гипопластическим эндометрием такие отличия были более, чем в 2/3 случаев.

3.4 Математико-статистическая оценка взаимосвязей клинико-анамнестических данных пациенток, включенных в исследование, и результатов морфологического анализа биоптатов эндометрия

Для оценки ассоциаций и взаимозависимостей между клинико-анамнестическими характеристиками пациенток, включенных в исследование, лабораторно-инструментальными показателями и данными, полученными при изучении биоптатов эндометрия, был проведен дополнительный статистический анализ полученных результатов (персональный компьютер с использованием пакетов прикладных программ MS EXCEL и IBM SPSS 23).

Проведен многофакторный дискриминантный анализ показателей для определения наиболее значимых маркеров нарушения рецептивных свойств эндометрия. В литературе описано [79, 147], что к факторам, которые могут иметь значение для рецептивности слизистой оболочки матки относятся: возраст пациентки, уровни половых стероидов в периферической крови (E_2 , P), толщина эндометрия, наличие воспалительных заболеваний органов малого таза (в том числе, инфекций, передающихся половым путем) в анамнезе, а также наличие внутриматочных вмешательств в анамнезе и их количество.

Первоначально мы определили значение данных факторов, распределив всех участниц исследования по варианту гормонально-рецепторного «ответа» эндометрия (ИФТ-1 и ИФТ-2,3,4) (таблица 32).

Таблица 32 – Результаты многофакторного дискриминантного анализа лабораторных и анамнестических данных пациенток, включенных в исследование, с использованием критерия Манна-Уитни: факторы, существенные для экспрессии ER, PR в эндометрии

№	Показатели	Гормонально-рецепторный «ответ» эндометрия		p
		ИФТ-1	ИФТ-2,3,4	
1.	Возраст	32,9	32,4	0,6
2.	Уровень E ₂ в крови (11-13 д.м.ц.)	598,3	587,3	0,3
3.	Уровень E ₂ в крови (6-8 д.п.о.)	691,5	616	0,1
4.	Уровень P в крови (6-8 д.п.о.)	43,3	46,3	0,2
5.	Инфекции, передающиеся половым путем, в анамнезе	0,2	0,3	0,08
6.	Факт наличия внутриматочного вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,3	0,5	0,3
7.	Повторные (два и более) внутриматочные вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,6	1,01	0,02

Определено, что фактором, значимо влияющим на рецептивность эндометрия (экспрессию ER, PR в слизистой оболочке тела матки), является наличие повторных внутриматочных вмешательств в анамнезе.

Мы уточнили значимость выскабливаний полости матки в анамнезе (в том числе повторных) для эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии, железах и строме, а также для экспрессии FOXA1 и FOXA2 в эндометрии (таблица 33).

Таблица 33 – Результаты многофакторного дискриминантного анализа анамнестических данных пациенток, включенных в исследование, с использованием критерия Манна-Уитни: факторы, существенные для экспрессии LIF, FOXA1, FOXA2 в эндометрии

№	Показатели	Экспрессия LIF в люминальном эпителии		p
		Сниженная	Выраженная	
1.	Факт наличия внутриматочного вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,6	0,7	0,4
2.	Повторные (два и более) внутриматочные вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	1,1	0,6	0,03
№	Показатели	Экспрессия LIF в железах эндометрия		p
		Сниженная	Выраженная	
1.	Факт наличия внутриматочного вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,5	0,6	0,4
2.	Повторные (два и более) внутриматочные вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	1,03	0,7	0,02
№	Показатели	Экспрессия LIF в строме эндометрия		p
		Сниженная	Выраженная	
1.	Факт наличия внутриматочного вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,4	0,5	0,2
2.	Повторные (два и более) внутриматочные вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	1,2	0,6	0,03
№	Показатели	Экспрессия FOXA1 в эндометрии		p
		Сниженная	Выраженная (отличная от здоровых)	
1.	Факт наличия внутриматочного вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,6	0,8	0,3
2.	Повторные (два и более) внутриматочные вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,5	1,3	0,02
№	Показатели	Экспрессия FOXA2 в эндометрии		p
		Сниженная	Выраженная	
1.	Факт наличия внутриматочного вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,6	0,7	0,5
2.	Повторные (два и более) внутриматочные вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	1,4	0,5	0,01

* у 100% здоровых женщин контрольной группы определяли следующие характеристики экспрессии эндометриальных протеомных маркеров: выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2 (6-8 д.п.о.)

Определено, что наличие повторных выскабливаний слизистой оболочки матки в анамнезе является существенным фактором, значимо влияющим на экспрессию LIF и FOX-белков в слизистой тела матки.

Мы провели анализ тех же клинико-анамнестических данных и гормональных показателей с учетом разделения пациенток по критерию толщины слизистой оболочки матки для уточнения значимости описанных факторов, как предрасполагающих к формированию «тонкого» эндометрия (таблица 34).

Таблица 34 – Результаты многофакторного дискриминантного анализа лабораторных и анамнестических данных пациенток, включенных в исследование, с использованием критерия Манна-Уитни: факторы, существенные для толщины эндометрия

№	Показатели	Толщина эндометрия		P
		М-эхо <7 мм	М-эхо ≥7 мм	
1.	Возраст	33	32,2	0,5
2.	Уровень E ₂ в крови (11-13 д.м.ц.)	602,8	597,6	0,2
3.	Уровень E ₂ в крови (6-8 д.п.о.)	665,3	595,1	0,1
4.	Уровень P в крови (6-8 д.п.о.)	44,7	47,7	0,6
5.	Инфекции, передающиеся половым путем, в анамнезе	0,3	0,4	0,2
6.	Факт наличия внутриматочного вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,5	0,6	0,2
7.	Повторные (два и более) внутриматочные вмешательства в анамнезе (выскабливание полости матки)	0,8	0,9	0,4

По результатам многофакторного дискриминантного анализа не выявлено лабораторно-анамнестических факторов, значимых для формирования гипопластического эндометрия при нормоэстрогенемии в периферической крови.

Во многих литературных источниках указана информация, что «тонкий» эндометрий является предиктором нарушений рецептивности слизистой оболочки матки. Проведен сравнительный анализ экспрессии протеомных маркеров у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе при различной толщине эндометрия и их соотношений между собой.

У здоровых женщин из группы контроля (n=16) были определены следующие показатели эндометриальной экспрессии протеомных маркеров (6-8 д.п.о.): выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2.

Женщины основной группы с «тонким» эндометрием (n=52) практически в половине случаев имели отличные от здоровых женщин характеристики экспрессии протеомных маркеров в эндометрии на 6-8 день после овуляции: сниженная экспрессия LIF в 38% случаев (n=17 из 45 образцов эндометрия) в люминальном эпителии, в 33% случаев (n=17 из 52 образцов эндометрия) в железах, в 54% случаев (n=28 из 52 образцов эндометрия) в строме слизистой оболочки матки; выраженная эндометриальная экспрессия FOXA1 в 42% случаев (n=22 из 52) и сниженная экспрессия FOXA2 в 56% случаев (n=29 из 52).

В группе сравнения у женщин с нормальной толщиной эндометрия и нарушениями репродуктивной функции в анамнезе (n=62) отличные от здоровых женщин варианты экспрессии эндометриальных протеомных маркеров на 6-8 день после овуляции встречались реже, чем в основной группе: сниженная экспрессия LIF в 16% случаев (n=7 из 45 образцов эндометрия) в люминальном эпителии, в 19% случаев (n=12 из 62 образцов эндометрия) в железах, в 63% случаев (n=39 из 62 образцов эндометрия) в строме слизистой оболочки матки; выраженная эндометриальная экспрессия FOXA1 в 27% случаев (n=17 из 62) и сниженная экспрессия FOXA2 в 8% случаев (n=5 из 62).

Все отличия при сравнении эндометриальной экспрессии LIF, FOX-белков были достоверны между женщинами с «тонкой» слизистой оболочкой матки и женщинами из группы контроля ($p < 0,05$). При сравнении эндометриальной экспрессии изученных протеомных маркеров у женщин с гипопластическим эндометрием и у женщин с нормальной величиной М-эхо из группы сравнения выявлены достоверные отличия в отношении следующих характеристик ($p < 0,05$): LIF в люминальном эпителии, в железах, FOXA2 в эндометрии.

Результаты проведенного анализа отражают значительно более частые нарушения экспрессии LIF, FOXA1, FOXA2 в «тонком», чем в нормальном по

толщине эндометрии, в том числе у женщин с нарушениями фертильности в анамнезе.

Далее был проведен корреляционный анализ экспрессии изученных протеомных маркеров между собой и значениями уровней эстрадиола и прогестерона в периферической крови (6-8 д.п.о.), а также величиной М-эхо (преовуляторные дни менструального цикла). Использовался коэффициент корреляции Спирмена (таблица 35).

Таблица 35 – Эмпирические значения корреляционного анализа Спирмена между величиной М-эхо (преовуляторные д.м.ц.), значениями эстрадиола (E₂) и прогестерона (P) в крови, эндометриальной экспрессией рецепторов половых стероидов (ER, PR) и протеомных молекул (LIF, FOX-белки) (6-8 д.п.о.)

Показатели	E ₂	P	ER железы	ER строма	PR железы	PR строма	LIF люм.	LIF железы	LIF строма	FOXA1	FOXA2
М-эхо	0,091	-0,111	-0,095	-0,024	-0,113	-0,017	0,008	0,175	-0,032	-0,145	0,422
E ₂		0,456	-0,012	0,04	-0,102	0,061	-0,071	-0,006	0,03	0,133	0,031
P			0,056	0,066	0,075	0,133	-0,054	-0,052	0,061	0,006	-0,98
ER железы				0,635	0,696	0,339	0,034	-0,053	0,111	-0,054	0,042
ER строма					0,342	0,295	-0,113	-0,014	-0,012	0,057	-0,009
PR железы						0,345	0,103	-0,025	0,193	-0,028	0,001
PR строма							0,016	0,078	0,079	-0,096	0,074
LIF люм.								0,381	0,353	0,187	-0,119
LIF железы									0,407	0,242	0,071
LIF строма										0,239	-0,094
FOXA1											-0,082

Не было выявлено значимых корреляционных связей между уровнями эстрогенов, прогестерона в крови (при условии нормоэстрогенемии, овуляторного значения P у пациенток, включенных в исследование) и величиной М-эхо.

Также не было выявлено значимых корреляционных ассоциаций между уровнями проанализированных гормонов в периферической крови (ФСГ, ЛГ, ТТГ, пролактина, свободного тестостерона, 17-ОНР, ДГЭА-С) и толщиной слизистой оболочки матки (таблица 36).

Таблица 36 – Эмпирические значения корреляционного анализа Спирмена между уровнями гормонов в периферической крови (ФСГ, ЛГ, ТТГ, пролактин, свободного тестостерона, 17-ОНР, ДГЭА-С) и величиной М-эхо

Показатели	ФСГ	ЛГ	ТТГ	Пролактин	FTest	17-ОНР	ДГЭА-С
М-эхо (11-13 д.м.ц.)	0,035	0,165	-0,065	0,067	-0,034	0,095	0,091
ФСГ (2-3 д.м.ц.)		0,562	-0,024	0,049	0,076	0,132	-0,132
ЛГ (2-3 д.м.ц.)			0,032	0,087	0,045	0,058	0,094
ТТГ				0,173	0,213	0,112	0,183
Пролактин					0,375	0,098	-0,152
FTest (5-7 д.м.ц.)						0,049	0,241
17-ОНР (5-7 д.м.ц.)							0,427

По результатам корреляционного анализа не было выявлено взаимосвязей между сывороточными уровнями эстрадиола и прогестерона и выраженностью экспрессии рецепторов половых стероидов в эндометрии (ER, PR в железах и строме) или выраженностью эндометриальной экспрессии протеомных маркеров (LIF и FOX-белков) (таблица 35).

Выявлено, что существуют значимые умеренные положительные взаимосвязи между величиной М-эхо и эндометриальной экспрессией FOXA2 ($r=0.422$, $p<0,001$) (таблица 35). Чем в большей степени выражены показатели значения величины М-эхо, тем более выражена экспрессия FOXA2 в эндометрии (по применяемой нами градации («высокая/невысокая») оценки экспрессии FOXA2) (рисунок 15).

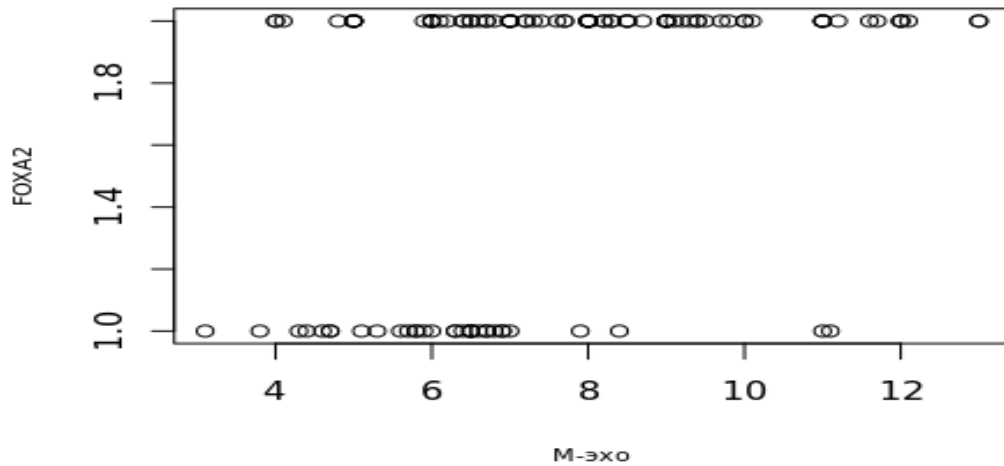


Рисунок 15 – Визуальные результаты дискриминантного анализа между показателем М-эхо и выраженностью эндометриальной экспрессии FOXA2

Также было выявлено, что существуют значимые средние положительные взаимосвязи между показателями экспрессии эстрогеновых рецепторов (ER) в железах и ER в строме ($r=0.635$, $p<0,001$) (таблица 35). Чем в большей степени выражена экспрессия ER в железах эндометрия, тем больше выражена экспрессия ER в строме (рисунок 16).

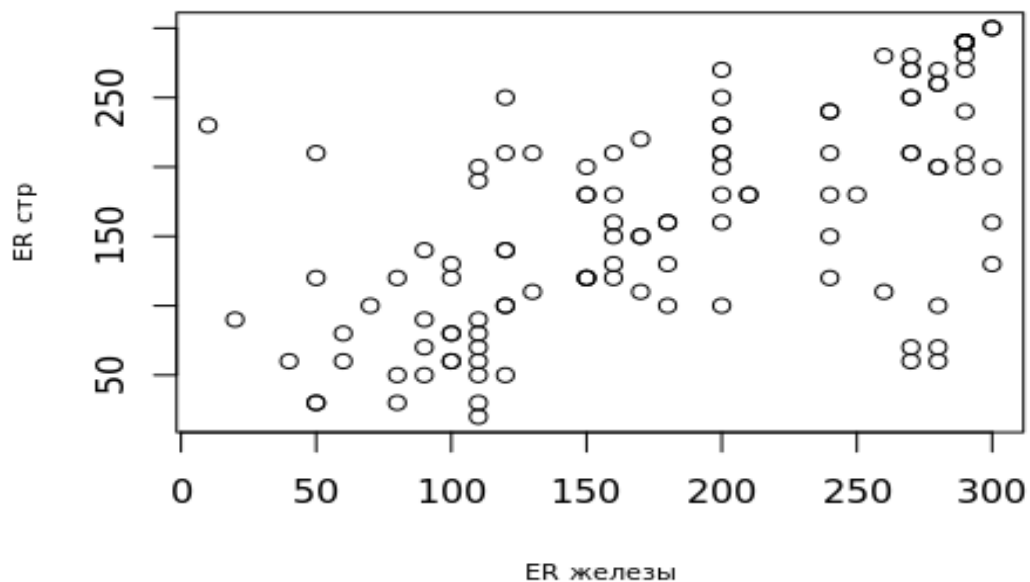


Рисунок 16 – Визуальные результаты дискриминантного анализа между выраженностью эндометриальной экспрессией ER в железах и ER в строме

Были определены значимые средние положительные взаимосвязи между выраженностью экспрессии ER в железах и экспрессии прогестероновых рецепторов (PR) в железах ($r=0.696$, $p<0,001$) (таблица 35). Чем в большей степени выражена экспрессия ER в железах, тем больше выражена экспрессия PR в железах (и наоборот) (рисунок 17).

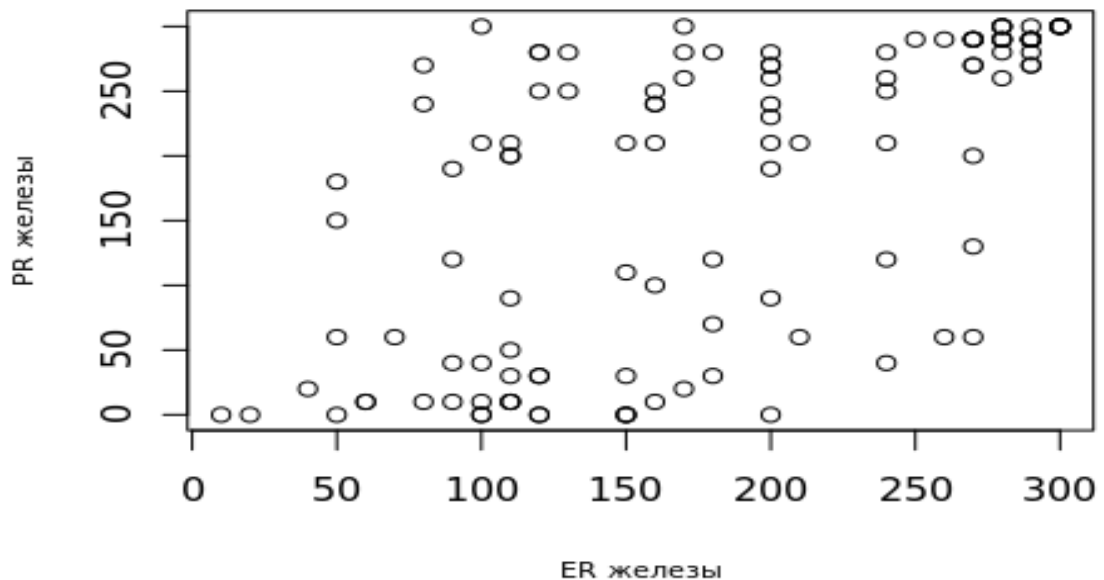


Рисунок 17 – Визуальные результаты дискриминантного анализа между выраженностью эндометриальной экспрессией ER в железах и PR в железах

Между выраженностью экспрессии ER в железах и PR в строме эндометрия существуют значимые умеренные положительные взаимосвязи ($r=0.339$, $p<0,001$) (таблица 35). С увеличением эндометриальной экспрессии ER в железах также увеличивается экспрессия PR в строме эндометрия (рисунок 18).

