

*На правах рукописи*

ГОГИЧАШВИЛИ  
Ксения Эдуардовна

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

3.1.4. – акушерство и гинекология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:**

**Аганезова Наталия Владимировна** – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Официальные оппоненты:**

**Гзгзян Александр Мкртичевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением вспомогательных репродуктивных технологий и консультативно-диагностическим отделением ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

**Мелкозерова Оксана Александровна** – доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по науке ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Ведущая организация:**

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии».

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 года в \_\_:\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета 99.2.037.02 при ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого 6-8

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации и на сайте [www.lspbgmu.ru](http://www.lspbgmu.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 года.

**Ученый секретарь  
диссертационного совета**  
доктор медицинских наук

**Молчанов Олег Леонидович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### 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 (Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению) / Клинические рекомендации (протокол лечения): МЗ РФ, 2021; Европейское руководство «Привычная потеря беременности» (Recurrent pregnancy loss. Guideline of European Society of Human Reproduction and Embryology, 2023).

Этиология гравидарных неудач у женщин репродуктивного возраста многокомпонентна, однако наименее изученной остается эндометриальная дисфункция (Толибова Г.Х., 2018).

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 (Оразов М.Р. и др., 2018). Формирование гипопластического эндометрия может быть на фоне воспалительных, посттравматических (выскабливание матки), гипоэстрогенных состояний. Возможной причиной идиопатического уменьшения толщины эндометрия может быть дисбаланс протеомных маркеров (Оразов М.Р. и др., 2018; Оразов М.Р. и др., 2020).

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 (Шуршалина А.В. и др., 2011; Шарфи Ю.Ж., 2013; Мелкозерова О.А. и др., 2016; Ruiz-Alonso M., et al., 2021). Исследователи отмечают, что полноценная рецептивность слизистой тела матки реализуется при нормальной толщине эндометрия (Zhang J., et al, 2021). Рецептивность «тонкого» эндометрия (ТЭ) 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 ТЭ таких исследований крайне мало (Оразов М.Р. и др., 2020).

Также немногочисленны данные об экспрессии в ТЭ такого протеомного маркера рецептивности эндометрия, как лейкемия ингибирующего фактора (leukemia inhibitory factor, **LIF**), относящегося к семейству цитокинов. Известно, что в норме его эндометриальная экспрессия значимо выражена в период «окна имплантации» (Шарфи, Ю.Ж. и др., 2013; Мелкозерова О.А. и др., 2016).

Практически не изучена экспрессия в ТЭ 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 нормального гормонально-рецепторного ответа (Kelleher A.M. et al., 2017; Fu X. et al., 2019). 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 (Kelleher A.M. et al., 2017). В экспериментальных исследованиях на мышах (Jeong J.W. et al., 2010) 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 женщин репродуктивного возраста (при нормальной толщине слизистой тела матки) в доступной литературе единичны (Kelleher A.M. et al., 2017). Исследований экспрессии указанных протеомных маркеров в ТЭ 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 ТЭ 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-anamнестические данные, оценить ультразвуковые параметры М-эхо эндометрия, уровни половых стероидов (эстрадиола (E<sub>2</sub>), 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-anamнестическими данными, значениями уровней E<sub>2</sub>, P в периферической крови и показателями М-эхо эндометрия;

3. оценить характеристики экспрессии лейкоemia ингибирующего фактора (LIF), белков FOXA1 и FOXA2 в эндометрии в соотношении с клинико-anamнестическими данными, содержанием E<sub>2</sub>, 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-anamнестический, 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» Минздрава России – 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 нормоэстрогемии (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 нормоэстрогемии 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 нормоэстрогенемии) 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 экспрессия 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 E<sub>2</sub>, 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 14<sup>th</sup> 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 16<sup>th</sup> Congress of the European Society of Contraception and Reproductive Health (Ghent, Belgium, 2022); the 30<sup>th</sup> World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (Amsterdam, The Netherlands, 2022); 19<sup>th</sup> 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 31<sup>th</sup> World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (Vienna, Austria, 2023); 15<sup>th</sup> Congress of the European Society of Gynecology (Amsterdam, The Netherlands, 2023).

Основное содержание работы отражено в 14 печатных работах, в том числе 7 – 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» МЗ РФ.