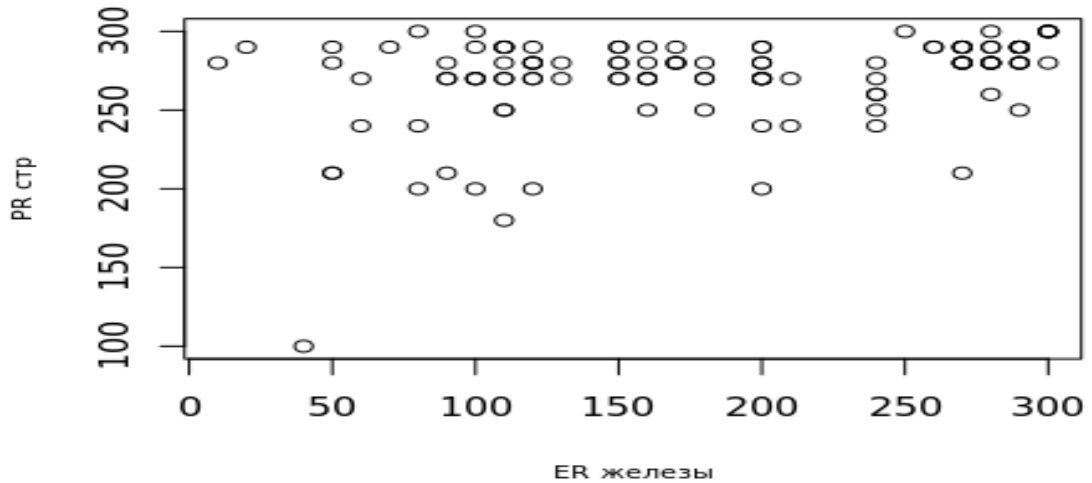


Рисунок 18 – Визуальные результаты дискриминантного анализа между выраженностью эндометриальной экспрессией ER в железах и PR в строме

Были выявлены значимые слабые положительные взаимосвязи между экспрессией ER в строме и экспрессией PR в строме эндометрия ($r=0.295$, $p<0,01$) (таблица 35). Чем в большей степени выражена эндометриальная экспрессия показателей ER в строме, тем больше выражена экспрессия PR в строме эндометрия (рисунок 19).

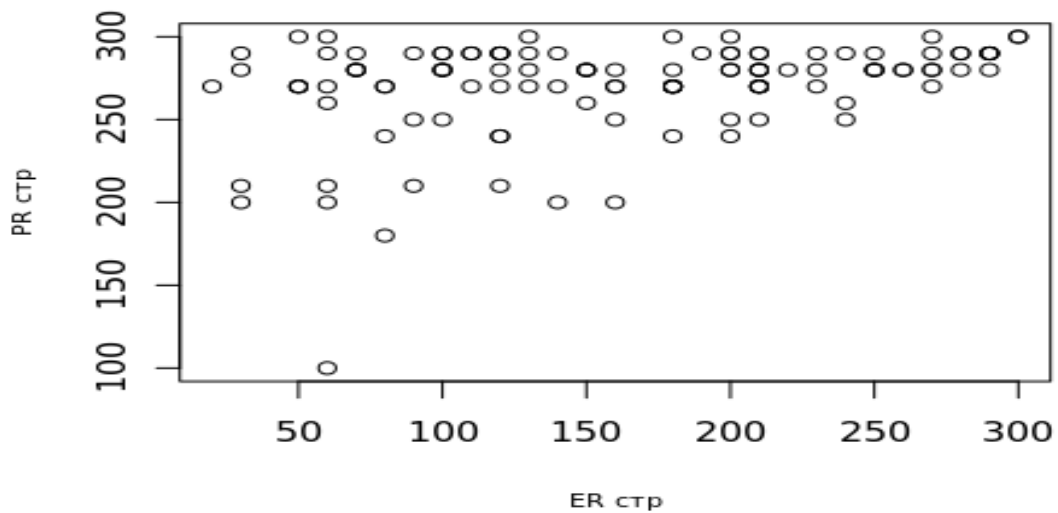


Рисунок 19 – Визуальные результаты дискриминантного анализа между выраженностью эндометриальной экспрессией ER и PR в строме

Были выявлены значимые очень слабые положительные взаимосвязи между эндометриальной экспрессией PR в железах и экспрессией LIF в строме эндометрия ($r=0.193$, $p<0,05$) (таблица 35). С увеличением эндометриальной экспрессии PR в железах также увеличивается выраженность экспрессии LIF в строме (по применяемой нами градации оценки экспрессии LIF в эндометрии) (рисунок 20).

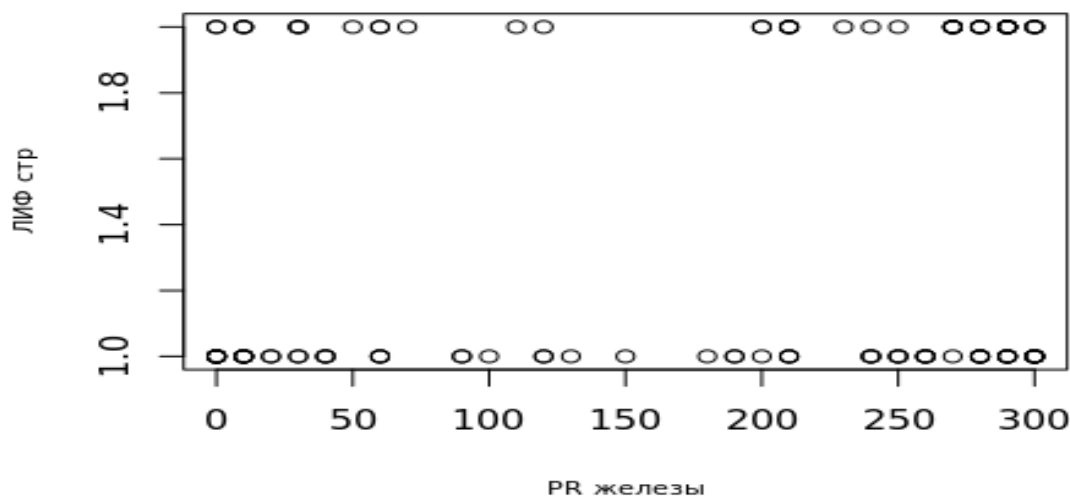


Рисунок 20 – Визуальные результаты дискриминантного анализа между выраженностью эндометриальной экспрессией LIF в строме и PR в железах

Между показателями эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии и LIF в железах существуют значимые умеренные положительные взаимосвязи ($r=0.381$, $p<0,001$) (таблица 35). С увеличением выраженности экспрессии LIF в люминальном эпителии эндометрия также увеличивается выраженность экспрессии LIF в железах эндометрия (рисунок 21).

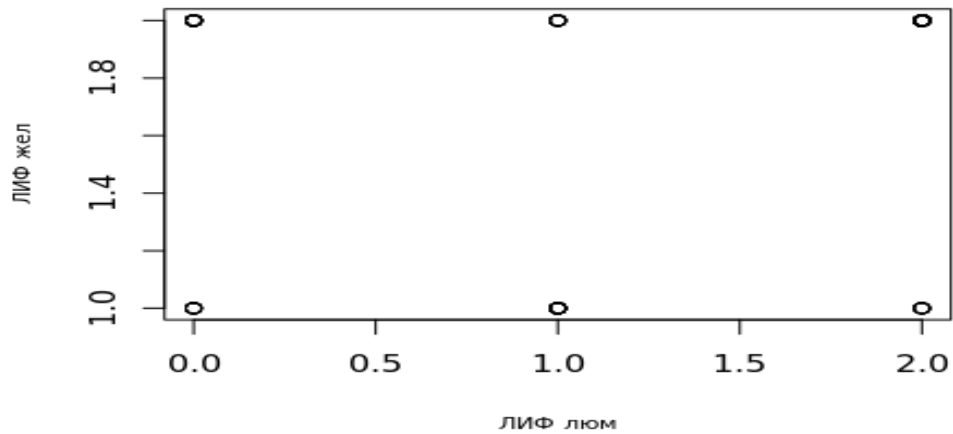


Рисунок 21 – Визуальные результаты дискриминантного анализа между выраженностью эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии и LIF в железах

Между показателями эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии и LIF в строме существуют значимые умеренные положительные взаимосвязи ($r=0.353$, $p<0,001$) (таблица 35). С увеличением выраженности эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии также увеличивается выраженность экспрессии LIF в строме (рисунок 22).

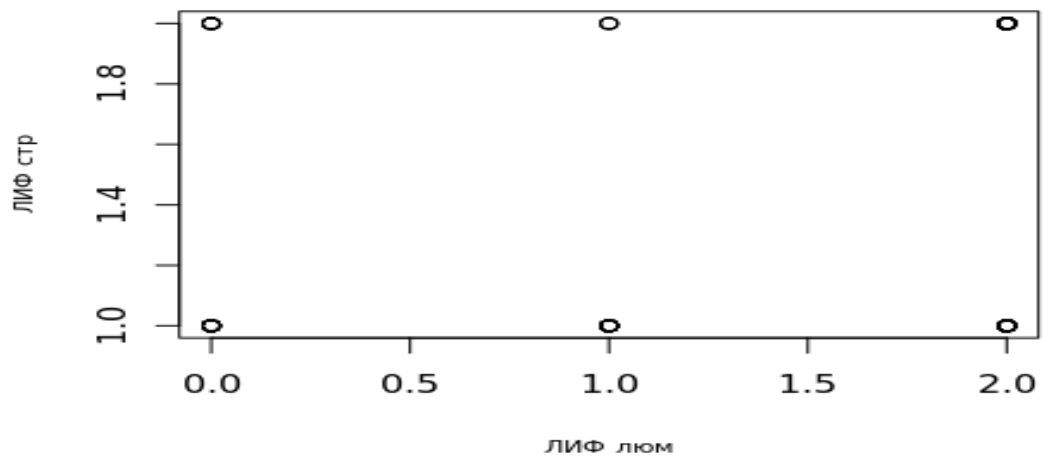


Рисунок 22 – Визуальные результаты дискриминантного анализа между выраженностью эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии и LIF в строме

Результаты дискриминантного анализа между экспрессией LIF в люминальном эпителии, строме и железах эндометрия отражают взаимосвязь выраженности экспрессии LIF во всех компонентах слизистой оболочки матки.

Были выявлены значимые очень слабые положительные взаимосвязи между выраженностью эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии и экспрессии FOXA1 в эндометрии ($r=0.187$, $p<0,05$) (таблица 35). С увеличением выраженности экспрессии LIF в люминальном эпителии эндометрия также увеличивается выраженность эндометриальной экспрессии FOXA1 (рисунок 23).

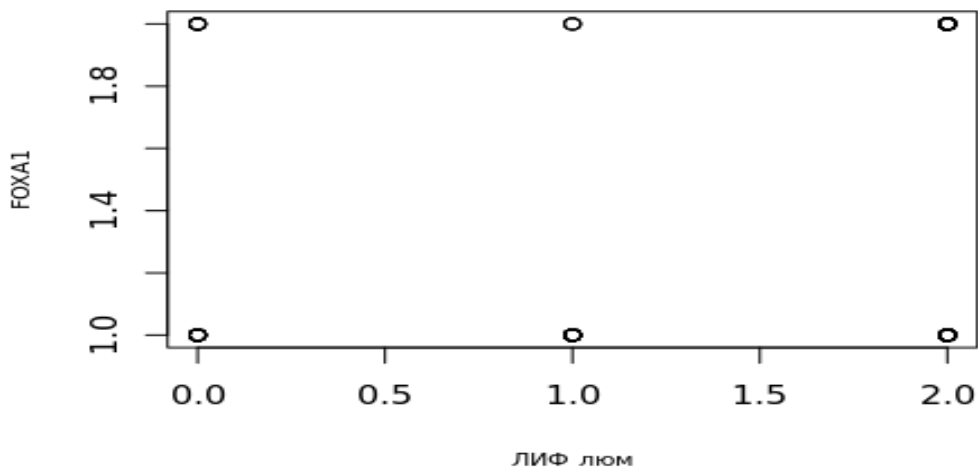


Рисунок 23 – Визуальные результаты дискриминантного анализа между выраженностью эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии и FOXA1

Был проведен логико-структурный анализ для оценки значимости пороговых уровней счета эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в железах и строме эндометрия, которые могут являться существенными для эндометриальной экспрессии LIF и FOX-белков. Значимость пороговых значений экспрессии рецепторов половых стероидов в железах и строме эндометрия для экспрессии протеомных маркеров проверена при помощи теории шансов и вычисления odds ratio (отношение шансов, OR).

В литературе описаны следующие условные пороговые значения счета рецепторов половых стероидов в слизистой тела матки (максимальный счет – 300),

значимые для экспрессии протеомных маркеров эндометриальной рецептивности: для ER в железах – 145; для ER в строме – 155, для PR в железах – 105 и 285 [40].

Для расчета OR были построены таблицы, где фактором риска является счет ER и PR больше условного порогового значения, а негативным исходом – отличная от здоровых женщин экспрессия протеомной молекулы.

У женщин с экспрессией ER в эндометриальных железах более 145 определен риск снижения эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии (в 2,8 раза), LIF в железах (в 1,9 раз), LIF в строме (в 1,6 раза), в 1,3 раза выше риск повышенной (отличной от здоровых женщин) экспрессии FOXA1 в эндометрии и в 1,8 раз выше риск сниженной экспрессии FOXA2 в слизистой тела матки по сравнению с женщинами, у которых счет ER в железах эндометрия был менее 145 (таблица 37).

Таблица 37 – Отношение шансов отличия эндометриальной экспрессии LIF и FOX-белков от здоровых женщин счете ER в железах эндометрия более 145 (6-8 д.п.о.)

Показатели	Фактор есть ER в железах более 145 n (%)	Фактора нет ER в железах менее 145 n (%)	p	OR	95% доверительный интервал для OR
Экспрессия LIF в люминальном эпителии					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в люминальном эпителии)	19 (31)	6 (14)	0,01	2,8±0,3	1-7,8
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в люминальном эпителии)	43 (69)	38 (86)			
Экспрессия LIF в железах					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в железах)	21 (28)	9 (17)	0,01	1,9±0,4	0,8-4,6
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в железах)	55 (72)	45 (83)			
Экспрессия LIF в строме					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в строме)	44 (58)	25 (46)	0,02	1,6±0,3	0,8-3,2
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в строме)	32 (42)	29 (54)			

Экспрессия FOXA1 в эндометрии					
Исход есть (выраженная экспрессия FOXA1 в эндометрии)	24 (32)	14 (26)	0,04	1,3±0,2	0,6-2,8
Исхода нет (сниженная экспрессия FOXA1 в эндометрии)	52 (68)	39 (74)			
Экспрессия FOXA2 в эндометрии					
Исход есть (сниженная экспрессия FOXA2 в эндометрии)	24 (32)	11 (21)	0,02	1,8±0,2	0,8-4
Исхода нет (выраженная экспрессия FOXA2 в эндометрии)	52 (68)	42 (79)			

* у 100% здоровых женщин контрольной группы определяли следующие характеристики экспрессии эндометриальных протеомных маркеров: выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2 (6-8 д.п.о.)

При «высокой» экспрессии ER в строме эндометрия ($H\text{-score} > 155$) (6-8 д.п.о.) риск сниженной экспрессии LIF в люминальном эпителии, железах и строме был выше в 1,7, 2,0 и 1,4 раза соответственно, а также риск повышенной (отличной от здоровых женщин) экспрессии FOXA1 в эндометрии выше в 1,2 раза, риск сниженной экспрессии FOXA2 в слизистой тела матки выше в 1,6 раз, чем у женщин с экспрессией ER в строме эндометрия менее 155 (таблица 38).

Таблица 38 – Отношение шансов отличия эндометриальной экспрессии LIF и FOX-белков от здоровых женщин при счете ER в строме эндометрия более 155 (6-8 д.п.о.)

Показатели	Фактор есть ER в строме более 155 n (%)	Фактора нет ER в строме менее 155 n (%)	p	OR	95% доверительный интервал для OR
Экспрессия LIF в люминальном эпителии					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в люминальном эпителии)	16 (28)	9 (18)	0,03	1,7±0,2	0,7-4,4
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в люминальном эпителии)	41 (72)	40 (82)			
Экспрессия LIF в железах					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в железах)	20 (29)	10 (17)	0,01	2,0±0,4	0,8-4,7
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в железах)	50 (71)	50 (83)			

Экспрессия LIF в строме					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в строме)	40 (57)	29 (48)	0,04	1,4±0,3	0,7-2,8
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в строме)	30 (43)	31 (52)			
Экспрессия FOXA1 в эндометрии					
Исход есть (выраженная экспрессия FOXA1 в эндометрии)	22 (31)	16 (27)	0,04	1,2±0,4	0,6-2,7
Исхода нет (сниженная экспрессия FOXA1 в эндометрии)	48 (69)	43 (73)			
Экспрессия FOXA2 в эндометрии					
Исход есть (сниженная экспрессия FOXA2 в эндометрии)	22 (31)	13 (22)	0,03	1,6±0,2	0,7-3,6
Исхода нет (выраженная экспрессия FOXA2 в эндометрии)	48 (69)	46 (78)			

* у 100% здоровых женщин контрольной группы определяли следующие характеристики экспрессии эндометриальных протеомных маркеров: выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2 (6-8 д.п.о.)

Расчет отношения шансов отличия экспрессии LIF и FOX-белков в слизистой тела матки от здоровых фертильных женщин у участниц со значениями счета рецепторов прогестерона в железах эндометрия более 105 представлен в таблице 39. Определено, что у женщин с «гиперэкспрессией» PR в железах эндометрия (H-score>105) (6-8 д.п.о.) риск отличной от здоровых женщин экспрессии протеомных маркеров в слизистой тела матки выше, чем у женщин с низкой экспрессией PR в эндометриальных железах (H-score<105): в 1,2 раза выше шанс сниженной экспрессии LIF в люминальном эпителии, в 1,7 – LIF в железах, в 1,4 раза – риск отличной от здоровых женщин экспрессии FOXA1 в слизистой тела матки и в 1,9 раз выше риск сниженной экспрессии FOXA2 в эндометрии.

Таблица 39 – Отношение шансов отличия эндометриальной экспрессии LIF и FOX-белков от здоровых женщин при счете PR в железах эндометрия более 105 (6-8 д.п.о.)

Показатели	Фактор есть PR в железах более 105 n (%)	Фактора нет PR в железах менее 105 n (%)	p	OR	95% доверительный интервал для OR
Экспрессия LIF в люминальном эпителии					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в люминальном эпителии)	15 (25)	10 (22)	0,03	1,2±0,4	0,5-2,9
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в люминальном эпителии)	45 (75)	36 (78)			
Экспрессия LIF в железах					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в железах)	20 (27)	10 (18)	0,02	1,7±0,2	0,7-4
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в железах)	54 (73)	46 (82)			
Экспрессия LIF в строме					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в строме)	39 (53)	30 (54)	0,05	0,97±0,3	0,5-1,9
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в строме)	35 (47)	26 (46)			
Экспрессия FOXA1 в эндометрии					
Исход есть (выраженная экспрессия FOXA1 в эндометрии)	24 (32)	14 (25)	0,03	1,4±0,4	0,6-3,1
Исхода нет (сниженная экспрессия FOXA1 в эндометрии)	50 (68)	41 (75)			
Экспрессия FOXA2 в эндометрии					
Исход есть (сниженная экспрессия FOXA2 в эндометрии)	24 (32)	11 (20)	0,01	1,9±0,2	0,8-4,4
Исхода нет (выраженная экспрессия FOXA2 в эндометрии)	50 (68)	44 (80)			

* у 100% здоровых женщин контрольной группы определяли следующие характеристики экспрессии эндометриальных протеомных маркеров: выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2 (6-8 д.п.о.)

При еще более выраженной «гиперэкспрессии» PR в железах эндометрия (H-score > 285) риски отличной от здоровых женщин экспрессии протеомных маркеров эндометриальной рецептивности еще более высокие: в 1,7 раза выше шанс сниженной экспрессии LIF в люминальном эпителии, в 3,6 раз – LIF в железах эндометрия, в 1,7 – LIF в строме, в 7,4 раз – отличия от здоровых (повышения) экспрессии FOXA1 и в 8,4 раза выше риск сниженной экспрессии FOXA2 в эндометрии, чем при счете PR в эндометриальных железах менее 285 (таблица 40).

Таблица 40 – Отношение шансов отличия эндометриальной экспрессии LIF и FOX-белков от здоровых женщин при счете PR в железах эндометрия более 285 (6-8 д.п.о.)

Показатели	Фактор есть PR в железах более 285 n (%)	Фактора нет PR в железах менее 285 n (%)	p	OR	95% доверительный интервал для OR
Экспрессия LIF в люминальном эпителии					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в люминальном эпителии)	7 (32)	18 (21)	0,02	1,7±0,5	0,6-4,8
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в люминальном эпителии)	15 (68)	66 (79)			
Экспрессия LIF в железах					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в железах)	8 (31)	22 (21)	0,003	3,6±0,2	0,6-9,3
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в железах)	18 (69)	82 (79)			
Экспрессия LIF в строме					
Исход есть (сниженная экспрессия LIF в строме)	12 (46)	57 (55)	0,03	1,7±0,2	0,3-2,7
Исхода нет (выраженная экспрессия LIF в строме)	14 (54)	47 (45)			
Экспрессия FOXA1 в эндометрии					
Исход есть (выраженная экспрессия FOXA1 в эндометрии)	20 (77)	32 (31)	0,001	7,4±0,3	2,7-20,2
Исхода нет (сниженная экспрессия FOXA1 в эндометрии)	6 (23)	71 (69)			

Экспрессия FOXA2 в эндометрии					
Исход есть (сниженная экспрессия FOXA2 в эндометрии)	20 (77)	29 (28)	0,001	8,4±0,3	3-23,2
Исхода нет (выраженная экспрессия FOXA2 в эндометрии)	6 (23)	74 (72)			

* у 100% здоровых женщин контрольной группы определяли следующие характеристики экспрессии эндометриальных протеомных маркеров: выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2 (6-8 д.п.о.)

Выявленные пороговые значения счета рецепторов половых стероидов в эндометрии (для ER в железах – 145; для ER в строме – 155; для PR в железах – 105 и 285;) могут являться прогностическими факторами выраженности эндометриальной экспрессии LIF и FOX-белков.

Таким образом, по итогам расширенного математико-статистического анализа данных можно выделить следующие наиболее важные результаты: 1) два и более внутриматочных вмешательств в анамнезе у женщины репродуктивного возраста являются значимым маркером снижения рецептивности слизистой оболочки матки, независимо от толщины эндометрия, однако данный факт анамнеза не ассоциирован с уменьшением М-эхо; 2) нормальные для овуляторного менструального цикла уровни эстрадиола и прогестерона в периферической крови не определяют толщину эндометрия и изученные показатели его рецептивности; 3) «гиперэкспрессия» эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии (6-8 д.п.о.) может быть важным прогностическим маркером выраженности и отличий экспрессии протеомных молекул в слизистой тела матки при нарушениях репродукции в анамнезе в сравнении со здоровыми женщинами.

3.5 Результаты терапевтического применения препаратов эстрадиола у женщин с «тонким» эндометрием, включенных в исследование

В основную группу исследования были включены 52 женщины с репродуктивными неудачами в анамнезе и с «тонким» эндометрием, у которых по данным УЗ-исследования на 11-13 день менструального цикла (при его длительности 28-30 дней) величина М-эхо была менее 7 мм.

Мы проанализировали особенности реализации репродуктивной функции у женщин основной группы, учитывая данные анамнеза и текущего исследования. У ряда женщин была применена терапия с использованием лекарственных препаратов, содержащих молекулы половых гормонов.

Большинству пациенток с нарушениями репродуктивной функции было проведено кариотипирование; у всех женщин выявлен нормальный кариотип – 46 XX.

Все пациентки с гипопластическим эндометрием, включенные в исследование, подписывали добровольное информированное медицинское согласие, в котором была информация о показаниях к применению препаратов эстрадиола и различных вариантах его дозы. Препараты экзогенного эстрадиола назначали с 5 по 25 день менструального цикла, гестагены (дидрогестерон, микронизированный прогестерон) для поддержания 2 фазы менструального цикла назначали в соответствии с инструкцией к препаратам. Часть женщин (n=31, (59,6%)) из 52 включенных в основную группу в ходе исследования отказались от планирования беременности и какой-либо терапии в связи с пандемией инфекционного заболевания COVID-19 (11.03.2020-05.05.2023) и отложили реализацию репродуктивной функции на неопределенный срок.

В текущем исследовании у других 21 женщины (40,4%), не изменивших свои репродуктивные планы, оценивали динамику изменения параметра М-эхо при помощи ультразвукового исследования в преовуляторный период на фоне лечения. У данных 21 женщины с гипопластическим эндометрием была сохранена возможность зачатия в естественном цикле (маточные трубы (или одна маточная

труба у 2х женщин) были проходимы; имела место нормозооспермия у их партнеров). 16 женщин из 21 участниц данной когорты получали препараты эстрадиола гемигидрата в форме трансдермальных гелей (начальная доза 1.0 мг или 1.5 мг в 1 дозе геля в соответствии с инструкцией лекарственного препарата). Первичной целью данной терапии было усиление пролиферации эндометрия, что фиксировалось при УЗИ (в течение 1-2-х менструальных циклов) как увеличение параметра М-эхо на 11-13 день менструального цикла (при его длительности 28-30 дней). Конечной целью считалось наступление беременности, что подтверждало преодоление нарушений рецептивности эндометрия, у женщин с бесплодием в анамнезе, которых было большинство (n=18 (85,7%) из 21).

Из 16 женщин с «тонким» эндометрием, получавших трансдермальные препараты эстрадиола гемигидрата в начальной дозе, у 4 женщин была отмечена положительная динамика терапии в виде усиления пролиферации (в 1-ом цикле лечения) (величина М-эхо стала ≥ 7 мм по данным УЗИ на 11-13 день менструального цикла при его длительности 28-30 дней). У этих 4-х женщин выявлены в 75% случаев полноценная фазовая трансформация слизистой оболочки матки, экспрессия рецепторов эстрогенов, прогестерона, FOX-белков в эндометрии и в 100% случаев эндометриальная экспрессия LIF, сходные со здоровыми женщинами (таблица 41).

Таблица 41 – Результаты гистологического и иммуногистохимического исследований эндометриальных биоптатов (6-8 д.п.о.) у женщин основной группы, получавших терапию препаратами эстрадиола в стандартных дозах с положительной динамикой М-эхо

№, фамилия	ИФТ	Фазовая трансформация эндометрия	Экспрессия LIF	Экспрессия FOX-белков
Пациентка К., 34 г.	1	полноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная FOXA2 - выраженная
Пациентка М., 33 г.	1	полноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная FOXA2 - выраженная
Пациентка М., 33 г.	1	полноценная секреторная	выраженная	отличная от здоровых женщин
Пациентка П., 35 л.	2	неполноценная секреторная	выраженная	FOXA2 - выраженная

* у 100% здоровых женщин контрольной группы определяли следующие характеристики экспрессии эндометриальных протеомных маркеров: выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2

У остальных 12 женщин, которые получали терапию препаратами половых гормонов, при использовании начальных доз эстрадиола (1,0-1,5 мг/сут) (в течение 2-х менструальных циклов) не было отмечено усиления пролиферации слизистой оболочки матки. В доступной литературе описаны исследования, в которых содержится информация, что в ряде случаев доза препаратов эстрадиола, которая приводит к существенному усилению пролиферативных процессов в эндометрии при его начальной малой толщине, – 4 мг/сут [135]. Учитывая эти данные, мы увеличили дозу трансдермальных препаратов эстрадиола до 4 мг/сут (пациентки подписывали информированное согласие). При увеличении дозы экзогенного эстрадиола у 11 из данных 12 женщин, был получен положительный эффект терапии в виде значительной пролиферации эндометрия (величина М-эхо была более 7 мм в преовуляторный период при длительности менструального цикла 28-30 дней). У 1 пациентки не было эффекта в виде увеличения величины М-эхо, однако наступила беременность, закончившаяся рождением доношенного ребенка (в цикле зачатия величина М-эхо на 13 день менструального цикла составила 6 мм).

У женщин (n=12), получавших более высокие дозы экзогенного эстрадиола, в 100% случаев были выявлены гормонально-рецепторные характеристики

эндометрия, отличные от здоровых женщин (ИФТ-2,3,4), и в 83% наблюдалась неполноценная фазовая трансформация слизистой оболочки матки. При этом эндометриальная экспрессия LIF и FOX-белков в большинстве случаев были сходны с таковыми показателями у женщин из группы контроля. Данные об экспрессии протеомных маркеров в эндометрии данной когорты женщин представлены в таблице 42.

Таблица 42 – Результаты гистологического и иммуногистохимического исследований эндометриальных биоптатов (6-8 д.п.о.) у женщин основной группы, получавших терапию препаратами эстрадиола в повышенных дозах с положительной динамикой М-эхо или наступлением беременности

№, фамилия	ИФТ	Фазовая трансформация эндометрия	Экспрессия LIF	Экспрессия FOX-белков
Пациентка Б., 25 л.	2	неполноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка В., 28 л.	2	неполноценная секреторная	выраженная	отличная от здоровых женщин
Пациентка В., 30 л.	2	полноценная секреторная	сниженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка Д., 34 г.	2	неполноценная секреторная	сниженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка Д., 23 г.	2	неполноценная секреторная	сниженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка К., 32 г.	2	неполноценная секреторная	выраженная	отличная от здоровых женщин
Пациентка П., 39 л.	3	неполноценная секреторная	сниженная	FOXA1 - сниженная FOXA2 - выраженная
Пациентка Р., 38 л.	2	неполноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная FOXA2 - выраженная
Пациентка Т., 34 г.	3	неполноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка Ф., 29 л.	2	неполноценная секреторная	выраженная	отличная от здоровых женщин
Пациентка Ф., 34 г.	4	полноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка Ч., 33 г.	2	неполноценная секреторная	выраженная	FOXA2 - выраженная

* у 100% здоровых женщин контрольной группы определяли следующие характеристики экспрессии эндометриальных протеомных маркеров: выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2

Наиболее значимым эффектом терапии считали наступление беременности при использовании препаратов половых гормонов. За время проведения исследования у 10 (47,6%) из 21 женщин основной группы, не изменивших репродуктивные планы, наступила беременность. 5 женщин из 10 получали трансдермальные препараты эстрадиола гемигидрата (у 4 было увеличение М-эхо на фоне терапии). У двоих из них беременность наступила в естественном цикле и закончилась в одном случае родами доношенного здорового ребенка (пациентка с диагнозом «невынашивание беременности»), а втором случае – неразвивающейся беременностью на сроке 6/7 недель гестации (пациентка с первичным бесплодием). У других трех пациенток, использовавших препараты экзогенного эстрадиола, беременность наступила в цикле ЭКО (все пациентки с диагнозом бесплодие): у двух пациенток имела место неразвивающаяся беременность на раннем сроке, а у третьей – роды доношенным здоровым ребенком (у данной пациентки зачатие произошло при «тонком» эндометрии при отсутствии его пролиферации на фоне лечения эстрадиолом). У этих 5 женщин в 100% случаев терапия была эффективна в плане преодоления проблем репродуктивной дисфункции: у 1 пациентки с невынашиванием беременности в анамнезе произошли срочные роды; у 4 женщин преодолено бесплодие в анамнезе. В 75% случаев у данных женщин были выявлены отличные от здоровых женщин варианты гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии и неполноценная фазовая трансформация слизистой оболочки матки. В то же время, в 75% наблюдалась сходная с группой контроля выраженная экспрессия LIF и сниженная экспрессия FOXA1, в 60% случаев наблюдалась выраженная экспрессия FOXA2, как у здоровых женщин. Данные о характеристиках эндометриальной экспрессии протеомных маркеров представлены в таблице 43.

Пациентка, у которой не было усиления пролиферации эндометрия, но наступила беременность, имела сходную со здоровыми женщинами экспрессию LIF в люминальном эпителии, железах и строме, а также выраженную экспрессию специфичного для эндометрия белка FOXA2, что косвенно может подтверждать его важнейшую роль в вопросах рецептивности эндометрия.

Таблица 43 – Результаты гистологического и иммуногистохимического исследований эндометриальных биоптатов (6-8 д.п.о.) у женщин основной группы, получавших терапию препаратами эстрадиола, у которых за время исследования наступила беременность

№, фамилия	Вид репродукт. дисфункции	Исход. М-эхо (мм)	ИФТ	Фазовая трансформация эндометрия	Экспрессия LIF	Экспрессия FOX-белков
Пациентка Д., 23 г.	НБ	6,5	2	неполноценная секреторная	сниженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка К., 34 г.	St II	6,7	1	полноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная FOXA2 - выраженная
Пациентка Р., 38 л.	St II	6,5	2	неполноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная FOXA2 - выраженная
Пациентка Т., 34 г.	St I	6,9	3	неполноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка Ч., 33 г.	St I	6	2	неполноценная секреторная	выраженная	FOXA2 - выраженная

* у 100% здоровых женщин контрольной группы определяли следующие характеристики экспрессии эндометриальных протеомных маркеров: выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2

За время исследования у остальных 5 из 10 женщин беременность наступила самостоятельно до начала применения препаратов половых гормонов. Эти пациентки планировали лечение, но не успели его начать. Методов контрацепции данные пациентки и их партнеры не применяли. Все пациентки этой когорты были с диагнозом бесплодие неясного генеза, и в 100% случаев данная репродуктивная проблема была преодолена. У трех пациенток беременность закончилась родами живого доношенного ребенка, у двух пациенток имела место неразвивающаяся беременность раннего срока. В 80% случаев в данной когорте из 5 женщин были выявлены отличные от здоровых женщин характеристики гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии, в 60% наблюдений определена неполноценная фазовая трансформация слизистой тела матки и сниженная экспрессия LIF, однако была выявлена сходная со здоровыми женщинами экспрессия FOXA1 и/или FOXA2 (таблица 44).

Величина М-эхо в преовуляторный период у данной когорты из 5 женщин была от 4,6 до 6 мм, что подтверждает литературные данные о возможности самостоятельной беременности на фоне «тонкого» эндометрия и наши предыдущие рассуждения о том, что гипопластическая слизистая оболочка матки не является абсолютным прогностическим маркером репродуктивных нарушений.

Таблица 44 – Результаты гистологического и иммуногистохимического исследований эндометриальных биоптатов (6-8 д.п.о.) у женщин основной группы, у которых за время исследования самостоятельно наступила беременность

№, фамилия	Вид репродукт. дисфункции	Исх. М-эхо (мм)	ИФТ	Фазовая трансформация эндометрия	Экспрессия LIF	Экспрессия FOX-белков
Пациентка А., 38 л.	St I	4,7	1	полноценная секреторная	сниженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка С., 27 л.	St II	5	2	неполноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная FOXA2 - выраженная
Пациентка Т., 32 г.	St I	4,7	2	неполноценная секреторная	сниженная	FOXA1 - сниженная
Пациентка У., 37 л.	St I	6	4	неполноценная секреторная	сниженная	FOXA1 - сниженная FOXA2 - выраженная
Пациентка Ч., 36 л.	St I	4,6	4	полноценная секреторная	выраженная	FOXA1 - сниженная

* у 100% здоровых женщин контрольной группы определяли следующие характеристики экспрессии эндометриальных протеомных маркеров: выраженная экспрессия LIF, сниженная экспрессия FOXA1 и выраженная экспрессия FOXA2

Всего из 10 женщин с гипопластическим эндометрием, у которых наступила беременность, произошло 5 срочных родов (50%). У других 5 женщин с бесплодием в анамнезе были преодолены нарушения рецептивности эндометрия (так как произошла имплантация плодного яйца). Вероятно у них, в связи с тем, что имела место неразвивающаяся беременность раннего срока, могут быть дополнительные проблемы, препятствующие пролонгированию беременности.

В целом у 21 женщин, у которых наступила беременность и/или отмечено увеличение М-эхо на фоне лечения препаратами половых стероидов, в 67% случаев отмечена сходная с женщинами из группы контроля эндометриальная экспрессия

LIF и в 81% – сходная со здоровыми женщинами экспрессия FOX-белков в эндометрии.

Терапия препаратами экзогенного эстрадиола у пациенток с «тонким» эндометрием может значительно усиливать пролиферативную активность слизистой оболочки тела матки и увеличивать шансы на наступление беременности. Лучший эффект терапии экзогенным эстрадиолом в отношении увеличения М-эхо и/или наступление беременности без лечения при наличии «тонкого» эндометрия наблюдали у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе, у которых была определена сопоставимая с соответствующими показателями в контрольной группе эндометриальная экспрессия LIF, FOX-белков. Специфических методов по улучшению эндометриальной экспрессии протеомных маркеров, значимых для пролиферации эндометрия, в рутинной практике на данный момент нет.

Препараты эстрадиола для усиления пролиферации эндометрия могут быть назначены эмпирически. Однако наличие данных об эндометриальной экспрессии ER, PR, LIF, FOXA1, FOXA2 определяют дифференцированный выбор доз трансдермальных препаратов эстрадиола у женщин с гипопластическим эндометрием и репродуктивными неудачами в анамнезе.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Преодоление проблем бесплодия и невынашивания беременности у женщин репродуктивного возраста является значимой социальной, демографической и медицинской задачами во многих странах мира. В настоящее время частота нарушений репродуктивной функции в разных регионах Российской Федерации колеблется от 17 до 24% и не имеет тенденции к снижению (Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению) / Клинические рекомендации (протокол лечения): МЗ РФ, 2021) [28, 29]. Досрочно прерывается до 20% беременностей (Recurrent pregnancy loss. Guideline of European Society of Human Reproduction and Embryology, 2023) [131, 132]. Выявлено много причин гравидарных неудач у женщин репродуктивного возраста, с большинством из которых современная медицина способна успешно справиться. Однако частота встречаемости таких нарушений фертильности, как бесплодие и невынашивание беременности, среди женщин репродуктивного возраста остается высокой.

При неясной причине репродуктивных дисфункций все большее внимание уделяется изучению рецептивных свойств слизистой тела матки с целью определения значимости эндометриальной дисфункции, как предиктора нарушений фертильности.

Нами проведено сравнительное проспективное исследование по типу случай-контроль, в которое были включены женщины с нарушениями репродуктивной функции (бесплодие неясного генеза, привычное невынашивание, неудачи ЭКО), а также здоровые женщины без репродуктивных неудач.

В исследование были включены 130 женщин репродуктивного возраста (от 20 до 40 лет), которые были разделены на 3 группы: I (основная группа) (n=52) – женщины с репродуктивными дисфункциями в анамнезе с гипопластическим эндометрием (М-эхо менее 7 мм на 11-13 день менструального цикла по данным ультразвукового исследования при длительности цикла 28-30 дней), II (группа сравнения) (n=62) – женщины с репродуктивными дисфункциями в анамнезе и нормальной толщиной эндометрия и III (контрольная группа) (n=16) – здоровые

фертильные женщины без клинически значимых гинекологических и тяжелых соматических заболеваний.

Женщины с репродуктивными трудностями в анамнезе были заинтересованы во всех видах обследования в соответствии с дизайном исследования. Однако планирование выполнения инвазивного внутриматочного вмешательства у здоровых фертильных женщин было барьером для набора контрольной группы. Малочисленность контрольных групп была отмечена и в других опубликованных исследованиях, посвященных изучению рецептивности эндометрия [99, 104]. В начале проведения нашего многокомпонентного продолжительного исследования, посвященного изучению рецептивности эндометрия, включавшего пациенток с нарушениями репродукции неясного генеза, была сформирована контрольная группа из 16 здоровых женщин, согласившихся на внутриматочное вмешательство [40]. Из этических соображений мы не увеличивали контрольную группу и использовали имеющиеся данные морфологических характеристик биоптатов слизистой оболочки матки у здоровых женщин без нарушений репродуктивной функции в анамнезе, отраженные в публикациях на более ранних этапах нашей работы.

У всех женщин, включенных в диссертационное исследование, в периферической крови были определены нормальные значения уровней гонадотропных гормонов, пролактина, исследованных андрогенов, гормонов, характеризующих функцию щитовидной железы; все участницы имели полноценный овуляторный менструальный цикл. Не было выявлено тяжелой соматической и значимой для реализации репродуктивной функции гинекологической патологии.

У пациенток с бесплодием в анамнезе (попытки зачатия в естественном менструальном цикле) маточные трубы были проходимы; не было данных о патологии спермограммы у их партнеров.

У всех женщин, включенных в исследование, был нормобиоценоз урогенитального тракта.

У бóльшей части пациенток с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе было проведено кариотипирование: выявлен нормальный кариотип – 46 XX.