#### **Личный вклад автора в работу**

Автор участвовал в планировании исследования: разработке специальных карт-анкет для сбора клинико-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 клинико-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 клинико-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 158 источников (76 российских и 82 иностранных). 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.

### СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

#### Материалы и методы исследования

Первоначально обследовано 178 женщин с репродуктивными дисфункциями неясного генеза в анамнезе, из них исключены 64 участницы с морфологически верифицированным диагнозом «хронический эндометрит». Остальные 114 пациенток с репродуктивными дисфункциями поделены на группы: основная (I) (n=52) – женщины с ТЭ (М-эхо <7 мм); группа сравнения (II) (n=62) – женщины с нормальной толщиной эндометрия (М-эхо  $\geq$  7 мм). В контрольную группу (III) (n=16) вошли здоровые фертильные женщины.

Критерии включения в основную группу и группу сравнения: возраст 20-40 лет; наличие в анамнезе репродуктивных неудач неясного генеза (бесплодие, невынашивание беременности); нормальный уровень гонадотропных гормонов, пролактина, эстрадиола, андрогенов в периферической крови, эутиреоз; овуляторный м.ц.; подписанное информированное согласие. *Дополнительные критерии включения* (по данным УЗИ на 11-13 д.м.ц., при длительности м.ц. 28-30 дней): *для основной группы* – гипопластический эндометрий (М-эхо <7 мм); *для группы сравнения* – нормальная толщина эндометрия (М-эхо  $\geq$  7 мм).

Критерии исключения: тяжелые соматические заболевания (сахарный диабет, артериальная гипертензия, тяжелые заболевания печени и почек, т.д.); органическая патология центральной нервной системы; системные аутоиммунные заболевания (кроме аутоиммунного тиреоидита при эутиреозе); злокачественные гормон-продуцирующие новообразования; ожирение (индекс массы тела  $\geq$  30 кг/м<sup>2</sup>); отягощенный по тромбозам семейный и личный анамнез; выявленные значимые тромбофилические состояния; хронический эндометрит по данным морфологического исследования биоптатов эндометрия; аномалии развития матки; эндометриоз; клинически значимая миома матки (узлы  $\geq$  30 мм, субмукозная форма); аменорея; прием эстроген- и/или гестагенсодержащих препаратов (менее, чем за 3 месяца до включения в исследование); инфекционно-воспалительный процесс уrogenитального тракта в период предполагаемого внутриматочного вмешательства.

Клинико-anamnestический метод: заполнение разработанных специальных карт-анкет (5 разделов, 303 вопроса): общие сведения, психосоциальные характеристики; семейный, акушерско-гинекологический, соматический анамнезы; данные объективного обследования.

Ультразвуковое исследование проводили на 11-13 д.м.ц. (при длительности 28-30 дней), в двух м.ц. подряд и в том м.ц., в котором проводили биопсию эндометрия; выполняли трансабдоминальное УЗИ конвексным датчиком (2-5 МГц), трансвагинальное УЗИ – внутрисполостным датчиком (4-9 МГц) (ультразвуковой аппарат «Mindray DC-55» (Китай)).

Определение уровней гормонов в периферической крови (эндокринная лаборатория ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», зав.лаб. – к.б.н. Ткаченко Н.Н.) проводили *иммуноферментным методом* – гонадотропинов (фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ)) – 2-3 д.м.ц.; дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭА-С), 17-гидроксипрогестерона (17-ОНП) («Алкор Био», Россия), свободного тестостерона (FTest) («DRG Diagnostics», Германия) – 3-5 д.м.ц.; *хемилюминесцентным методом* – E<sub>2</sub> (11-13 д.м.ц.) и E<sub>2</sub>, P (6-8 д.п.о.) («Beckman Coulter», США), тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (FT<sub>4</sub>), пролактина («Алкор Био», Россия) – любой д.м.ц.

Бактериологическое исследование (лаборатория микробиологии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», зав.лаб. – д.м.н., профессор Савичева А.М.) материала из урогенитального тракта выполняли с использованием микроскопического, культурального и молекулярно-биологического (полимеразная цепная реакция) методов.

Биопсию эндометрия выполняли на 6-8 д.п.о. (при нормобиоценозе урогенитального тракта), в этот же день получали образец крови для определения сывороточных уровней E<sub>2</sub>, P.