В изученной литературе описано, что значимыми предикторами нарушений фертильности у женщин могут быть психосоциальные факторы, такие как неблагоприятные отношения на работе и/или в семье, хроническая интоксикация, старший репродуктивный возраст, тяжелые условия быта и труда, др. [79, 147]. В данной работе мы провели сравнительный анализ соответствующих характеристик: не было выявлено достоверных различий, группы были сопоставимы и однородны в этих аспектах.

В целом у участниц исследования не было выявлено очевидных причин ненаступления или невынашивания беременности. Имеющиеся данные позволили предположить, что у пациенток, включенных в исследование, причиной репродуктивных неудач может быть эндометриальная дисфункция.

В нашей работе отражено, что наличие многократных (два и более) внутриматочных вмешательств (выскабливаний слизистой полости матки) в анамнезе может быть существенным фактором нарушения рецептивности слизистой оболочки матки. В тоже время, с помощью сравнительного анализа было выявлено, что указанные внутриматочные вмешательства (в том числе повторные) сами по себе не являются значимым предопределяющим фактором формирования феномена «тонкого» эндометрия, как отмечено в некоторых публикациях [54]. В нашем исследовании число хирургических вмешательств в полости матки (*abrasio cavı uteri*) у женщин основной группы с «тонким» эндометрием и у пациенток группы сравнения с нормальной величиной М-эхо было сопоставимо. Известно, что внутриматочные выскабливания – это процедура, травмирующая эндометрий, что в итоге может приводить к возникновению повышенного фиброзирования слизистой оболочки матки и способствовать снижению гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии. Полученные нами данные о нарушении рецептивности эндометрия (но не об уменьшении показателя М-эхо) после неоднократных выскабливания полости матки сопоставимы с мнением других

авторов. В литературе описано, что посттравматические последствия, выражающиеся в изменениях морфологических характеристик эндометрия, встречаются у каждой третьей пациентки, а их частота увеличивается с каждым повторным выскабливанием слизистой оболочки матки [54, 55].

В изученной литературе описаны процессы нарушения микроциркуляции, как проявление системной эндотелиальной дисфункции, которые расцениваются как возможная причина формирования «тонкого» эндометрия [52]. У пациенток основной группы в нашем исследовании не было оснований предполагать состояние эндотелиальной дисфункции. Известно, что нарушения микроциркуляции возникают на фоне системных воспалительных заболеваний, после перенесенных инфекционных заболеваний, на фоне ожирения (неспецифический системный воспалительный ответ за счет повышенной выработки провоспалительных цитокинов в жировой ткани). В литературе описаны также данные, что нарушение микроциркуляции эндометрия отмечается на фоне гиперандрогении, так как повышенное содержание мужских половых стероидов в крови может отрицательно влиять на сосуды слизистой тела матки [154]. У всех женщин, включенных в наше исследование, не было ожирения, не было острых и значимых хронических, с обострениями системных инфекционных заболеваний и воспалительных заболеваний органов малого таза, заболеваний, сопряженных с повреждением сосудов, а также по данным гормонального обследования был выявлен нормальный уровень мужских половых гормонов в периферической крови. Не было основания для углубленного гемостазиологического обследования участниц в связи с отсутствием данных о рисках тромбозов в их семейном и личном анамнезах. Учитывая указанные обстоятельства, мы с большой вероятностью исключили из гипотезы такую описанную в специальной литературе возможную причину формирования гипопластического эндометрия, как эндотелиальную дисфункцию, не проводили доплерометрического исследования эндометрия, не использовали препараты, улучшающие микроциркуляцию.

Многие авторы описывают хронический эндометрит, как одну из причин нарушения рецептивности слизистой оболочки матки у женщин репродуктивного

возраста [31]. В нашей работе гистологическое и иммуногистохимическое исследования образцов эндометрия было проведено исходно у 178 женщин, которые подходили по критериям включения в исследование и имели нарушения репродуктивной функции неясного генеза в анамнезе. После первичной оценки биоптатов слизистой оболочки матки у 64 женщин были выявлены признаки хронического эндометрита: наличие плазматических клеток (CD138), фиброза стромы, склероза спиральных артерий, воспалительных инфильтратов в виде «лимфоидных фолликулов», располагающихся в базальном слое эндометрия и во всех отделах функционального слоя слизистой оболочки матки; диагноз «хронический эндометрит» был поставлен на основании общепринятых критериев – сочетания минимум трех из четырех перечисленных признаков при обязательном наличии плазматических клеток (CD138)). Данные 64 пациентки не были включены в исследование.

У остальных 114 пациенток (I группа – 52 женщины; II группа – 62 пациентки) не было выявлено гистологических и иммуногистохимических признаков хронического эндометрита. В некоторых случаях у этих женщин по результатам морфологического исследования эндометриальных биоптатов встречались такие изолированные гистологические характеристики, как фиброз стромы, однако данные изменения были рассмотрены как возникшие после внутриматочных вмешательств в полости матки (*abrasio cavi uteri*). В ряде случаев у обследованных 114 пациенток (11%, n=13) в образцах эндометрия были выявлены CD138 в значении 0-1 без других признаков хронического эндометрита, что по существующим критериям [64] не является достаточным для верификации диагноза «хронический эндометрит».

В итоге 114 пациенток, не имевших гистологического диагноза «хронический эндометрит», были включены в наше исследование в основную группу или группу сравнения в зависимости от толщины слизистой оболочки матки в преовуляторные дни.

Всем участницам исследования в соответствии с дизайном работы проводили ультразвуковое исследование органов малого таза в динамике, минимум в двух

менструальных циклах подряд на 11-13 день цикла (при его длительности 28-30 дней). В преовуляторные дни (поздняя фолликулярная фаза) менструального цикла оценивали общепринятые параметры при ультразвуковом исследовании, включая толщину эндометрия (М-эхо). Ряд ученых считает, что недостаточная величина М-эхо может быть самостоятельным фактором риска неудач репродукции, однако исследования рецептивности «тонкого» эндометрия крайне немногочисленны.

Толщина эндометрия отражает интенсивность процессов в пролиферативную фазу «эндометриального» цикла. Считается, что к 11-13 дню менструального цикла (при его длительности 28-30 дней) толщина нормального эндометрия должна быть больше или равна 7 мм. В доступных литературных источниках представлены разные данные о понятии нормальной толщины слизистой матки: в одних – указано нормальное значение М-эхо к концу пролиферативной фазы менструального цикла как 8 мм и более, а в других – 7 мм и более. Большинство авторов считает нормальным значение М-эхо 7 мм и более [54, 60, 123, 156]. Впервые такое понятие, как гипопластический или «тонкий» эндометрий было введено Y.Gonen в 1989 году, который описывал его как эндометрий толщиной менее 8 мм в преовуляторный период по данным трансвагинального ультразвукового исследования [102]. Данный термин был введен в связи с тем, что была установлена взаимосвязь между недостаточной величиной М-эхо и репродуктивными дисфункциями [15, 102].

Авторы отмечают возможное формирование феномена гипопластического эндометрия на фоне сниженного содержания половых стероидов (главным образом, эстрадиола) в периферической крови [54].

В нашем исследовании в группах женщин с «тонким» эндометрием (основная группа) и с нормальной толщиной слизистой тела матки (группа сравнения и контрольная группа) значения уровней эстрадиола и прогестерона в периферической крови были сопоставимы ($p > 0,05$). При проведении корреляционного анализа между величиной М-эхо и показателями содержания в крови эстрадиола и прогестерона значимых ассоциаций не выявлено. Таким образом, при нормоэстрогенемии уровни эстрадиола (а также прогестерона) в

периферической крови не являются гормональными факторами, определяющими толщину эндометрия.

В нашей работе было выявлено, что у большинства женщин с гипопластическим эндометрием и репродуктивными неудачами в анамнезе характеристики гормонально-рецепторного ответа и выраженность экспрессии рецепторов половых стероидов сопоставимы с женщинами из группы сравнения – с отягощенным репродуктивным анамнезом, но с нормальной толщиной слизистой оболочки матки. Эти результаты свидетельствуют в пользу того, что сама по себе величина М-эхо не является маркером, абсолютно определяющим особенности рецептивности эндометрия.

На 6-8 день после овуляции, в момент предполагаемого «окна имплантации», всем участницам исследования проводили аспирационную биопсию эндометрия с целью сочетанного гистологического и иммуногистохимического анализа эндометриальных образцов для оценки рецептивных свойств слизистой оболочки матки. В литературе описано, что в норме эндометрий в период «имплантационного окна» соответствует средней стадии фазы секреции: в этот отрезок времени в нем определяются хорошо развитые железы с просветом, извитые спиральные артерии и полигональные клетки стромы [13, 149]. В данной работе у 100% женщин группы контроля (n=16) слизистая матки имела полноценную среднесекреторную трансформацию; только у 25% женщин (n=13 из 52) основной группы с «тонким» эндометрием и у 39% женщин (n=24 из 62) группы сравнения с нормальной толщиной слизистой оболочки матки гистологические характеристики эндометрия были сходны со здоровыми женщинами. При этом у всех женщин, включенных в исследование, независимо от фазовой трансформации слизистой оболочки матки, уровни половых стероидов (эстрогенов (E₂) и прогестерона (P)) в периферической крови были сопоставимы без значимых отличий (получение образцов крови было в тот же день, что и биопсия эндометрия): E₂ 595,2±36,2 (I) vs 685,9±40,3 (II) vs 707,4±66,1 (III); P 47,7±3,4 (I) vs 44,2±2,6 (II) vs 39,1±4,9 (III).

В изученной литературе описаны данные, что экспрессия эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в эндометрии имеет циклический гормонально-опосредованный характер [97, 128]. Эстрадиол осуществляет свои биологические эффекты в виде увеличения экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в слизистой тела матки, а прогестерон – наоборот, в виде торможения экспрессии как собственных рецепторов, так и рецепторов эстрогенов. Наибольшая экспрессия рецепторов эстрогенов в слизистой тела матки выявляется в конце пролиферативной фазы, а в дальнейшем, к средней секреторной фазе, экспрессия ER в железах и строме эндометрия в норме снижается до минимальных значений. Вероятно, экспрессия эстрогеновых рецепторов в железах и экспрессия эстрогеновых рецепторов в строме эндометрия – это процессы, идущие параллельно и взаимообусловлено. Наибольшее значение экспрессии рецепторов прогестерона в железах слизистой оболочки матки определяется в конце пролиферативной фазы, а в среднюю стадию фазы секреции происходит, наоборот, максимальное снижение экспрессии рецепторов прогестерона в железах, в то время как в строме экспрессия PR остается высокой на протяжении всего менструального цикла [5, 39, 54, 62, 70].

Описано, что в среднюю стадию фазы секреции полноценные гормонально-рецепторные взаимодействия в эндометрии реализуются в большинстве случаев при нормальной величине М-эхо [101, 102]. В нашем исследовании показано, что абсолютные значения, отражающие содержание половых стероидов в периферической крови, и нормальная толщина слизистой оболочки матки не являются факторами, предопределяющими полноценную рецептивность эндометрия, что согласуется с немногочисленными литературными данными [40, 47, 59]. У всех участниц исследования не было выявлено ассоциаций значений содержания E_2 и P в периферической крови (в случае нормоэстрогенемии и овуляторных значений прогестерона) с вариантами рецепторных и гистологических характеристик эндометрия, а также с толщиной эндометрия.

Наши результаты согласуются с мнением М.Н. Saxtorph и соавт. (2020) [105], в работе которых было отмечено, что уровни прогестерона в среднюю фазу

менструального цикла не коррелировали с гистологическими и иммунологическими характеристиками рецептивности слизистой оболочки матки, и с данными G. Varrenetxea и соавт. (2021) [78], которые в своей работе написали, что определение уровней прогестерона в крови у пациенток не были полезны для прогнозирования гормонально-рецепторных характеристик эндометрия.

Некоторые исследователи все же предполагают, что более высокие абсолютные значения уровня прогестерона в периферической крови определяют бóльшую вероятность полноценной секреторной трансформации эндометрия [53]. С.W. Ку и соавт. (2015) представили данные о том, что активность желтого тела яичника считается высокой при уровне прогестерона в периферической крови 30 нмоль/л и более [113]. В нашей работе при овуляторном значении уровня прогестерона в крови (16,1 нмоль/л и более у всех женщин) в исследуемых группах счет рецепторов эстрогенов и прогестерона в эндометрии не отличался у женщин с невысокой и высокой функциональной активностью желтого тела яичника. При проведении корреляционного анализа между рецепторами половых стероидов и уровнем прогестерона в периферической крови значимых ассоциаций выявлено не было.

Полученные в текущем исследовании данные согласуются с результатами зарубежных авторов [78, 105] и нашими предыдущими научными публикациями об отсутствии ассоциаций между значениями уровня прогестерона в среднюю секреторную фазу и показателями экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона в железах и строме на 6-8 день после овуляции [7].

В нашей работе в период предполагаемого «окна имплантации» (6-8 день после овуляции) выявлена следующая динамика экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона у 100% женщин из группы контроля (n=16): низкая экспрессия ER в железах и строме эндометрия, низкая экспрессия PR в железах эндометрия, высокая экспрессия PR в строме эндометрия. Такой вариант гормонально-рецепторных характеристик эндометрия нами был условно определен как полноценный иммунофенотип (ИФТ-1) [5, 9, 40]. Сходные с группой контроля характеристики эндометриальной экспрессии рецепторов половых стероидов

имели 21% (n=11 из 52) женщин с «тонким» эндометрием и 32% (n=20 из 62) женщин из группы сравнения с нормальной толщиной эндометрия. У большей части женщин с репродуктивными нарушениями в анамнезе из основной группы и группы сравнения были выявлены гормонально-рецепторные характеристики эндометрия, которые отличались от здоровых женщин и были определены как неполноценные. Ранее в наших работах и публикациях были описаны варианты отличных от женщин без репродуктивных неудач в анамнезе гормонально-рецепторных характеристик слизистой тела матки (иммунофенотипы) [5, 9, 40]:

- второй иммунофенотип (ИФТ-2) гормонально-рецепторного «ответа» слизистой тела матки с высокой экспрессией ER, PR в железах и строме эндометрия;
- третий иммунофенотип (ИФТ-3) эндометриального «ответа»: наблюдались высокая экспрессия ER в железах и высокая/низкая экспрессия ER в строме эндометрия, низкая экспрессия PR в железах, высокая экспрессия PR в строме слизистой тела матки;
- четвертый иммунофенотип (ИФТ-4) гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии: низкая экспрессия ER в железах и высокая/низкая экспрессия ER в строме слизистой тела матки, высокая экспрессии PR в железах и строме эндометрия.

В целом, в каждом пятом случае при «тонком» эндометрии (21%) и у каждой третьей женщины (32%) при нормальной величине М-эхо в группах пациенток с репродуктивными дисфункциями в анамнезе были сопоставимые со здоровыми женщинами варианты экспрессии эндометриальных рецепторов эстрогенов и прогестерона в период предполагаемого «окна имплантации». Таким образом, еще раз подчеркиваем, что толщина эндометрия (в том числе «тонкий» эндометрий) по данным УЗИ органов малого таза не предопределяет характеристики гормонально-рецепторных взаимодействия в слизистой оболочке матки.

У большинства женщин, включенных в исследование, были отмечены соответствия результатов гистологического и иммуногистохимического методов оценки биоптатов слизистой тела матки: при полноценной фазовой трансформации

эндометрия были выявлены гормонально-рецепторные взаимодействия в эндометрии, соответствующие таковым у здоровых женщин (ИФТ-1), а при отставании секреторных изменений в эндометрии были отмечены отличные от женщин контрольной группы данные счета ER, PR (ИФТ-2,3,4). В ряде случаев, у женщин с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе было определено несоответствие гистологических характеристик эндометрия и вариантов гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии. При полноценной фазовой трансформации слизистой тела матки были выявлены варианты экспрессии ER и PR в эндометрии, отличные (ИФТ-2,3,4) от здоровых женщин контрольной группы (в основной группе – 6% случаев (n=3 из 52), в группе сравнения – 13% случаев (n=8 из 62)). И наоборот, при отставании секреторных преобразований эндометрия от соответствующих дней менструального цикла наблюдалась сходная с группой контроля экспрессия ER и PR (в основной группе – 2% (n=1 из 52), в группе сравнения – 6% (n=4 из 62)). Эти данные свидетельствуют о том, что выполнение сочетанного гистологического и иммуногистохимического исследований эндометрия позволяет проводить более углубленный и расширенный диагностический поиск наличия/отсутствия эндометриальной дисфункции.

В нашем исследовании выявлено, что и при «тонком» эндометрии возможны полноценные варианты гормонально-рецепторных взаимодействий в слизистой оболочке матки, хотя это и встречается в 1,5 раза (на 50%) реже, чем при нормальной величине М-эхо: 21% случаев в основной группе (n=11 из 52 женщин) и 32% в группе сравнения (n=20 женщин из 62). Таким образом, в исследованной когорте женщин у каждой пятой участницы с «тонким» эндометрием показатели экспрессии рецепторов половых стероидов в слизистой оболочке матки были сопоставимы с таковыми у здоровых женщин без нарушения фертильности. В то же время две трети женщин в исследованных когортах с неудачами репродукции (I и II группы) имели неполноценные варианты гормонально-рецепторных характеристик эндометрия. Значения экспрессии ER, PR в этих случаях не имели достоверных различий в зависимости от толщины эндометрия. Подобных сведений в специальной литературе мы не обнаружили.

В изученных работах об эндометриальной дисфункции содержится информация, что толщина слизистой тела матки является важным показателем, который часто применяют в качестве диагностического маркера благополучного наступления беременности. Однако прогностическое значение и пороговая величина М-эхо, которые можно считать оптимальными для успешной имплантации бластоцисты, до сих пор остаются дискуссионными [15, 102, 156]. В проанализированных литературных источниках нет достаточных данных о рецептивности «тонкого» эндометрия, и не описано, является ли толщина эндометрия менее 5 мм (так называемый «абсолютно тонкий эндометрий») предиктором еще более существенных нарушений гормонально-рецепторных взаимодействий в нем.

В нашей работе для уточнения более детальных особенностей экспрессии рецепторов половых стероидов в эндометрии в соотношении с его толщиной, пациентки основной группы с гипопластической слизистой оболочкой матки и нарушениями репродуктивной функции в анамнезе (n=52) были разделены на две подгруппы в зависимости от величины М-эхо: подгруппа с «тонким» эндометрием (n=42 из 52) (величина М-эхо по данным УЗИ $7 \text{ мм} > \text{М-эхо} \geq 5 \text{ мм}$) и подгруппа с «абсолютно тонким» эндометрием (n=10 из 52) (величина М-эхо по данным УЗИ $< 5 \text{ мм}$). Был проведен сравнительный анализ показателей счета эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в биоптатах слизистой оболочки матки при различной толщине гипопластического эндометрия в сравнении со здоровыми фертильными женщинами из группы контроля (n=16).

Между участницами с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе с различной толщиной гипопластической слизистой оболочки матки и здоровыми фертильными женщинами были выявлены существенные различия по всем показателям счета эндометриальной экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона ($p < 0,01$), кроме показателя экспрессии прогестероновых рецепторов в строме. Однако не было выявлено достоверных различий в эндометриальном счете рецепторов ER, PR среди женщин с «тонким» и «абсолютно тонким» эндометрием. Здоровые женщины из группы контроля имели полноценный

вариант гормонально-рецепторных характеристик эндометрия (ИФТ-1) [5, 9]. У участниц исследования с различными вариантами гипопластического эндометрия сходные со здоровыми женщинами варианты экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона были выявлены в каждом пятом случае – 21% (n=9 из 42) женщин с «тонким» эндометрием и 20% (n=2 из 10) женщин с «абсолютно тонким» эндометрием. Остальные женщины из данных когорт, включенные в исследование, (79% женщин (n=33 из 42) и 80% женщин (n=8 из 10) соответственно), имели отличные от группы контроля варианты гормонально-рецепторных взаимодействий в слизистой тела матки (ИФТ-2,3,4).

Нами не было выявлено различий в характеристиках экспрессии рецепторов половых стероидов в гипопластическом эндометрии при «тонкой» и «абсолютно тонкой» слизистой оболочке матки: у 20% участниц в обеих когортах показатели счета рецепторов эстрогенов и прогестерона были сопоставимы со здоровыми женщинами. Таким образом, недостаточная пролиферация эндометрия, безусловно, может быть причиной репродуктивной дисфункции у женщин, но только в сочетании с нарушениями эндометриального рецепторного аппарата. Наши выводы согласуются с незначительным числом исследований о том, что у пациенток с «тонким» эндометрием в перiovуляторный период и с анамнезом репродуктивных неудач необходимо выполнять сочетанное (гистологическое и иммуногистохимическое) исследование эндометриальных образцов с целью изучения их рецептивности [52, 54, 55]. Кроме того, наличие случаев со сходными со здоровыми женщинами характеристиками экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в «тонком» и «абсолютно тонком» эндометрии объясняют и подтверждают возможное наступление беременности в случае гипопластической слизистой оболочки матки, в том числе при величине М-эхо менее 5 мм, хотя такие случаи немногочисленны [88, 141].

В дальнейшем при изучении характеристик экспрессии других протеомных маркеров рецептивности эндометрия (LIF, FOX-белков) деление участниц исследования на когорты в зависимости от гормонально-рецепторного ответа слизистой оболочки матки позволило выявить особенности эндометриальной

экспрессии значимых протеомных молекул, а такой показатель, как гистологическая характеристика фазовой трансформации слизистой тела матки не имел решающего значения.

В последние несколько лет исследователи изучали роль определенных белковых маркеров в процессах имплантации бластоцисты. Среди протеомных маркеров, которые тесно связаны с рецептивностью, выделяют различные молекулы адгезии, цитокины, факторы роста (в том числе лейкемия ингибирующий фактор (LIF)), интерлейкины (IL), супер-семейство FOX-белков (Forkhead box – семейство факторов транскрипции). Однако ни один из изучаемых маркеров не выделен как единственный предиктор полноценности/неполноценности рецептивности эндометрия.

LIF в настоящее время является наиболее изученным маркером рецептивности слизистой оболочки матки. В литературе описано, что данный протеомный фактор оказывает значимое влияние на процессы имплантации бластоцисты. В эндометриальной ткани LIF продуцируется в течение всего менструального цикла, достигая максимальных значений в среднюю стадию фазы секреции [2, 43]. В изученных литературных источниках представлены данные, что у женщин с нарушениями фертильности в анамнезе в период предполагаемого «окна имплантации» (на 6-8 день после овуляции) происходит снижение экспрессии LIF в эндометрии, чего не было отмечено в биоптатах слизистой оболочки матки от здоровых женщин [43, 73]. В экспериментальных исследованиях на самках мышей было показано, что при инактивации гена, кодирующего LIF, были нарушены процессы имплантации плодного яйца в эндометрии, однако при переносе оплодотворенной яйцеклетки от мышей с интактными генами LIF к мышам с нормальным геном, процессы имплантация были успешны, что свидетельствует о значении LIF в слизистой тела матки для процесса имплантации плодного яйца. Важно отметить, что при введении рекомбинантного LIF самкам с дефицитом гена LIF, процессы имплантации восстанавливались [90].

В нашей работе мы провели сравнительный анализ характеристик экспрессии LIF в люминальном эпителии, железах и строме слизистой оболочки матки у

женщин с анамнезом репродуктивных дисфункций неясного генеза при различной толщине эндометрия и у здоровых фертильных женщин.

В проведенном нами исследовании были получены данные, что у женщин с нарушениями фертильности при различных вариантах величины М-эхо существенно чаще имела место сниженная эндометриальная экспрессия LIF, чем у здоровых женщин из группы контроля, что согласуется со многими литературными источниками о важном участии данного протеомного маркера в процессах имплантации плодного яйца [73, 90]. Однако мы не встретили в изученных источниках определения экспрессии протеомных маркеров в слизистой тела матки в соотношении с вариантами гормонально-рецепторных характеристик эндометрия (экспрессия ER, PR) и/или фазовой трансформацией слизистой оболочки матки, а также при гипопластическом эндометрии.

Для более детального изучения эндометриальной экспрессии LIF мы разделили всех участниц исследования в I и II группах на когорты в зависимости от полноценной/неполноценной фазовой трансформации слизистой оболочки матки и варианта гормонально-рецепторного ответа эндометрия.

При делении на когорты в зависимости от результатов гистологического исследования, было выявлено, что сниженная экспрессия LIF в люминальном эпителии и железах эндометрия достоверно чаще встречается при гипопластической слизистой оболочке матке (независимо от фазовой трансформации эндометрия), чем у здоровых фертильных женщин. Однако не было определено достоверных различий в экспрессии LIF в люминальном эпителии, железах и строме между женщинами с отягощенным репродуктивным анамнезом с гипопластическим эндометрием (I группа) и с нормальной толщиной слизистой оболочки матки (II группа). Наши результаты совпадают с описанными выше данными других исследователей о снижении эндометриальной экспрессии LIF у женщин с репродуктивными дисфункциями [2, 73, 90], однако данные в отношении «тонкого» эндометрия описаны нами впервые.

При выполнении сравнительного анализа эндометриальной экспрессии LIF в соотношении с гормонально-рецепторными характеристиками слизистой

оболочки тела матки были выявлены следующие наиболее значимые различия. Сниженная экспрессия LIF в люминальном эпителии встречалась достоверно чаще у женщин с «тонким» эндометрием (независимо от варианта гормонально-рецепторных характеристик слизистой тела матки), чем у здоровых фертильных женщин. В железах эндометрия сниженная экспрессия LIF была достоверно чаще выявлена у когорты женщин основной группы с гипопластическим эндометрием даже при полноценном варианте экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов (45%, n=5 из 11), чем у женщин контрольной группы. Также сниженная экспрессия LIF в строме эндометрия достоверно чаще встречалась у женщин с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе в целом (59%, n=67 из 114), чем у здоровых женщин, независимо от величины М-эхо и варианта гормонально-рецепторного ответа слизистой тела матки.

В тоже время, при делении пациенток I и II групп на когорты в зависимости от результатов сочетанного гистологического и иммуногистохимического исследований было выявлено, что почти у каждой пятой женщины (21%) с «тонким» эндометрием, у которых наблюдался вариант гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии сходный со здоровыми женщинами (ИФТ-1), а также была выявлена полноценная средняя стадия фазы секреции, экспрессия LIF была такая же, как у здоровых женщин, без достоверных различий. Эти данные дополняют аргументы в пользу возможности спонтанного наступления беременности у женщин с гипопластической слизистой оболочкой матки в естественном менструальном цикле. В то же время у подавляющего количества женщин (79%) при гипопластическом эндометрии характеристики слизистой тела матки, в том числе и экспрессия LIF, значимо отличались от здоровых женщин, что объясняет бóльший процент репродуктивных неудач у женщин с синдромом гипопластического эндометрия. Подобные результаты в отношении «тонкого» эндометрия описаны впервые.

В доступной литературе крайне мало работ, в которых изучали экспрессию LIF при различных вариантах гормонально-рецепторных характеристик слизистой оболочки матки, и вообще отсутствуют данные об определении соотношений

эндометриальной экспрессии протеомных маркеров при «тонком» эндометрии. В своих работах авторы M. Wetendorf (2017) и Y.M. Vasquez (2018) изложили результаты, что снижение счета прогестероновых рецепторов в железах эндометрия (LN+6-8) (соответствует ИФТ-1 гормонально-рецепторного «ответа» слизистой оболочки матки в наших исследованиях) ассоциировано с активизацией экспрессии LIF, что совпадает с нашими результатами [146, 148].

В целом, данные, полученные нами в проведенном исследовании, не противоречат общеизвестным мировым результатам об изучении эндометриальной экспрессии LIF. В нашей работе впервые представлены данные не только об экспрессии LIF при «тонком» эндометрии, но и данные об экспрессии LIF при различной толщине эндометрия в соотношении с вариантами гормонально-рецепторных характеристик и фазовой трансформации слизистой тела матки. По результатам проведенного сравнительного анализа выявлено, что гормонально-рецепторный «ответ» эндометрия значим для экспрессии LIF в слизистой оболочке. Полученные результаты корреляционного анализа также свидетельствуют в пользу того, что экспрессия LIF в люминальном эпителии (1), в железах (2) и строме (3) – в определенной степени, сопряженные процессы ((1)-(2) – $r=0,381$, $p<0,001$; (1)-(3) – $r=0,353$, $p<0,001$; (2)-(3) – $r=0,407$, $p<0,001$). Не было выявлено корреляционных взаимосвязей между экспрессией LIF в эндометрии и значениями эстрадиола и прогестерона в периферической крови (при условии нормоэстрогенемии и овуляторных значений P в крови).

Семейство FOX-белков – еще одна группа протеомных маркеров, которые представляют научный интерес в настоящее время. В изученной литературе описано, что FOX-белки оказывают влияние на ядерные рецепторы многих половых гормонов, в том числе и в эндометрии, что позволяет предполагать их значимую роль в реализации рецептивности слизистой оболочки матки [100, 124]. Семейство FOX-белков обладает новаторской транскрипционной активностью, они способны связывать конденсированный хроматин (за счет его деконденсации) во время процессов дифференцировки клеток. Существуют два вида белка, которые

предположительно участвуют в процессах пролиферации клеток, – это FOXA1 и специфический только для слизистой оболочки матки FOXA2.

Белок FOXA1 взаимодействует с определенным участком ядерной ДНК и реализует связь этих гормон-ответных элементов с комплексом «эстроген+рецептор», путем деконденсации хроматина, то есть опосредует транскрипционную активность эстрогенов [21, 61, 116, 124]. В научных работах FOXA1 наиболее часто изучают в генезе онкологических заболеваний молочной железы, желудочно-кишечного тракта и простаты. Данный фактор транскрипции играет главенствующую роль в развитии и прогрессировании эстроген-зависимых новообразований указанных локализаций, а также служит биомаркером для прогнозирования лечения. Однако учитывая свойства данного протеомного маркера, нельзя исключать его существенную роль в процессах пролиферации и дифференцировки эндометрия [100, 151]. Также не исключено, что недостаточное количество белка FOXA1 и/или его некорректная «работа» способны приводить к нарушению процессов пролиферации слизистой тела матки в первой половине менструального цикла у женщин репродуктивного возраста.

В изученной литературе опубликованы результаты исследования о положительной корреляции экспрессии маркера FOXA1 с избыточной пролиферацией клеток люминального эпителия при раке молочной железы [124]. Возможно, важное значение имеет определенный необходимый уровень экспрессии FOXA1 для оптимальной (но не избыточной) активности пролиферативных процессов в эстроген-чувствительных тканях. Работ, в которых изучали влияние FOXA1 в концепции рецептивности слизистой тела матки, не представлено.

В свою очередь FOXA2 является специфическим только для эндометрия белком, который также, как и FOXA1, реализует свои эффекты в пролиферации и дифференцировке клеток слизистой тела матки. Описано, что FOXA2, как и LIF, участвуют в подготовке слизистой тела матки к возможной имплантации плодного яйца [86].

В 2017 году М. Dorostghoal и соавт. опубликовали исследование, в котором описали результаты изучения эндометриальной экспрессии FOXA2 в пролиферативную и среднесекреторную фазу в биоптатах от здоровых женщин (n=10) репродуктивного возраста (19-37 лет) [86, 96, 123]. Изучение образцов слизистой тела матки позволило выявить различные биологические процессы, которые регулируются именно генами FOXA2. Коллектив авторов представляет белок FOXA2 как регулятор экспрессии генов, который в сочетании с другими факторами транскрипции может влиять на развитие и пролиферацию эндометрия в зависимости от фазы менструального цикла. По мнению авторов, потенциальные FOXA2-регулируемые гены, влияющие на рецептивность эндометрия, процесс имплантации бластоцисты и децидуализацию стромальных клеток, являются ключевыми факторами в успешном наступлении беременности.

В литературе также описаны экспериментальные исследования неудачных попыток оплодотворения самок мышей с делецией (отсутствием) гена, кодирующего FOXA2, у которых в том числе была резко снижена экспрессия LIF в эндометрии, у таких мышей слизистая тела матки была невосприимчива к бластоцисте [86, 106, 108]. Результаты этих немногочисленных исследований отражают важное значение FOX-белков для реализации рецептивности эндометрия и процессов имплантации плодного яйца. Однако такого рода данных об изучении протеомных маркеров при «тонком» эндометрии у женщин в доступной литературе нет.

В данной работе нами был проведен сравнительный анализ эндометриальной экспрессии FOX-белков (FOXA1 и FOXA2) у женщин при различной величине М-эхо в соотношении с разнообразными вариантами гистологических и гормонально-рецепторных характеристик эндометрия.

Было определено, что в целом у женщин с репродуктивными неудачами в анамнезе чаще встречаются характеристики экспрессии FOX-белков, отличные от здоровых женщин из группы контроля, что косвенно еще раз подтверждает важность этого семейства факторов транскрипции для успешного наступления беременности. В проведенной работе получены результаты, что, в целом, у каждой

второй женщины с анамнезом репродуктивных потерь (50%, n=57 из 114 женщин I и II групп) была выявлена экспрессия FOX-белков в слизистой тела матки (на 6-8 день после овуляции), отличная от здоровых фертильных женщин. Важно отметить, что среди пациенток с «тонким» эндометрием случаев отличной от здоровых женщин экспрессии FOX-белков в слизистой оболочке матки было более, чем две трети (71%, n=37 из 52). В проведенных ранее сравнительных анализах в этой работе мы получили результаты, что каждая пятая женщина с гипопластическим эндометрием и репродуктивными дисфункциями в анамнезе имела сопоставимые со здоровыми женщинами варианты гормонально-рецепторных характеристик слизистой тела матки. Примерно у такого же числа участниц с синдромом гипопластического эндометрия (29%, n=15 из 52) экспрессия FOX-белков в слизистой тела матки была сходна со здоровыми женщинами.

Учитывая задачи работы – оценить рецептивность эндометрия в среднюю стадию фазы секреции, в период предполагаемого имплантационного окна на 6-8 день после овуляции, именно в эти дни мы проводили аспирационную биопсию с получением образцов эндометрия для последующего их иммуногистохимического исследования. Нами определена сниженная экспрессия FOXA1 в биоптатах слизистой тела матки у 100% женщин контрольной группы, что позволяет предположить, что в указанный период времени в норме имеет место сниженная экспрессия FOXA1 на фоне преобладающего действия прогестерона, который тормозит эндометриальную экспрессию эстрогеновых рецепторов в железах и строме и, в целом, процессы пролиферации слизистой оболочки матки. Вероятно, максимальная экспрессия FOXA1 должна определяться в пролиферативную фазу менструального цикла, когда обеспечивается наиболее интенсивный процесс взаимодействия молекул эстрадиола с гормон-ответным участком эстрогеновых ядерных рецепторов. В секреторную фазу менструального цикла, когда процессы пролиферации тормозятся, значение FOXA1, по-видимому, снижается, в связи с чем у здоровых женщин экспрессия данного фактора транскрипции снижена.

В дизайне нашего диссертационного исследования не было предусмотрено изучение эндометриальных биоптатов в пролиферативную фазу менструального цикла. Исходя из описанных в литературе немногочисленных данных о значении FOXA1 для пролиферации эндометрия, есть основание предполагать возможное снижение экспрессии FOXA1 в пролиферативную фазу «эндометриального» цикла у женщин с «тонким» эндометрием (недостаточные темпы эстроген-обусловленной пролиферации эндометрия). Учитывая немногочисленные работы об изучении эндометриальной экспрессии FOX-белков, нет очевидно доказанных факторов, которые могли бы помочь объяснить полученные нами результаты. Однако в единичном исследовании у женщин с онкологическими процессами в слизистой тела матки была выявлена выраженная экспрессия FOXA1 в эндометрии [130], что позволяет предположить, как регуляторный и защитный механизм, снижение данного протеомного маркера в среднюю секреторную фазу «эндометриального цикла» для препятствия избыточной пролиферации слизистой оболочки матки.

В то же время, обосновано возникает вопрос: почему у части участниц с синдромом гипопластического эндометрия в период предполагаемого «окна имплантации» определяется выраженная экспрессия FOXA1? Вероятно, это может быть связано с десинхронизацией динамики экспрессии FOXA1 и фазовой трансформации слизистой оболочки матки. Не исключено, что в первую половину менструального цикла у женщин с «тонким» эндометрием экспрессия FOXA1 недостаточна, что приводит в итоге к формированию гипопластической слизистой тела матки, как проявления недостаточного эффекта эстрогенов в эндометрии при нормоэстрогенемии в периферической крови. Мы предполагаем, что у части женщин с «плохими» FOX-белками в целом запоздавшая увеличенная экспрессия FOXA1 в период имплантационного окна (как это выявлено в 42% эндометриальных образцов у женщин с «тонким» эндометрием в нашем исследовании) не может компенсировать недостаточную пролиферацию в первую фазу менструального цикла, в связи с противодействующими эффектами прогестерона при овуляторном менструальном цикле.

Еще одним возможным фактором, приводящим к репродуктивным неудачам у женщин, является снижение экспрессии FOXA2 в эндометрии в послеовуляторный период. FOXA2 считается более специфичной белковой молекулой, необходимой для обеспечения рецептивных свойств эндометрия [108, 109]. Очевидно, что снижение экспрессии FOXA2 в среднюю стадию фазы секреции снижает шансы успешной имплантации бластоцисты. В нашей работе получены результаты, что сниженная экспрессия FOXA2 чаще встречается у участниц с «тонким» эндометрием, чем у здоровых фертильных женщин и у женщин с нарушениями репродуктивной функции при нормальной толщине эндометрия. Эти данные еще раз показывают, что FOXA2 необходим для реализации процессов пролиферации эндометрия, а также позволяют думать о его важной функции именно в эндометрии в процессах имплантации и развития плодного яйца. Таких исследований в доступной литературе не обнаружено. В то же время сопоставимая со здоровыми женщинами экспрессия FOXA2 у ряда пациенток с «тонким» эндометрием (n=23, 44%) согласуется с описанными в литературе немногочисленными случаями наступления беременности при гипопластической слизистой оболочке матки [88, 141].

Несмотря на то, что в научной литературе описано немалое количество протеомных факторов и механизмов их действия, ряд аспектов протеомного уровня рецептивности слизистой оболочки матки остаются малоизученными. Так, например, в доступной литературе не описано данных по поводу ассоциаций экспрессии LIF, FOXA1, FOXA2 и экспрессии рецепторов половых стероидов [86, 124]. Учитывая, что адекватность и полноценность этих процессов необходима для рецептивности эндометрия и для дальнейшей успешной имплантации плодного яйца, данный вопрос является актуальным для современной науки. Можно предположить, что неполноценное взаимодействие протеомных и гормональных факторов является важным предиктором возникновения нарушений репродуктивной функции у женщин, поэтому данный вопрос требует дополнительного изучения.

В нашей работе впервые проведен сравнительный анализ характеристик эндометриальной экспрессии FOX-белков не только у женщин с нарушениями репродуктивной функции в анамнезе, но и при различной толщине эндометрия в соотношении с вариантами гормонально-рецепторного ответа слизистой оболочки матки и полноценной/неполноценной фазовой трансформацией эндометрия.

В целом, результаты нашей работы подтвердили, что наиболее важной характеристикой слизистой оболочки является полноценность её рецептивных свойств, а не отдельно толщина эндометрия. Именно данные анамнеза – бесплодие, повторяющиеся репродуктивные потери неясного генеза, а не сама по себе величина М-эхо, являются основанием для проведения углубленного сочетанного гистологического и иммуногистохимического исследований эндометрия с изучением экспрессии протеомных маркеров.