Морфологический метод исследования эндометрия. Биоптаты эндометрия обрабатывали в гистопроцессоре Leica ASP200 (Германия); выполняли срезы толщиной 3-5 мкм (микротомы Microm HM340E (Thermo Scientific, США)), окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике гистологического исследования. Иммуногистохимическим (ИГХ) методом определяли экспрессию ER и PR (с применением моноклональных мышиных антител clone 1D5, clonePgR 636, RTU, DakoCytomation, Дания). Визуальную оценку эндометриальной экспрессии ER, PR (микроскоп «Leica DM200») проводили с использованием формулы: H-score (Histochemical Score) = 1 × (% клеток со слабо окрашенными ядрами) + 2 × (% клеток с умеренно окрашенными ядрами) + 3 × (% клеток с сильно окрашенными ядрами); значения H-score в диапазоне от 0 до 300 (патоморфологическое отделение ФГБУ «ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова», зав. отд. – к.м.н. Эллиниди В.Н.).

Из парафиновых блоков формировали ТМА-матрицы (установка ТМА Grand Master (3D Histech, Венгрия)) (патологоанатомическое отделение ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова», зав.отд. – к.м.н. Артемьева А.С.). Окрашивание препаратов проводили с

использованием моноклональных антител Anti-FOXA1, Anti-FOXA2, поликлональных антител Anti-LIF (автоматизированная система Ventana BenchMark ULTRA (Ventana, США)). Препараты сканировали (Pannoramic 1000 (3D Histech, Венгрия)) и по цифровым изображениям с применением визуально-количественной шкалы оценивали экспрессию LIF, FOXA1, FOXA2 в эндометрии: 0 – отсутствие окрашивания, 1 – слабое окрашивание (0-1 – сниженная экспрессия), 2 – выраженное окрашивание (2 – выраженная экспрессия).

Статистический анализ данных выполняли в программах «Statistica portable v.13.5» (TIBCO Software Inc.), «Microsoft Excel 2010», IBM SPSS 23 (США). Для количественных показателей определяли среднее арифметическое (M), стандартную ошибку среднего (m); для качественных – процентные соотношения. Использован многофакторный статистический метод обработки данных: оценку достоверности различий между исследуемыми группами проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни; для качественных показателей – критерий Хи-квадрат; для оценки взаимосвязей между показателями – критерий ранговой корреляции г-Спирмена; использовали линейный дискриминантный анализ по Фишеру; логико-структурный анализ с расчетом отношения шансов (OR). Статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$  – 95% уровень значимости.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Средний возраст участниц:  $32,5 \pm 0,6$  (I),  $33,1 \pm 0,6$  (II),  $32,5 \pm 0,6$  (III) ( $p > 0,05$ ). Длительность м.ц. –  $29,1 \pm 0,6$  (I),  $28,5 \pm 0,8$  (II),  $28,7 \pm 0,9$  (III) ( $p > 0,05$ ). Выскабливания полости матки в анамнезе имели 40% женщин ( $n=21/52$ ) I группы и 47% ( $n=29/62$ ) во II группе; два и более внутриматочных вмешательств в анамнезе – 52% ( $n=11/21$ ) участниц I группы и 45% ( $n=13/29$ ) пациенток II группы ( $p > 0,05$ ). В структуре гинекологической патологии в анамнезе у женщин I и II групп лидировало бесплодие: 79% ( $n=41$ ) (I) и 68% ( $n=42$ ) (II). У женщин контрольной группы не было гинекологических заболеваний и внутриматочных вмешательств.

Уровни гонадотропных гормонов, пролактина, исследованных андрогенов, гормонов, характеризующих функцию щитовидной железы, в периферической крови были в пределах референсных значений и сопоставимы у женщин всех групп ( $p > 0,05$ ) (таблица 1).

**Таблица 1** – 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	$8,3 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,3$	$6,2 \pm 0,5$	1,8-11,3
ЛГ (2-3 д.м.ц.), мМЕ/мл	$6,1 \pm 0,3$	$5,3 \pm 0,3$	$5,3 \pm 0,4$	1,1-8,7
Пролактин, мМЕ/мл	$290,6 \pm 14,4$	$286,8 \pm 18,2$	$285,4 \pm 25,7$	70-566
17-ОНР (3-5 д.м.ц.), моль/л	$1,8 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,5$	0,3-2,8