При проведении многокомпонентного дискриминантного анализа в данной работе подтверждено, что существенным анамнестическим предиктором снижения рецептивности слизистой оболочки матки является факт наличия в личном анамнезе двух и более выскабливаний полости матки. Данный анамнестический факт существенно значим ($p < 0,05$) для всех изученных протеомных молекул рецептивности: ER, PR в эндометрии ($p = 0,02$), LIF в люминальном эпителии ($p = 0,03$), LIF в железах ($p = 0,02$) и строме ($p = 0,03$) эндометрия, FOXA1 ($p = 0,02$) и FOXA2 ($p = 0,01$) в слизистой тела матки. Однако данное внутриматочное вмешательство и их количество не повышает частоту формирования гипопластического эндометрия.

В нашей работе проведен корреляционный анализ, по результатам которого было продемонстрировано, что нет ассоциаций между уровнями эстрадиола и прогестерона в периферической крови (при нормоэстрогенемии и овуляторном значении прогестерона, как это было в нашем исследовании) и величиной параметра М-эхо. Также по результатам корреляционного анализа не выявлено взаимосвязей между уровнями половых стероидов в периферической крови и выраженностью эндометриальной экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона, протеомных маркеров LIF, FOX-белков. В тоже время, результаты

корреляционного анализа показали, что имеют место существенные положительные взаимосвязи между величиной М-эхо и выраженностью эндометриальной экспрессии FOXA2 ($r=0.422$, $p<0,001$), что еще раз подтверждает значимость данного протеомного маркера для процессов пролиферации эндометрия.

В нашей работе по результатам логико-структурного анализа на основании выявленных пороговых значений счета эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии (для ER в железах – 145; для ER в строме – 155; для PR в железах – 105 и 285), определено, что указанные показатели могут быть прогностическими маркерами выраженности экспрессии LIF и FOX-белков в эндометрии. При «гиперэкспрессии» рецепторов эстрогенов и прогестерона в эндометрии значимо повышаются риски отличия эндометриальной экспрессии LIF и FOX-белков от здоровых фертильных женщин. Эти данные описаны впервые.

В нашем исследовании при проведении корреляционного анализа выявлены существенные, хотя и слабые, взаимосвязи между эндометриальной экспрессией LIF и FOXA1; но не обнаружены значимые взаимозависимости между экспрессией LIF и FOXA2 в слизистой оболочке матки. Последние результаты не совпадают с рядом исследований [86, 123]. Возможно, необходимы бóльшие по численности когорты женщин для уточнения подобных взаимосвязей. В тоже время, мы показали, что у пациенток с репродуктивными дисфункциями при определенных значениях счета эндометриальной экспрессии ER, PR (6-8 д.п.о.), превышающих соответствующие показатели у здоровых женщин, происходит однонаправленное изменение (снижение) экспрессии LIF и FOXA2 в слизистой оболочке матки. Эти данные в определенной степени позволяет предполагать взаимозависимость экспрессии LIF и FOXA2, что подтверждается в других работах [86, 106, 108].

Одной из задач диссертационного исследования была оценка эффективности терапевтического использования препаратов эстрадиола у женщин с «тонким» эндометрием для усиления процессов пролиферации слизистой оболочки матки. Несмотря на то, что уровень эстрадиола в периферической крови не определяет толщину эндометрия (наши данные и немногочисленные данные других авторов

[20, 137]), в практике применяется эмпирическая терапия препаратами эстрогенов для усиления пролиферативных процессов слизистой оболочки матки. Мы поставили задачу уточнить, от чего может зависеть эффективность реализации дополнительного датирования эстрадиола у пациенток с «тонким» эндометрием.

Выполнение работы пришлось на период пандемии инфекционного заболевания COVID-19 (11.03.2020-05.05.2023), в связи с чем большая часть женщин основной группы (n=31 из 52) отложили реализацию репродуктивной функции на неопределенный срок и не получали лечение.

В нашем исследовании 16 женщин основной группы (из 21 участницы, решивших продолжать попытки реализации репродуктивной функции) получали терапию препаратами половых стероидов (препараты экзогенного эстрадиола с 5 по 25 день менструального цикла и гестагены (дидрогестерон, микронизированный прогестерон) для поддержания секреторной фазы менструального цикла) в соответствии с инструкцией к препаратам. У всех партнеров пациенток была нормальная спермограмма. У женщин, предпринявших попытки реализации репродуктивной функции в естественном менструальном цикле, маточные трубы были проходимы. В динамике отслеживали изменение параметра М-эхо. Первичной целью такой терапии было усиление процессов пролиферации слизистой оболочки матки, что отражалось при УЗИ как увеличение параметра М-эхо на 11-13 день менструального цикла (при его длительности 28-30 дней). Конечной целью мы считали наступление беременности, что косвенно подтверждало преодоление нарушений рецептивности эндометрия.

Всем 16 женщинам, получавшим лечение, трансдермальные препараты эстрадиола гемигидрата были назначены в начальной дозе 1.0 мг или 1.5 мг в 1 дозе геля в соответствии с инструкцией по применению лекарственного препарата. Результаты динамического наблюдения показали, что у 4-х из этих женщин, у которых на начальных дозах эстрадиола было существенное увеличение параметра М-эхо до нормальных величин, в 75% случаев были отмечены полноценная фазовая трансформация слизистой оболочки матки, варианты гормонально-рецепторных характеристик эндометрия, экспрессия FOX-белков в эндометрии и в

100% случаев эндометриальная экспрессия LIF, сходные со здоровыми женщинами.

В изученной литературе содержится информация, что вероятная эффективная доза препаратов экзогенного эстрадиола, которая способна приводить к выраженной пролиферации слизистой оболочки матки при его изначально малой толщине, – 4 мг/сут [135]. Результаты нашей работы сопоставимы с немногочисленными исследованиями об оптимальной дозировке препаратов эстрадиола, так как у 11 из остальных 12 женщин из когорты (n=16) получавших терапию, при увеличении начальной дозы трансдермального эстрадиола гемигидрата до 4 мг/сут, был отмечен эффект в виде значительного усиления пролиферации эндометрия. У одной пациентки из данной когорты даже при получении увеличенной дозы эстрогенного препарата не было эффекта в виде изменения величины М-эхо, однако наступила беременность, которая закончилась рождением доношенного ребенка (в цикле зачатия величина М-эхо на 13 день менструального цикла составила 6 мм). У всех участниц исследования, кто получал более высокие дозы трансдермальных препаратов эстрадиола, в 100% случаев были выявлены отличные от нормы варианты гормонально-рецепторного ответа эндометрия (ИФТ-2,3,4) и в 83% случаев была неполноценная фазовая трансформация слизистой оболочки матки; при этом эндометриальная экспрессия таких протеомных маркеров, как LIF и FOX-белки, в большинстве случаев была сопоставима с таковыми показателями у здоровых фертильных женщин.

Конечной целью использования препаратов экзогенного эстрадиола в данном исследовании считали наступление беременности. За время проведения исследования у 5 из 16 женщин основной группы, не изменивших репродуктивные планы и использовавших трансдермальные препараты эстрадиола, наступила беременность. В подавляющем числе случаев у данных женщин были выявлены отличные от здоровых женщин варианты гормонально-рецепторного «ответа» слизистой оболочки матки и неполноценная фазовая трансформация эндометрия. В то же время, в большинстве биоптатов эндометрия у этих женщин наблюдалась сходная с группой контроля выраженная экспрессия LIF и сниженная экспрессия

FOXA1, в 60% случаев наблюдалась выраженная экспрессия FOXA2, как у здоровых женщин.

В литературе описаны случаи самостоятельной беременности в естественном менструальном цикле у женщин с «тонким» эндометрием [88, 141]. В нашей работе было 5 женщин, у которых беременность наступила самостоятельно до начала использования препаратов половых гормонов. Все пациентки этой когорты имели в анамнезе диагноз «бесплодие неясного генеза», и в 100% случаев данная репродуктивная проблема была спонтанно преодолена. Толщина эндометрия в преовуляторный период у этих 5 женщин составила от 4,6 до 6 мм. В 100% случаев у данных 5 женщин эндометриальная экспрессия FOXA1 и/или FOXA2 была сходна со здоровыми женщинами и в 60% экспрессия LIF в эндометрии была сопоставима с женщинами контрольной группы. Описанные факты подтверждают литературные данные о возможности самостоятельной беременности на фоне гипопластического эндометрия и наши предыдущие рассуждения о том, что гипопластическая слизистая оболочка матки не является абсолютным прогностическим маркером репродуктивных нарушений [88, 141].

Результаты проведенного нами лечения косвенно показывают, что применение препаратов эстрадиола у женщин с гипопластическим эндометрием возможно эмпирическим путем и может значимо усиливать процессы пролиферации слизистой оболочки матки, тем самым увеличивая шансы на наступление беременности. Минимальные дозы могут быть эффективны у небольшой когорты женщин с показателями рецептивности эндометрия, сопоставимыми со здоровыми женщинами. У подавляющей части женщин с гипопластической слизистой оболочкой матки необходимо использовать увеличенные дозы трансдермальных препаратов экзогенного эстрадиола (4 мг/сут).

Применение повышенных доз (4 мг/сут) препаратов эстрадиола может привести к увеличению величины М-эхо в случае гипопластического эндометрия, когда показатели экспрессии LIF и FOXA1, FOXA2 в эндометрии сопоставимы с аналогичными характеристиками слизистой оболочки матки у здоровых женщин.

В остальных случаях вопрос о методах увеличения пролиферации эндометрия при его гипоплазии остается открытым и требует дальнейших исследований.

Специфических методов по улучшению эндометриальной экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона, а также таких протеомных маркеров, как LIF и FOX-белки, в рутинной практике на данный момент нет, что является актуальной задачей современной науки. Полученные результаты нашего исследования позволяют рекомендовать выполнять у пациенток с репродуктивными дисфункциями неясного генеза при различной толщине эндометрия на этапе прегравидарной подготовки сочетанное гистологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов слизистой оболочки матки для подтверждения/исключения эндометриальной дисфункции, как причины неудач репродукции. Полученные результаты, отражающие характеристики рецептивности эндометрия у женщин с гипопластической слизистой оболочкой матки, важны для выбора доз трансдермальных препаратов эстрадиола для усиления пролиферации эндометрия.

ВЫВОДЫ

1. Для формирования гипопластического эндометрия существенно не значимы выскабливания полости матки в анамнезе и уровни сывороточных E_2 , P (при овуляторном м.ц.)

2. У каждой пятой женщины (21%, $n=11/52$) с гипопластическим эндометрием и нарушениями репродуктивной функции в анамнезе (I группа) определена сходная со здоровыми (III группа) эндометриальная экспрессия ER и PR (6-8 д.п.о.).

Для эндометриальной экспрессии ER, PR (6-8 д.п.о.) у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе, независимо от толщины эндометрия: уровни сывороточных E_2 , P (при овуляторном м.ц.) не являются существенными; повторные выскабливания полости матки в анамнезе – существенны.

3. Сниженная экспрессия LIF в люминальном эпителии и железах эндометрия (6-8 д.п.о.) определена достоверно чаще ($p<0,05$) у женщин I группы (38% и 33%), в отличие от женщин с нормальной толщиной эндометрия, независимо от анамнеза (II – с репродуктивными дисфункциями: 16% и 19%; III – здоровые женщины: 6% и 6%).

Сниженная экспрессия LIF в строме эндометрия (6-8 д.п.о.) определена достоверно чаще ($p<0,05$) у женщин с репродуктивными дисфункциями (I: 54%; II: 63%), чем у здоровых женщин (III: 12,5%).

Для эндометриальной экспрессии LIF (6-8 д.п.о.) у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе, независимо от толщины эндометрия: уровни сывороточных E_2 , P (при овуляторном м.ц.) не являются существенными; повторные выскабливания полости матки в анамнезе – существенны.

4. Выраженная (отличающаяся от показателей у здоровых женщин) экспрессия FOXA1 (6-8 д.п.о.) определена достоверно чаще ($p<0,05$) у женщин с репродуктивными дисфункциями (I: 58%; II: 73%), чем у здоровых женщин (III: 0%).

Сниженная (отличающаяся от показателей у здоровых женщин) экспрессия FOXA2 (6-8 д.п.о.) определена достоверно чаще ($p < 0,05$) в I группе (56%), чем во II (8%) и III (7%) группах.

В целом, у каждой второй женщины с репродуктивными дисфункциями (50%, $n=57/114$) экспрессия FOX-белков отличалась от соответствующих показателей у здоровых женщин, но у женщин с гипопластическим эндометрием – чаще: в 71% случаев.

Для эндометриальной экспрессии FOXA1 и FOXA2 (6-8 д.п.о.) у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе, независимо от толщины эндометрия: уровни сывороточных E_2 , P (при овуляторном м.ц.) не являются существенными; повторные выскабливания полости матки в анамнезе – существенны.

5. Показатели эндометриальной экспрессии (H-score): ER в железах >145 , ER в строме >155 , PR в железах >105 являются прогностическими факторами отличия эндометриальной экспрессии LIF, FOXA1 и FOXA2 от соответствующих показателей у здоровых женщин.

При корреляционном анализе выявлены значимые взаимосвязи между величиной М-эхо и экспрессией FOXA2 в эндометрии ($r=0.422$, $p < 0,001$).

6. У женщин с гипопластическим эндометрием (при нормоэстрогенемии) использование начальных доз трансдермальных препаратов эстрадиола (1-1,5 мг/сут) эффективно для увеличения М-эхо при условии экспрессии ER, PR, LIF, FOXA1, FOXA2, сходных с таковыми у здоровых женщин. У пациенток с перечисленными выше показателями рецептивности, отличающимися от таковых у здоровых женщин, трансдермальная терапия эстрадиолом оказывает эффект в виде увеличения М-эхо при использовании повышенных доз (4 мг/сут).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У женщин с репродуктивными неудачами неясного генеза при овуляторном менструальном цикле целесообразно проводить сочетанное гистологическое и иммуногистохимическое исследование эндометриальных биоптатов с определением экспрессии протеомных молекул (LIF, FOXA1, FOXA2).

2. Два и более выскабливаний полости матки в анамнезе – значимый фактор возможного формирования нарушения рецептивности эндометрия, независимо от его толщины. Гипопластический эндометрий (М-эхо <7 мм в преовуляторные дни), как изолированный показатель у женщин без репродуктивных неудач, не является самостоятельным показанием к морфологическому исследованию биоптатов эндометрия.

3. Трансдермальные препараты эстрадиола в дозе 1-1,5 мг/сут (с 5-го д.м.ц.) эффективны для усиления пролиферации эндометрия при показателях рецептивности (6-8 д.п.о.), сходных с таковыми у здоровых фертильных женщин: низкая экспрессия ER, PR – в железах, сниженная экспрессия ER и высокая экспрессия PR – в строме эндометрия; выраженная экспрессия LIF, FOXA2 и сниженная экспрессия FOXA1 в эндометрии. При экспрессии протеомных маркеров рецептивности эндометрия, отличающихся от соответствующих показателей у здоровых женщин, целесообразно сразу использовать повышенные дозы трансдермальных препаратов эстрадиола (4 мг/сут) для усиления пролиферации эндометрия. При отсутствии возможности проведения комплексного морфологического исследования эндометрия терапия трансдермальными препаратами эстрадиола может проводиться эмпирически.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

МЗ РФ	–	Министерство Здравоохранения Российской Федерации
17-ОНР	–	17-гидроксипрогестерон
CD-клетки	–	cluster designation (маркеры пролиферации и иммунного статуса эндометрия)
COVID-19	–	CoronaVirus Disease-2019, коронавирусная инфекция 2019 года
ER	–	эстрогеновые рецепторы (рецепторы эстрогенов)
ERE	–	estrogen response element, эстрогенный ответный элемент
ER α	–	эстрогеновые рецепторы α -типа
ER β	–	эстрогеновые рецепторы β -типа
ESHRE	–	European Society of Human Reproduction and Embryology (Европейское общество по репродукции человека и эмбриологии)
FOXA1	–	Forkhead box protein A1
FOXA2	–	Forkhead box protein A2
FOX-белки	–	Forkhead box (семейство факторов транскрипции)
FT ₄	–	свободный тироксин
FTest	–	свободный тестостерон
GR	–	глюкокортикоидный рецептор
H-score	–	гистохимический счет, Histochemical Score
hsp90	–	heat shock protein, белок теплового шока
MR	–	минералкортикоидный рецептор
PGRMC1	–	лиганд прогестеронного рецепторного мембранного компонента-1
PLA2	–	фосфолипаза A2, phospholipase A2
PR	–	прогестероновые рецепторы (рецепторы прогестерона)
PRA	–	A-рецепторы прогестерона
PRP	–	Platelet Rich Plasma, аутологичная плазма, обогащенная тромбоцитами
PRB	–	B-рецепторы прогестерона

PRC	–	С-рецепторы прогестерона
TF	–	факторы транскрипции
β -ХГЧ	–	бета-субъединица хорионического гонадотропина человека
АпоЕ, ApoE	–	аполипопротеин E
ВОЗ	–	Всемирная организация здравоохранения
ВРТ	–	вспомогательные репродуктивные технологии
ГП	–	городская поликлиника
д.м.ц.	–	день менструального цикла
д.п.о	–	день после овуляции
ДГЭА-С	–	дегидроэпиандростерона-сульфат
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
E ₂	–	эстрадиол
E ₂ /P	–	соотношение эстрадиола и прогестерона
ЗГТ	–	заместительная гормональная терапия
ИГХ	–	иммуногистохимический
ИКСИ	–	интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов
ИЛ	–	интерлейкин
ИЛ-11	–	интерлейкин-11
ИЛ-6	–	интерлейкин-6
ИМТ	–	индекс массы тела
ИФА	–	иммуноферментный анализ
ИФТ	–	иммунофенотип
ИФТ-1	–	первый иммунофенотип гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии
ИФТ-2	–	второй иммунофенотип гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии
ИФТ-3	–	третий иммунофенотип гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии

ИФТ-4	–	четвертый иммунофенотип гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии
ЛГ	–	лютеинизирующий гормон
ЛИФ, LIF	–	лейкемия ингибирующий фактор
ЛИФ, LIF-R	–	LIF-специфический рецептор
м.ц.	–	менструальный цикл
МГц	–	мегагерц
мРНК	–	матричная рибонуклеиновая кислота
НЛФ	–	недостаточность лютеиновой фазы
НОХ10	–	homeobox protein A-10
НОХ-гены	–	гомеозисные гены (homeobox protein)
ОБ	–	окружность бедер
ОТ	–	окружность талии
ОТ/ОБ	–	соотношение окружности талии к окружности бедер
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
Р	–	прогестерон
РНК	–	рибонуклеиновая кислота
РФ	–	Российская Федерация
СПб ГБУЗ	–	Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения
ТТГ	–	тиреотропный гормон
УЗИ	–	ультразвуковое исследование
ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России	–	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России
ФСГ	–	фолликулостимулирующий гормон
ЭКО	–	эстракорпоральное оплодотворение

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанова, Л. Эндометриальные пиноподии как маркеры имплантации человека (обзор литературы) / Л. Агаджанова // Проблемы репродукции. – 2004. – №3. – С. 6-11.
2. Аганезов, С.С. Особенности эндометриальной экспрессии лейкемия ингибирующего фактора у женщин с различным эстроген- прогестерон-рецепторным статусом эндометрия / С.С. Аганезов, В.Н. Эллиниди, А.В. Мороцкая, А.С. Артемьева, А.О. Нюганен, Н.В. Аганезова // Акушерство, Гинекология и Репродукция. – 2019. – №13 (2). – С. 85–94.
3. Аганезов, С.С. Экспрессия стероидных рецепторов в эндометрии у женщин с нарушениями в репродуктивной системе / С.С. Аганезов, К.Ю. Пономаренко, А.В., Мороцкая [и др] // Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe (East European Scientific Journal). – 2016. – №12. – С. 90-93.
4. Аганезов, С.С. Возможности снижения риска преждевременных родов с позиции доказательной медицины / С.С. Аганезов, Н.В. Аганезова // Акушерство и гинекология. – 2015. – №4. – С. 62-64.
5. Аганезов, С.С. Особенности гормон-рецепторного взаимодействия в эндометрии при овуляторном менструальном цикле у женщин с нарушением репродуктивной функции / С.С. Аганезов, В.Н. Эллиниди, К.Ю. Пономаренко, А.В. Мороцкая, Н.В. Аганезова // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2018. – №2 (62). – С. 63-67 doi: 10.17816/brmma12236.
6. Аганезов, С.С. Рецептивность эндометрия у женщин с нарушениями репродуктивной функции / С.С. Аганезов, Н.В. Аганезова, К.Ю. Пономаренко, А.В. Мороцкая // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т.66. – №3. – С. 135-142.
7. Аганезов, С.С. Экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона в эндометрии у женщин с нарушениями репродуктивной функции при различной функциональной активности желтого тела яичника / С.С. Аганезов, А.В. Кузьмина, В.Н. Эллиниди, К.Э. Гогичашвили, Н.В. Аганезова // Гинекология. – 2021. – №23 (6). – С. 516–523. DOI: 10.26442/20795696.2021.6.201068.

8. Аганезова, Н.В. Особенности эндометриальной экспрессии FOX-белков у женщин репродуктивного возраста при различной толщине эндометрия / Н.В. Аганезова, С.С. Аганезов, К.Э. Гогичашвили, А.С. Артемьева, А.О. Нюганен // Гинекология. – 2023. – №25 (3). – С. 328-336. DOI: 10.26442/20795696.2023.3.202358.
9. Аганезова, Н.В. Характеристики рецептивности эндометрия у женщин с различной толщиной эндометрия / Н.В. Аганезова, С.С. Аганезов, К.Э. Гогичашвили // Акушерство, Гинекология и Репродукция. – 2022. – №16 (2). – С. 108–121 <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.303>.
10. Айламазян, Э.К. Клетки иммунной системы матери и клетки трофобласта: «конструктивное сотрудничество» ради достижения совместной цели / Э.К. Айламазян, О.И. Степанова [и др.] // Актуальные вопросы акушерства и гинекологии. – 2013. – №11 – С. 12-21.
11. Айламазян, Э.К. Маркеры имплантационной восприимчивости эндометрия: роль и значение в циклах экстракорпорального оплодотворения / Э.К. Айламазян, М.А. Пальцев, Ю.С. Крылова [и др.] // Молекулярная медицина. – 2014. – № 3. – С. 3–8.
12. Айрапетов, Д.Ю. Этиологические факторы привычного выкидыша // Журнал акушерство и гинекология. – 2011. – №8. – С. 102-106.
13. Акушерство: национальное руководство / под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова и др. // М. ГЭОТАР-Медиа. – 2015. – 1080 с.
14. Амбарцумян, Э.М. Роль фактора, ингибирующего лейкемию в репродукции человека / Э.М. Амбарцумян, Л.М. Агаджанова // Акушерство и гинекология. – 2004. – №2. – С. 17-21.
15. Афян, А.И. Тонкий эндометрий в клинике вспомогательных репродуктивных технологий (обзор литературы) / А.И. Афян, Н.В. Долгушина Н.В. // Гинекология. – 2014. – №16 (5). – С. 78-83.
16. Бабичев, В.Н. Физиологический смысл множественности рецепторов половых гормонов // Биомедицинская химия. – 2005. – том 51. – вып. 6. – С. 603-616.

17. Бабиченко, И.И. Рецепторы к эстрогенам и прогестерону в эндометрии женщин при бесплодии / И.И. Бабиченко, М.В. Самойлов, К.Г. Серебренникова [и др.] // Вестник РУДН. – 2007. – №2. – С. 48-52.
18. Базина, М.И. Предгравидарная подготовка женщин при репродуктивных неудачах: автореф. дис. к-та мед. наук: 14.00.01; 2016: 2-11.
19. Бессмертная, В.С. Рецепторы к эстрогенам и прогестерону в эндометрии женщин при бесплодии / В.С. Бессмертная, М.В. Самойлов // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2007. – №2. – С. 48-52.
20. Боярский, К.Ю. Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ (обзор литературы) / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдуков, Н.А. Пальченко // Проблемы репродукции. – 2013. – № 4. – С. 51-60.
21. Бурлев, В.А. Отклик ядерных рецепторов прогестерона и эстрогена для наступления беременности у больных эндометриозом / В.А. Бурлев, Н.А. Ильясова // Проблемы репродукции. – 2018. – №2. – С. 88-96
22. Виноградова, Л.В. Рецептивность эндометрия в программах ЭКО при высоких преовуляторных уровнях прогестерона / Л. В. Виноградова, Н. Г. Мишиева, Т. А. Демура [и др.] // Проблемы репродукции. – 2014. – №4. – С. 52-57.
23. Выкидыш в ранние сроки беременности: диагностика и тактика ведения. Клинические рекомендации (протокол лечения) / Л. В. Адамян [и др.]. – М., 2016. – 33 с.
24. Демченко, Н.С. Морфологические и цитогенетические аспекты неразвивающейся беременности / Н. С. Демченко, Т. Б. Третьякова // Проблемы репродукции. – 2014. – Т. 20. – №6. – С. 76–82.
25. Довжикова, И.В. Современные представления о роли прогестерона во время беременности (обзор литературы) / И.В. Довжикова, М.Т. Луценко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2016. – Вып. 60. – С. 94-103.
26. Довжикова, И.В. Современные представления о роли эстрогенов во время беременности (обзор литературы) / И.В. Довжикова, М.Т. Луценко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2016. – Вып. 61. – С. 120-127.

27. Дюжева, Е.В. Принципы индивидуальной гормональной подготовки эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО / Е.В. Дюжева, Е.А. Коган, Е.А.Калинина, Л.Н. Кузьмичев // *Акушерство и гинекология*. – 2011. – № 7. – 2. – С. 39–45.
28. Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению) / *Клинические рекомендации (протокол лечения): МЗ РФ, 2019.*
29. Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению) / *Клинические рекомендации (протокол лечения): МЗ РФ, 2021.*
30. Занозин, А.С. Нарушение рецептивности эндометрия при первичном бесплодии женщин с синдромом недифференцированной дисплазии соединительной ткани и наследственными тромбофилиями / А.С. Занозин, Т.А. Демура, Д.Ю. Колосовский [и др.] // *Архив патологии*. – 2016. – Т. 78. – №6. – С. 23-29.
31. Зароченцева, Н.В Хронический эндометрит: этиология, клиника, диагностика, лечение / Н.В. Зароченцева, А.К. Аршакян, Н.С. Меньшикова Н.С. [и др.] // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2013. – №13 (5). – С. 21-27.
32. Захарова, Е.И. Психологический компонент «привычного невынашивания беременности» / Е. И. Захарова, А. С. Чуваева // *Консультативная психология и психотерапия*. – 2015. – № 1. – С. 104 – 115.
33. Казачков, Е.Л. Морфофункциональная характеристика нарушений рецептивности эндометрия при хроническом эндометрите / Е. Л. Казачков [и др.] // *Архив патологии*. – 2014. – Т. 76. – № 3. – С. 53 – 58.
34. Кветной, И.М. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации / И.М. Кветной, Ю.С. Крылова, Э.К. Айламазян // *Журнал Акушерства и женских болезней*. – 2013. – №62 (2). – С. 63-74.
35. Коган, Е.А. Молекулярные и морфологические аспекты нарушения рецептивности эндометрия при хроническом эндометрите / Е. А. Коган, Т. А. Демура [и др.] // *Архив патологии*. – 2012. – Т. 74. – № 3. – С. 15–17.
36. Козырева, Е.В. Иммуногистохимические особенности хронического эндометрита при бесплодии и невынашивании беременности (обзор литературы) /

Е.В. Козырева, Л.Ю. Давидян // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2015. – № 4 (36). – С. 124-136.

37. Корсак, В.С. 24-й отчет регистра ВРТ за 2018 год. Российская ассоциация репродукции человека. – СПб., 2020. – С. 35-38.

38. Краснопольский, В.И. Прегравидарная подготовка женщин с невынашиванием беременности и хроническим эндометритом / В.И. Краснопольский, Л.С. Логутова, Н.В. Зароченцева [и др.] // СПб. – 2014. – 31 с.

39. Крылова, Ю.С. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации / Ю.С. Крылова, И.М. Кветной, Э.К. Айламазян // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – №2. – С. 63-74.

40. Кузьмина А.В. Характеристика протеомного уровня рецептивности эндометрия у женщин с нарушениями репродуктивной функции: дис....канд. мед. наук: 14.01.01; защищена 21.01.2020: утв. 23.11.2020 / ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта». – Санкт-Петербург, 2020.

41. Кулешов, В.М. Маркеры воспаления в нормальном и тонком эндометрии при хроническом эндометрите / В.М. Кулешов, И.О. Маринкин [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2018. – №2. – С. 65-73
<https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.2.65-73>.

42. Лебедев, Г.С. Мужское бесплодие в Российской Федерации: статистические данные за 2000-2018 годы / Г.С. Лебедев, Н.А. Голубев. [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2019. – №4. – С. 4-13.

43. Левиашвили, М.М. Лейкемия-ингибирующий фактор и рецептивность эндометрия / М. М. Левиашвили, Н. Г. Мишиева [и др.] // Проблемы репродукции. – 2012. – №3. – С. 17-21.

44. Лещенко, О.Я. Хронический эндометрит и репродуктивные нарушения: версии и контраверсии. Бюллетень сибирской медицины. – 2020. – №19 (3). – С. 166–176.

45. Маринкин, И.О. Новая интерпретация снижения рецептивности эндометрия при привычном невынашивании беременности / И.О. Маринкин, В.М. Кулешов, Н.А. Илизарова [и др.] // StatusPraesens. – 2014. – №6. – С. 74-80.

46. Маринкин, И.О. Ультраструктурное исследование рецептивности эндометрия в условиях предгравидарной подготовки при привычном невынашивании / И.О. Маринкин И.О., Непомнящих Д.Л. [и др.] // Сибирский научный журнал. – 2014. – № 2. – С. 29–33.

47. Мелкозерова, О.А. Проблемы коммуникации эмбриона и эндометрия: маркеры нарушений и механизмы влияния / О.А. Мелкозерова, Н.В. Башмакова, А.В. Есарева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – №16 (5). – С. 29-36 DOI:10.17116/rosakush201616529-36.

48. Мороцкая, А.В. Молекулярные факторы рецептивности эндометрия / А.В. Мороцкая // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – №66. – С. 128-129.

49. Мороцкая, А.В. Морфофункциональные характеристики эндометрия у женщин с нарушениями в репродуктивной системе / А.В. Мороцкая // Медицинский академический журнал. – 2017. – №17 (3). – С. 53-61.

50. Неразвивающаяся беременность: методические рекомендации МАРС (Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины) / В.Е. Радзинский, С.А. Маклецова, И.А. Алеев, [и др.]. – М.: Редакция журнала StatusPraesens. – 2015. – 48 с.

51. Ольховская, М.А. Биомаркеры «имплантационного окна» (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2007. – № 1. – С. 72-77.

52. Оразов, М.Р. «Проблемный» эндометрий как фактор бесплодия: поиск путей преодоления продолжается / М.Р. Оразов, К.В. Краснопольская, Е.С. Силантьева, [и др.]. // Трудный пациент. – 2020. – №8. DOI: 10.24411/2074-1995-2020-10054.

53. Оразов, М.Р. Комбинированные терапевтические возможности при лечении дефицита лютеиновой фазы / М.Р. Оразов, В.Е. Радзинский, Е.Н. Носенко

Е.Н., [и др.]. // Гинекологическая эндокринология. – 2017. – №33 (1). – С.1-4. doi: 10.1080/09513590.2017.1399695. PMID: 29264988.

54. Оразов, М.Р. Тайны репродуктивных неудач: «тонкий» эндометрий / М.Р. Оразов, В.Е. Радзинский В.Е., [и др.]. // Оперативная гинекология. – 2018. – №2 (35).

55. Оразов, М.Р. Хронический эндометрит и дисфункция эндометрия – есть ли причинно-следственная связь? / М.Р. Оразов, Л.Р. Токтар, Л.М. Михалева, [и др.]. // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2020. – №8 (3). – С. 61–69. DOI: 10.24411/2303-9698-2020-13910.

56. Пальцев, М.А. Молекулярные аспекты эндометриальной дисфункции / М.А. Пальцев, И.М. Кветной, В.О. Полякова, [и др.]. // (в книге: Молекулярная морфология и прикладные аспекты нейроиммуноэндокринологии. – Москва. – 2015. – С. 239-252.

57. Пальцев, М.А. Молекулярные механизмы заболеваний репродуктивной системы / Лекционные очерки / М.А. Пальцев, Э.К. Айламазян, И.М. Кветной, В.А. Печеникова [и др.] // Серия «Молекулярная патология». – СПб, 2017. – С. 45-138.

58. Пономаренко, К.Ю. Рецептивность эндометрия у женщин с нарушениями в репродуктивной системе. / К.Ю. Пономаренко // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – №66 (4). – С. 90-97.

59. Пономаренко, К.Ю. Характеристика гормон-рецепторного аппарата эндометрия у женщин с нарушениями репродуктивной функции: дис....канд. мед. наук: 14.01.01; защищена 18.12.2018: утв. 08.04.2019 / ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта». – Санкт-Петербург, 2018.

60. Попова, М.В. Тонкий эндометрий как причина репродуктивных потерь и неудачных попыток ЭКО (обзор литературы) / М.В. Попова, В.В. Луцки, [и др.]. // Медико-социальные проблемы семьи. – 2020. – №25 (1).

61. Рудник, О.А. Современные представления о механизмах работы эстрогеновых рецепторов / О.А. Рудник // Медицинский журнал. – 2005. – №3. – С. 25-28.
62. Светлаков, А.В. Молекулярно-биологические аспекты имплантации у человека и животных / А.В. Светлаков, М.В. Яманова, А.Б. Егорова и др. // Проблемы репродукции. – 2002. – №2. – С. 16-28.
63. Сеидова, Л.А. Исследование маркеров рецептивности эндометрия в цервикальной слизи как неинвазивный метод оценки имплантационного потенциала / Л.А. Сеидова, С.Г. Перминова, Т.А. Демура Т.А. // Акушерство и гинекология. – 2015. – №5. – С. 74–79.
64. Серебренникова, К.Г. Диагностика и клинические критерии хронического эндометрита / К.Г. Серебренникова, Н.А. Арутюнян, А.И. Алехин // Гинекология. – 2018. – №20 (6). – С. 53-59.
65. Сидельникова, В.М. Невынашивание беременности. Руководство для практикующих врачей / В.М. Сидельникова, Г.Т. Сухих – М.: МИА; 2010. – 536 с.
66. Сидельникова, В.М. Эндокринология беременности в норме и при патологии // М.: МЕДпресс-информ. – 2009. – 352 с.
67. Словарь терминов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) / Glossary on ART Terminology / F. Zegers-Hochschild, G. D. Adamson [и др.] // Fertility and Sterility. – 2009. – Вып.92. – 11 с.
68. Стрижаков, А.Н. Ранние сроки беременности: осложнения и прогнозирование перинатальных исходов / А.Н. Стрижаков, И.В. Игнатко // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2012. – № 5 (11). – С. 5-12.
69. Тетрашвили, Н.К. Ведение беременности у женщин с привычным выкидышем, обусловленным иммунологическими нарушениями / Н.К. Тетрашвили, А.А. Агаджанова, Т.Б. Ионанидзе // Consilium Medicum. – 2010. – №6. – С. 34-38.
70. Толибова, Г.Х. Эндометриальная дисфункция у женщин с бесплодием: патогенетические детерминанты и клиничко-морфологическая диагностика: дис....канд. мед. наук: 14.01.01, 14.03.02; защищена 02.10.2018; / ФГБНУ «Научно-

исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта». – Санкт-Петербург, 2018.

71. Толибова, Г.Х. Эндометриальная дисфункция: алгоритм гистологического и иммуногистохимического исследования / Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль, М.А. Клещев [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2015. – Т. LXIV. – № 4. – С. 69- 77.

72. Файзулина, Д.И. Современные возможности таргентной профилактики имплантационной недостаточности эндометрия / Д.И. Файзулина, Н.А. Илизарова, И.Ф. Фаткуллин // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 6.

73. Шарфи, Ю.Ж. Цитокины и факторы роста как маркеры имплантационной способности эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). / Ю.Ж. Шарфи // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – №62 (4) – С. 88-93.

74. Шнейдерман, М.Г. Проблема тонкого эндометрия: возможности комбинированного негормонального лечения при подготовке к процедуре экстракорпорального оплодотворения / М.Г. Шнейдерман, Е.А. Калинина, В.Ю. Смольникова [и др.] // Гинекология. – 2014. – №16 (3) – С. 67-71.

75. Шуршалина, А.В. Морфофункциональные перестройки эндометрия в «окно имплантации»/ А.В. Шуршалина, Т.А. Демура // Журнал акушерство и гинекология. – 2011. – №7 (2) – С. 9-13.

76. Эллиниди, В.Н. Практическая иммуногистоцитохимия (Методические рекомендации) / В.Н. Эллиниди, Н.В. Аникеева, Н.А. Максимова – СПб: ВЦЭРМ МЧС России. – 2002. – 36 с.

77. Badve, S. FOXA1 expression in breast cancer--correlation with luminal subtype A and survival / S. Badve, D.Turbin // Clin Cancer Res. – 2007. – Vol. 13. – P. 4415-4421 doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0122.

78. Barrenetxea, G. Correlation between plasmatic progesterone, endometrial receptivity genetic assay and implantation rates in frozen-thawed transferred euploid embryos. A multivariate analysis / G. Barrenetxea, I. Romero, R. Celis, [et al] // Eur J

Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2021. – 263. – P. 192-197. doi: 10.1016/j.ejogrb.2021.05.047.

79. Bashiri, A. Recurrent Implantation Failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions. / A. Bashiri, K.I. Halper, R. Orvieto // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2018. – Vol. 16. – P. 121. doi: 10.1186/s12958-018-0414-2.

80. BenAyed-Guerfali, D. Association of FOXA1 and EMT markers (Twist1 and E-cadherin) in breast cancer / D. BenAyed-Guerfali, E. Dabbèche-Bouricha [et al] // *Mol Biol Rep.* – 2019. – Vol.46. – P. 3247-3255. doi: 10.1007/s11033-019-04784-w.

81. Bhatt, H. Uterine expression of leukemia inhibitory factor coincides with the onset of blastocyst implantation / H. Bhatt, L.J. Brunet, C.L. Stewart // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 1992. – Vol.88. – P. 11408-11412 doi: 10.1073/pnas.88.24.11408.

82. Bhusane, K. Secrets of Endometrial Receptivity: Some Are Hidden in Uterine Secretome / K. Bhusane, S. Bhutada, U. Chaudhari, [et al] // *Reprod. Immunol.* – 2016. – Vol. 75. – P. 226-236.

83. Bu, Z. Cumulative Live Birth Rate in Patients With Thin Endometrium: A Real-World Single-Center Experience / Z. Bu, L. Hu. [et al] // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2020. – №11. – P. 469. doi: 10.3389/fendo.2020.00469.

84. Buckett, W. The management of unexplained infertility: an evidence-based guideline from the Canadian Fertility and Andrology Society / W. Buckett, S. Sierra // *Reprod Biomed Online.* – 2019. – Vol. 39. – P. 633-640. doi: 10.1016/j.rbmo.2019.05.023.

85. Caserta, M.P. Through thick and thin: a pictorial review of the endometrium / M.P. Caserta, C. Bolan, M.J. Clingan // *Abdom Radiol (NY).* – 2016. – №41 (12). – P. 2312-2329. DOI: 10.1007 / s00261-016-0930-5.

86. Cha, J. Hunting for Fox(A2): Dual roles in female fertility / J. Cha, S.K. Dey // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2017. – №6 – P.1226–1228. DOI: [10.1073/pnas.1620648114](https://doi.org/10.1073/pnas.1620648114)

87. Chang, Y. Autologous platelet-rich plasma infusion improves clinical pregnancy rate in frozen embryo transfer cycles for women with thin endometrium / Y.

Chang, J. Li [et al] // *Medicine (Baltimore)*. – 2019. – Vol. 98. doi: 10.1097/MD.00000000000014062.