ДГЭА-С (3-5 д.м.ц.), кмоь/л	2,5±0,3	4,3±0,3	4,6±0,4	0,8-10,1
FTest (3-5 д.м.ц.), пмоь/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 <sub>4</sub> , нмоь/л	12,6±0,2	13,4±0,4	12,4±0,4	10,2-23,2

\*для всех сравнений  $p > 0,05$

У всех пациенток определены овуляторное значение Р ( $\geq 16,1$  нмоь/л, 6-8 д.п.о.) и нормоэстрогенемия (11-13 д.м.ц., 6-8 д.п.о.) в крови, без достоверных различий ( $p > 0,05$ ) (таблица 2). В течение двух м.ц. подряд проводили УЗИ органов малого таза на 11-13 д.м.ц. Существенные различия наблюдались в величине М-эхо ( $p < 0,01$ ) между женщинами с ТЭ (I группа) и с нормальной толщиной эндометрия (II и III группы), что было основанием для разделения участниц на группы (таблица 2).

**Таблица 2** – Уровни половых стероидов в периферической крови в цикле проведения биопсии эндометрия (6-8 д.п.о.) у женщин, включенных в исследование

Показатели	M±m			p	Референсные значения
	Основная группа (М-эхо <7 мм) (n=52)	Группа сравнения (М-эхо $\geq 7$ мм) (n=62)	Группа контроля (М-эхо $\geq 7$ мм) (n=16)		
E <sub>2</sub> , пмоь/л (11-13 д.м.ц.)	531,7±32,4	589,7±34,3	624,4±52,2	p <sub>1-2</sub> =0,8; p <sub>1-3</sub> =0,4; p <sub>2-3</sub> =0,6	180-1070
E <sub>2</sub> , пмоь/л (6-8 д.п.о.)	595,2±36,2	685,9±40,3	707,4±66,1	p <sub>1-2</sub> =0,1; p <sub>1-3</sub> =0,1; p <sub>2-3</sub> =0,8	
P, нмоь/л (6-8 д.п.о.)	47,7±3,4	44,2±2,6	39,1±4,9	p <sub>1-2</sub> =0,4; p <sub>1-3</sub> =0,2; p <sub>2-3</sub> =0,4	16,1-59,1
E <sub>2</sub> /P (6-8 д.п.о.)	14,2±0,9	15,9±1,3	19,9±1,8	p <sub>1-2</sub> =0,3; p <sub>1-3</sub> =0,06; p <sub>2-3</sub> =0,1	
М-эхо, мм	5,7±0,7	9,1±0,6	8,3±0,8	p <sub>1-2</sub> =1*10 <sup>-8</sup> ; p <sub>1-3</sub> =1*10 <sup>-7</sup> ; p <sub>2-3</sub> =0,6	

На 6-8 д.п.о. проводили аспирационную биопсию эндометрия. При гистологическом исследовании биоптатов эндометрия в контрольной группе (n=16) определена полноценная среднесекреторная трансформация слизистой оболочки тела матки. Сходные данные определены у 25% женщин (n=13/52) I группы и у 39% женщин (n=24/62) II группы; у остальных участниц (75% (n=39/52) (I), 61% (n=38/62) (II) случаев соответственно) эндометрий не соответствовал среднесекреторной фазе. Данные различия гистологических характеристик эндометрия были при сходных значениях сывороточных уровней E<sub>2</sub>, P в крови ( $p > 0,05$ ).

При проведении ИГХ исследования биоптатов эндометрия (6-8 д.п.о.) у женщин контрольной группы определены показатели экспрессии: в железах – низкая ER, PR, в строме – снижение ER, высокая PR (иммунофенотип-1 (ИФТ-1) гормонально-рецепторного «ответа» эндометрия) (Аганезов С.С. и др., 2018). ИФТ-1 определен: в I группе – в 21% случаев (n=11/52); во II группе – в 32% случаев (n=20/62). У остальных пациенток I и II групп (79% и 68%, соответственно) определены отличные от здоровых варианты гормонально-рецепторных

взаимодействий в эндометрии (ИФТ-2,3,4) с изолированной или сочетанной гиперэкспрессией ER, PR.

Эндометриальная экспрессия ER, PR в железах и строме эндометрия у женщин I и II групп с ИФТ-2,3,4 значительно отличалась от таковой у женщин с репродуктивными нарушениями с ИФТ-1 и от здоровых женщин ( $p < 0,05$ ). Показатели экспрессии ER, PR у женщин I и II групп с ИФТ-1 сопоставимы с таковыми у здоровых женщин ( $p > 0,05$ ) (таблица 3).

**Таблица 3** - 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

Показатели (6-8 д.п.о.)	Группы		M±m		
	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=16)
	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
	$p_{1-2}=0,1; p_{1-3}=0,2; p_{1-4}=0,05; p_{1-5}=0,05; p_{2-3}=1,0; p_{2-4}=0,4; p_{2-5}=0,05; p_{3-4}=0,5; p_{3-5}=0,06; p_{4-5}=0,1$				

Уточнены особенности экспрессии ER, PR в соотношении с величиной М-эхо пациенток I группы с ТЭ (n=52) в подгруппах: Ia (n=42) – ТЭ (7 мм > М-эхо ≥ 5 мм); Ib (n=10) – «абсолютно тонкий» эндометрий (М-эхо < 5 мм). Проводили сравнительный анализ экспрессии ER, PR в сравнении со здоровыми женщинами (n=16).

У женщин с нарушениями репродукции в анамнезе с различной толщиной ТЭ и из группы контроля выявлены существенные различия всех показателей экспрессии ER, PR в эндометрии ( $p < 0,01$ ), кроме экспрессии PR в строме. Не выявлено различий экспрессии ER, PR среди женщин с «тонким» и «абсолютно тонким» эндометрием ( $p > 0,05$ ) (таблица 4).

**Таблица 4** – 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

Показатели (6-8 д.п.о.)	M±m			p
	Основная группа (n=52)		Группа контроля (М-эхо ≥ 7 мм) (n=16)	
	Подгруппа Ia (7 мм > М-эхо ≥ 5 мм) (n=42)	Подгруппа Ib (М-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	$p_{1-2}=0,5; p_{1-3}=0,04; p_{2-3}=0,01$

Проведен сравнительный анализ эндометриальной экспрессии ER, PR в соотношении с различной функциональной активностью желтого тела яичника (ЖТЯ) (таблица 5). Высокая функциональная активность ЖТЯ ( $P \geq 30$  нмоль/л) (Ku C.W., et al., 2015) определена у женщин: в I группе – у 65% ( $n=34/52$ ); во II группе – у 74% ( $n=46/62$ ); в III группе – у 56% ( $n=9/16$ ). Невысокая функциональная активность ЖТЯ ( $P < 30$  нмоль/л) отмечена: в I группе – у 35% ( $n=18/52$ ); во II группе – у 26% ( $n=16/62$ ); в III группе – у 44% ( $n=7/16$ ). В группах не выявлено достоверных различий в эндометриальной экспрессии ER, PR при различной функциональной активности ЖТЯ ( $p > 0,05$ ) (таблица 5). Определено, что высокая функциональная активность ЖТЯ не предопределяет адекватную экспрессию ER, PR.

**Таблица 5** – 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	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)	
	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)
Показатели (6-8 д.п.о.)	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 <sub>1-2</sub> =0,2; p <sub>1-3</sub> =0,5; p <sub>1-4</sub> =0,1; p <sub>1-5</sub> =0,1; p <sub>1-6</sub> =0,09; p <sub>2-3</sub> =0,7; p <sub>2-4</sub> =0,3; p <sub>2-5</sub> =0,01; p <sub>2-6</sub> =0,006; p <sub>3-4</sub> =0,6; p <sub>3-5</sub> =0,03; p <sub>3-6</sub> =0,02; p <sub>4-5</sub> =0,04; p <sub>4-6</sub> =0,03; p <sub>5-6</sub> =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 <sub>1-2</sub> =0,6; p <sub>1-3</sub> =0,9; p <sub>1-4</sub> =0,6; p <sub>1-5</sub> =0,04; p <sub>1-6</sub> =0,02; p <sub>2-3</sub> =0,6; p <sub>2-4</sub> =0,9; p <sub>2-5</sub> =0,009; p <sub>2-6</sub> =0,002; p <sub>3-4</sub> =0,7; p <sub>3-5</sub> =0,03; p <sub>3-6</sub> =0,01; p <sub>4-5</sub> =0,009; p <sub>4-6</sub> =0,002; p <sub>5-6</sub> =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 <sub>1-2</sub> =0,1; p <sub>1-3</sub> =0,5; p <sub>1-4</sub> =0,5; p <sub>1-5</sub> =0,01; p <sub>1-6</sub> =0,004; p <sub>2-3</sub> =0,05; p <sub>2-4</sub> =0,2; p <sub>2-5</sub> =0,0001; p <sub>2-6</sub> =1*10 <sup>-5</sup> ; p <sub>3-4</sub> =0,1; p <sub>3-5</sub> =0,04; p <sub>3-6</sub> =0,04; p <sub>4-5</sub> =0,001; p <sub>4-6</sub> =0,0002; p <sub>5-6</sub> =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 <sub>1-2</sub> =0,4; p <sub>1-3</sub> =0,1; p <sub>1-4</sub> =0,2; p <sub>1-5</sub> =0,05; p <sub>1-6</sub> =0,06; p <sub>2-3</sub> =0,2; p <sub>2-4</sub> =0,8; p <sub>2-5</sub> =0,3; p <sub>2-6</sub> =0,2; p <sub>3-4</sub> =0,2; p <sub>3-5</sub> =0,7; p <sub>3-6</sub> =0,2; p <sub>4-5</sub> =0,3; p <sub>4-6</sub> =0,1; p <sub>5-6</sub> =0,3					