88. Check, J. Successful delivery despite conception with a maximal endometrial thickness of 4 mm / J. Check, C. Dietterich. [et al] // *Clin Exp Obstet Gynecol.* – 2003. – №30 (2-3). – P. 93-94.

89. Chen, M.J. Extended estrogen administration for women with thin endometrium in frozen-thawed in-vitro fertilization programs / M.J. Chen, J.H. Yang, [et al] // *J Ass Reprod Genet.* – 2006. – Vol.23. – P. 337-342. doi: 10.1007/s10815-006-9053-1.

90. Cheng, J.G. Dual control of LIF expression and LIF receptor function regulate Stat3 activation at the onset of uterine receptivity and embryo implantation / J.G. Cheng, J.R. Chen, L. Hernandez, [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2001. – №17;98 (15). – P. 8680-8685. doi: 10.1073/pnas.151180898.

91. Craciunas, L. Conventional and modern markers of endometrial receptivity: a systematic review and meta-analysis / L. Craciunas, I. Gallos, J. Chu, [et al] // *Hum Reprod Update.* – 2019. – №1;25(2). – P. 202-223. doi: 10.1093/humupd/dmy044.

92. Crha, I. Uterine microbiome and endometrial receptivity / I. Crha, P. Ventruba, J. Žáková, [et al] // *Ceska Gynekol.* – 2019. – Vol. 84. – P. 49-54.

93. DeMayo, F.J. New insights into progesterone receptor signaling in the endometrium required for embryo implantation / DeMayo, F.J., Lydon J. // *J Mol Endocrinol.* – 2019: JME-19-0212.R1. doi: 10.1530/JME-19-0212.

94. Demir, B. Estradiol supplementation in intracytoplasmic sperm injection cycles with thin endometrium / B. Demir, S. Dilbaz [et al] // *Gynecol Endocrinol.* – 2013. – Vol.29. – P. 42-45. doi: 10.3109/09513590.2012.705381.

95. Díaz-Gimeno, P. Window of implantation transcriptomic stratification reveals different endometrial subsignatures associated with live birth and biochemical pregnancy / P. Díaz-Gimeno, M. Ruiz-Alonso, P. Sebastian-Leon // *Fertil Steril.* – 2017. – №108 (4). – P. 703-710.e3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.07.007.

96. Dorostghoal, M. Overexpression of Endometrial Estrogen Receptor-Alpha in The Window of Implantation in Women with Unexplained Infertility / M. Dorostghoal,

H.O. Ghaffari, F. Marmazi, N. Keikhah // *Int J Fertil Steril.* – 2018. – Vol.12 – P.37–42. doi: 10.22074/ijfs.2018.5118.

97. Dvoran, M. Implantation and diagnostics of endometrial receptivity / M. Dvoran, J. Vodieka // *Ceska Gynekol. Fall.* – 2018. – №83 (4). – P. 291-298.

98. Fox, C. Local and systemic factors and implantation: what is the evidence? / C. Fox, S. Morin, J.W. Jeong, [et al] // *Fertil Steril.* – 2016. – №105 (4). – P. 873-84. DOI:10.1016/j.fertnstert.2016.02.018.

99. Franasiak, J.M. Prospective assessment of midsecretory endometrial leukemia inhibitor factor expression versus $\alpha\beta 3$ testing in women with unexplained infertility / J.M. Franasiak, K.J. Holoch, Y. Lingwen, [et al] // *Fertil Steril.* – 2014. – Vol.101 (6). – P. 1724-31. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.02.027.

100. Fu, X. FOXA1 upregulation promotes enhancer and transcriptional reprogramming in endocrine-resistant breast cancer / X. Fu, R. Pereira, C. De Angelis, [et al] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2019. – Vol. 116. – P. 26823-26834. DOI: [10.1073/pnas.1911584116](https://doi.org/10.1073/pnas.1911584116).

101. Gao, M. Abnormal expression of estrogen receptor is associated with thin endometrium / M. Gao, C. Cao [et al] // *Gynecological Endocrinology.* – 2019. – №35 (6). – P. 544-547. doi: 10.1080/09513590.2018.1554035.

102. Gonen, Y. Endometrial thickness and growth during ovarian stimulation: A possible predictor of implantation in in vitro fertilization / Y. Gonen, R.F. Casper, W. Jacobson [et al] // *Fertil Steril.* – 1989. – №52: 44650. [doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)60916-0](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)60916-0).

103. Guo, S.W. The endometrial epigenome and its response to steroid hormones / S.W. Guo // *Molecular and Cellular Endocrinology.* – 2012. – Vol.358. – Issue 2. – P. 185-196 doi: 10.1016/j.mce.2011.10.025.

104. Huang, J. Transcriptomic profiles in peripheral blood between women with unexplained recurrent implantation failure and recurrent miscarriage and the correlation with endometrium: A pilot study / J. Huang, N. Jin, H. Qin, [et al] // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 7. – P. 12-21. doi: 10.1371/journal.pone.0189159.

105. Hviid Saxtorph, M. Are different markers of endometrial receptivity telling us different things about endometrial function? / M. Hviid Saxtorph, G. Persson, T. Hallager, [et al] // *Am J Reprod Immunol.* – 2020. – №84 (6):e13323. doi: 10.1111/aji.13323.
106. Jeong, J.W. Foxa2 is essential for mouse endometrial gland development and fertility / J.W. Jeong, I. Kwak, K.Y. Lee [et al] // *Biol Reprod.* – 2010. – №83 (3). – P. 396-403 doi: 10.1095/biolreprod.109.083154.
107. Karavani, G. Endometrial thickness following early miscarriage in IVF patients – is there a preferred management approach? / G. Karavani, H. Alexandroni, D. Sheinin [et al] // *Reproductive Biology and Endocrinology.* – 2021. – №19 (1). – P. 93 doi: 10.1186/s12958-021-00780-7.
108. Kelleher, A.M. Forkhead box a2 (FOXA2) is essential for uterine function and fertility / A.M. Kelleher, W. Peng, J.K. Pru [et al] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2017. – №7; 114 (6). – P. E1018-E1026. doi: 10.1073/pnas.1618433114. DOI: [10.1073/pnas.1618433114](https://doi.org/10.1073/pnas.1618433114).
109. Kelleher, A.M. Integrative analysis of the forkhead box A2 (FOXA2) cisrome for the human endometrium / A.M. Kelleher, S.K. Bhura, G.W. Burns, [et al] // *FASEB J.* – 2019. – №33 (7). – P. 8543-8554. DOI: 10.1096/fj.201900013R.
110. Kelleher, A.M. Uterine glands coordinate on-time embryo implantation and impact endometrial decidualization for pregnancy success / A.M. Kelleher, J. Milano-Foster, S.K. Behura, T.E Spencer. // *Nat Commun.* – 2018. – Vol.22. – P. 2435. doi: 10.1038/s41467-018-04848-8.
111. Kim, H. Effect of Autologous Platelet-Rich Plasma Treatment on Refractory Thin Endometrium During the Frozen Embryo Transfer Cycle: A Pilot Study / H. Kim, J.E. Shin, H.S. Koo, [et al] // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2019. – Vol. 14. doi: 10.3389/fendo.2019.00061.
112. Krasnow, J.S. Comparison of transdermal versus oral estradiol on endometrial receptivity // J.S. Krasnow, B.A. Lessey, G. Naus [et al] // *Fertil Steril.* – 1996. – Vol.65. – P.332-336. doi: 10.1016/s0015-0282(16)58094-7.

113. Ku, C.W. How can we better predict the risk of spontaneous miscarriage among women experiencing threatened miscarriage? / C.W. Ku, J.C. Jr Allen, R. Malhotra // *Gynecol Endocrinol.* – 2015. – №31 (8). – P. 647-651. doi: 10.3109/09513590.2015.1031103.

114. Large, M.J. The regulation of embryo implantation and endometrial decidualization by progesterone receptor signaling / M.J. Large, F.J. DeMayo. // *Molecular and Cellular Endocrinology.* – 2012. – Vol.358. – Issue 2. – P. 155-165 doi: 10.1016/j.mce.2011.07.027.

115. Lee, D.K. Suppression of ERalpha activity by COUP-TFII is essential for successful implantation and decidualization / D.K. Lee, I. Kurihara, J.W. Jeong, [et al] // *Molecular Endocrinology.* – 2010. – Vol.24. – Issue 5. – P. 930–940 doi: 10.1210/me.2009-0531.

116. Lessey, B.A. Estrogen receptor-alpha (ER-alpha) and defects in uterine receptivity in women / B.A. Lessey, W.A. Palomino, K.B. Apparao, [et al] // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2006. – №4. doi: 10.1186/1477-7827-4-S1-S9.

117. Lessey, B.A. What exactly is endometrial receptivity? / B.A. Lessey, S.L. Young // *Fertility and Sterility.* – 2019. – Vol. 111. – №4. – P. 611-617. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.02.009.

118. Liang, Y.X. The high concentration of progesterone is harmful for endometrial receptivity and decidualization / Y.X. Liang, L. Liu, Z.Y. Jin, [et al] // *Sci Rep.* – 2018. – №8 (1). – P. 712. doi: 10.1038/s41598-017-18643-w.

119. Liu, K.E. The impact of a thin endometrial lining on fresh and frozen-thaw IVF outcomes: an analysis of over 40 000 embryo transfers / K.E. Liu, M. Hartman, A. Hartman, [et al] // *Hum Reprod.* – 2018. – Vol. 33. – P.1883–1888. doi: 10.1093/humrep/dey281.

120. Luo, X. Thicker endometrium on hCG trigger day improves the live birth rate of fresh cleavage embryo transfer in GnRH-agonist regimen of normogonadotrophic women / X. Luo, Y. Li, H. Zheng, [et al] // *Ann Transl Med.* – 2021. – Vol. 9 (10). – P. 856. doi: 10.21037/atm-21-1922.

121. Lv, H. Deciphering the endometrial niche of human thin endometrium at single-cell resolution / H. Lv, G. Zhao, P. Jiang, [et al] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2022. – №119 (8): e2115912119. doi: 10.1073/pnas.2115912119.
122. Maekawa, R. Thin endometrium transcriptome analysis reveals a potential mechanism of implantation failure / R. Maekawa, T. Taketani, Y. Mihara, [et al] // *Reprod Med Biol*. – 2017. – Vol. 16. – P. 206–227. doi: 10.1002/rmb2.12030.
123. Mouhayar, Y. Obstetrical complications of thin endometrium in assisted reproductive technologies: a systematic review / Y. Mouhayar, J.M. Franasiak, F.I. Sharara // *J Assist Reprod Genet*. – 2019. – Vol. 36 (4). – P. 607-611 doi: 10.1007/s10815-019-01407-y.
124. Nakshatri, H. FOXA1 (forkhead box A1) / H. Nakshatri, S. Badve // *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. – 2010. DOI: [10.1136/jcp.2007.052431](https://doi.org/10.1136/jcp.2007.052431).
125. Onogi, S. Endometrial thickness on the day of the LH surge: an effective predictor of pregnancy outcomes after modified natural cycle-frozen blastocyst transfer / S. Onogi, K. Ezoe, S. Nishihara, [et al] // *Human Reproduction Open*. – 2020. – № (4). doi: 10.1093/hropen/hoaa060.
126. Pan-Castillo, B. Morphophysical dynamics of human endometrial cells during decidualization / B. Pan-Castillo, S.A. Gazze, S. Thomas, [et al] // *Nanomedicine*. – 2018. – №14 (7). – P. 2235-2245. doi: 10.1016/j.nano.2018.07.004.
127. Park, S. Uterine development and fertility are dependent on gene dosage of the nuclear receptor coregulator REA / S. Park, S. Yoon, Y. Zhao, [et al] // *Endocrinology*. – 2012. – №153 (8). – P. 3982-94. DOI: 10.1210 / en.2012-1044.
128. Paulson, R. J. Introduction: Endometrial receptivity: evaluation, induction and inhibition / R. J. Paulson // *Fertil Steril*. – 2019. – №111. – P. 609-610. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.02.029.
129. Paulson, R.J. Hormonal induction of endometrial receptivity / R.J. Paulson // *Fertil Steril*. – 2011. – Vol. 96 (3). – P. 530-535. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.07.1097.

130. Qiu, M. FOXA1 promotes tumor cell proliferation through AR involving the Notch pathway in endometrial cancer / M. Qiu, W. Bao, J. Wang, [et al] // BMC Cancer. – 2014. – №11; 14. – P. 78. doi: 10.1186/1471-2407-14-78.
131. Recurrent pregnancy loss. ESHRE early Pregnancy Guideline Development Group Guideline of European Society of Human Reproduction and Embriology. 2017.
132. Recurrent pregnancy loss. ESHRE early Pregnancy Guideline Development Group Guideline of European Society of Human Reproduction and Embriology. 2023.
133. Ruiz-Alonso, M. Endometrial Receptivity Analysis (ERA): data versus opinions / M. Ruiz-Alonso, D. Valbuena, C. Gomez // Human Reproduction Open. – 2021. – № (2): hoab011. doi: 10.1093/hropen/hoab011.
134. Sauer, M.V. Endometrial responses to various hormone replacement regimens in ovarian failure patients preparing for embryo donation / M.V. Sauer, A.L. Stein, R.J. Paulson, [et al] // Affiliations expand. – 1991. – №35 (1). – P. 61-68. DOI: 10.1016/0020-7292(91)90065-d.
135. Sauer, M.V. Endometrial responses to various hormone replacement regimens in ovarian failure patients preparing for embryo donation / M.V. Sauer, A.L. Stein, R.J. Paulson, D.L. Moyer // Affiliations expand. – 1991. – №35 (1). – P. 61-68. DOI: 10.1016/0020-7292(91)90065-d.
136. Saxtorph, M.H. Assessing endometrial receptivity after recurrent implantation failure: a prospective controlled cohort study / M.H. Saxtorph, T. Hallager, G. Persson, [et al] // Reprod biomed online. – 2020. – №41 (6). – P. 998-1006. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.08.015.
137. Shufaro, Y. Thin unresponsive endometrium--a possible complication of surgical curettage compromising ART outcome / Y. Shufaro, A. Simon, N. Laufer, M. Fatum // J Ass Reprod Genet. – 2008. – №25. – P. 421-425. doi: 10.1007/s10815-008-9245-y.
138. Song, H. Dysregulation of EGF family of growth factors and COX-2 in the uterus during the preattachment and attachment reactions of the blastocyst with the luminal epithelium correlates with implantation failure in LIF-deficient mice / H. Song,

H. Lim [et al] // *Mol Endocrinol.* – 2000. – Vol. 14. – P. 1147-1161. doi: 10.1210/mend.14.8.0498.

139. Stewart, C. L. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor / C. L. Stewart, P. Kaspar [et al] // *Nature.* – 1992. – Vol. 359. – P.76-79. doi: 10.1038/359076a0.

140. Su, R.W. Implantation and Establishment of Pregnancy in Human and Nonhuman Primates / R.W. Su, A.T. Fazleabas // *Adv Anat Embryol Cell Biol.* – 2015. – №216. – P. 189-213. doi: 10.1007/978-3-319-15856-3_10.

141. Sundström, P. Establishment of a successful pregnancy following in-vitro fertilization with an endometrial thickness of no more than 4 mm / P. Sundström // *Human Reprod.* – 1998. – №13 (6). – P. 1550-1552. DOI:10.1093/humrep/13.6.1550.

142. Swinstead, E.E. Steroid Receptors Reprogram FoxA1 Occupancy through Dynamic Chromatin Transitions / E.E. Swinstead, T.B. Miranda, V. Paakinaho, [et al] // *Author Manuscript Collection.* – 2017. – Vol.165. – P. 593–605. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.067.

143. Teh, W.T. What is the contribution of embryo-endometrial asynchrony to implantation failure? / W.T. Teh, J. McBain, P. Rogers // *J Assist Reprod Genet.* – 2016. – Vol. 33 (11). – P. 1419-1430. doi: 10.1007/s10815-016-0773-6.

144. Tourgeman, D.E. Is there evidence for preferential delivery of ovarian estradiol to the endometrium? / D.E. Tourgeman, R. Boostanfar, L. Chang, [et al] // *Fertil Steril.* – 2001. – Vol.75. – P.1156-1158. doi: 10.1016/s0015-0282(01)01786-1.

145. Usadi, R.S. Endometrial development and function in experimentally induced luteal phase deficiency / R.S. Usadi, J.M. Groll, B.A. Lessey, [et al] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2008. – №93 (10). – P. 4058-64. doi: 10.1210/jc.2008-0460.

146. Vasquez, Y. M. FOXO1 regulates uterine epithelial integrity and progesterone receptor expression critical for embryo implantation / Y.M. Vasquez, X. Wang, M. Wetendorf, [et al] // *PLoS Genet.* – 2018. – Vol. 14 (11). – e1007787. doi: 10.1371/journal.pgen.1007787.

147. von Wolff, M. Only women's age and the duration of infertility are the prognostic factors for the success rate of natural cycle IVF / M. von Wolff, A.K.

Schwartz, N. Bitterlich [et al] // Arch Gynecol Obstet. – 2019. – Vol. 299 (3). – P. 883-889. doi: 10.1007/s00404-018-5034-8.

148. Wetendorf, M. Decreased epithelial progesterone receptor A at the window of receptivity is required for preparation of the endometrium for embryo attachment

149. / M. Wetendorf, S.P. Wu, X. Wang [et al.] // Biol Reprod. – 2017. – Vol. 96 (2). – P. 313-326. DOI: 10.1095/biolreprod.109.083154.

150. Williams obstetrics. 24th Edition / Cunningham et al. – 2014. – 1377 p.

151. Xi, J. Electroacupuncture Improves Pregnancy Outcomes in Rats with Thin Endometrium by Promoting the Expression of Pinopode-Related Molecules / J. Xi, J. Cheng, C.C. Jin, [et al] // Biomed Res Int. – 2021. – Vol. 15. – P. 6658321. DOI:10.1155/2021/6658321.

152. Yang, Y.A. Current perspectives on FOXA1 regulation of androgen receptor signaling and prostate cancer / Y.A. Yang, J. Yu // Genes & Diseases. – 2015. – Vol. 2. – Issue 2 – P. 144-151. DOI: [10.1016/j.gendis.2015.01.003](https://doi.org/10.1016/j.gendis.2015.01.003).

153. Young, S.L. Evaluation of endometrial function: a Heracleian or Sisyphean task? / S.L Young // Fertil Steril. – 2017. – Vol.108. – P. 604-605. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.07.1166.

154. Young, S.L. Oestrogen and progesterone action on endometrium: a translational approach to understanding endometrial receptivity / S.L Young //Reprod Biomed Online. - 2013. – Vol. 27 (5). – P. 497-505. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.06.010.

155. Yusuf, A.NM. Hyperandrogenism and Its Possible Effects on Endometrial Receptivity: A Review / A.NM. Yusuf, M.F. Amri, A. Ugusman, [et al] // Int J Mol Sci. – 2023. – Vol. 27; 24 (15): 12026. doi: 10.3390/ijms241512026.

156. Zadehmodarres, S. Treatment of thin endometrium with autologous platelet-rich plasma: a pilot study / S. Zadehmodarres, S. Salehpour, N. Saharkhiz, L. Nazari // JBRA Assist Reprod. – 2017. – Vol. 21. – P. 54–56. doi: 10.5935/1518-0557.20170013.

157. Zhang, J. Effect of Endometrium Thickness on Clinical Outcomes in Luteal Phase Short-Acting GnRH-a Long Protocol and GnRH-Ant Protocol / J. Zhang, Y.F. Sun, Y.M. Xu [et al] // Front Endocrinol (Lausanne). – 2021. – №12: 578783 doi: 10.3389/fendo.2021.578783.

158. Zhao, Y. The coregulator, repressor of estrogen receptor activity (REA), is a crucial regulator of the timing and magnitude of uterine decidualization / Y. Zhao, S. Park, M.K. Bagchi, [et al] // *Endocrinology*. – 2013. – Vol.154. – P. 1349-1360 doi: 10.1210/en.2012-2026.