Проведен анализ результатов ИГХ исследования эндометриальной экспрессии LIF в люминальном эпителии, железах и строме и FOXA1, FOXA2 у пациенток с различной толщиной эндометрия и репродуктивными дисфункциями в анамнезе, а также у здоровых женщин. В ряде образцов эндометрия, у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе, отсутствовал люминальный эпителий, поэтому экспрессия LIF в поверхностном эпителии оценена у 45 женщин I группы и 45 участниц II группы. В связи с недостаточным количеством материала в ТМА-матрицах у одной женщины III группы не было возможности оценить экспрессию FOXA1, а еще у одной участницы этой же группы – экспрессию FOXA2.

**Эндометриальная экспрессия белковых молекул в соотношении с толщиной эндометрия.** Сниженная экспрессия LIF в люминальном эпителии и железах эндометрия (6-8 д.п.о.) определена достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) у женщин I группы с ТЭ (38% и 33% соответственно), в отличие от женщин с нормальной толщиной эндометрия из II (16% и 19%

соответственно) и из III (6% и 6% соответственно) групп; без достоверных различий между женщинами II и III групп ( $p>0,05$ ) (таблица 6). Сниженная экспрессия LIF в строме эндометрия (6-8 д.п.о.) определена достоверно чаще ( $p<0,05$ ) у женщин с репродуктивными нарушениями в анамнезе в целом (I: 54%; II: 63%, соответственно), чем у здоровых женщин (III: 12,5%), но без достоверных различий между ТЭ и нормальной толщиной эндометрия ( $p>0,05$ ) (таблица 6).

Выраженная (отличающаяся от таковой у здоровых женщин) экспрессия FOXA1 (6-8 д.п.о.) определена достоверно чаще ( $p<0,05$ ) у женщин с репродуктивными нарушениями в целом (I: 58%; II: 73%), чем у здоровых женщин (III: 0%); без достоверных различий между женщинами с ТЭ и нормальной толщиной эндометрия ( $p>0,05$ ) (таблица 6). Сниженная (отличающаяся от таковой у здоровых женщин) экспрессия FOXA2 (6-8 д.п.о.) определена достоверно чаще ( $p<0,05$ ) у женщин I группы с ТЭ (56%), чем у женщин с нормальной толщиной эндометрия во II (8%) и в III (7%) группах (таблица 6). В целом, у каждой второй женщины с репродуктивными дисфункциями неясного генеза (I и II группы) (50%,  $n=57/114$ ) экспрессия FOXA1 и/или FOXA2 отличалась от таковых показателей у здоровых женщин, но у женщин с гипопластическим эндометрием – чаще: в 71% случаев.

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

Экспрессия LIF, FOXA1, FOXA2	Группы		r	
	Основная группа (М-эхо <7 мм), n (%)	Группа сравнения (М-эхо ≥7 мм), n (%)		Группа контроля (М-эхо ≥7 мм), n (%)
	n=52 1	n=62 2		n=16 3
<b>Экспрессия LIF в люминальном эпителии</b>				
<b>n (число образцов эндометрия)</b>	<b>n=45</b>	<b>n=45</b>	<b>n=16</b>	$p_{1-2}=0,01$
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)	$p_{2-3}=0,3$
<b>Экспрессия LIF в железах эндометрия</b>				
<b>n (число образцов эндометрия)</b>	<b>n=52</b>	<b>n=62</b>	<b>n=16</b>	$p_{1-2}=0,03$
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)	$p_{2-3}=0,2$
<b>Экспрессия LIF в строме эндометрия</b>				
<b>n (число образцов эндометрия)</b>	<b>n=52</b>	<b>n=62</b>	<b>n=16</b>	$p_{1-2}=0,3$
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)	$p_{2-3}=0,0003$
<b>Экспрессия FOXA1 эндометрия</b>				
<b>n (число образцов эндометрия)</b>	<b>n=52</b>	<b>n=62</b>	<b>n=15</b>	$p_{1-2}=0,1$
Сниженная (0-1)	30 (58)	45 (73)	15 (100)	$p_{1-3}=0,002$
Выраженная (2)	22 (42)	17 (27)	0 (0)	$p_{2-3}=0,02$
<b>Экспрессия FOXA2 эндометрия</b>				
<b>n (число образцов эндометрия)</b>	<b>n=52</b>	<b>n=62</b>	<b>n=15</b>	$p_{1-2}=0,0003$
Сниженная (0-1)	29 (56)	5 (8)	1 (7)	$p_{1-3}=0,0007$
Выраженная (2)	23 (44)	57 (92)	14 (93)	$p_{2-3}=0,9$



При проведении многофакторного дискриминантного анализа подтверждено, что значимым фактором нарушения эндометриальной экспрессии ER, PR, LIF, FOXA1, FOXA2 являются повторные выскабливания полости матки в анамнезе. По результатам многофакторного дискриминантного анализа не выявлено лабораторных (уровни сывороточных E<sub>2</sub>, P) и анамнестических данных (наличие воспалительных заболеваний органов малого таза (в т.ч., инфекций, передающихся половым путем) в анамнезе, число выскабливаний полости матки в анамнезе), значимых для формирования гипопластического эндометрия при нормоэстрогенемии в периферической крови.

Проведен корреляционный анализ экспрессии ER, PR, LIF, FOX-белков между собой и значениями сывороточных уровней E<sub>2</sub>, P (6-8 д.п.о.), а также величиной М-эхо (11-13 д.м.ц.): не выявлено значимых связей между уровнями сывороточных E<sub>2</sub>, P (при условии полноценного овуляторного м.ц.) и величиной М-эхо; не выявлено взаимосвязей между E<sub>2</sub>, P в крови и выраженностью экспрессии ER, PR, LIF, FOXA1, FOXA2; не выявлено ассоциаций толщины эндометрия и экспрессии LIF, FOXA1 в эндометрии; однако выявлены значимые взаимосвязи между величиной М-эхо и эндометриальной экспрессией FOXA2 ( $r=0.422$ ,  $p<0,001$ ) (чем больше выражены показатели значения величины М-эхо, тем более выражена экспрессия FOXA2 в эндометрии (по применяемой нами градации)).

При проведении логико-структурного анализа определены пороговые значения счета ER в железах и строме, PR в железах эндометрия, отражающие риски отличий эндометриальной экспрессии LIF, FOXA1, FOXA2 от здоровых женщин (таблица 7).

**Таблица 7** – Пороговые значения счета ER, PR в эндометрии для выраженности эндометриальной экспрессии LIF, FOXA1, FOXA2 (результаты логико-структурного анализа и теории шансов)

Пороговый уровень счета ER, PR		Риск отличия экспрессии	OR
ER в железах	более 145	LIF люминальный эпителий / железы / строма	2,8±0,3 / 1,9±0,4 / 1,6±0,3
		FOXA1 / FOXA2	1,3±0,2 / 1,8±0,2
ER в строме	более 155	LIF люминальный эпителий / железы / строма	1,7±0,2 / 2,0±0,4 / 1,4±0,3
		FOXA1 / FOXA2	1,2±0,4 / 1,6±0,2
PR в железах	более 105	LIF люминальный эпителий / железы	1,2±0,4 / 1,7±0,2
		FOXA1 / FOXA2	1,4±0,4 / 1,9±0,2
	более 285	LIF люминальный эпителий / железы / строма	1,7±0,5 / 3,6±0,2 / 1,7±0,2
		FOXA1 / FOXA2	7,4±0,3 / 8,4±0,3

Выявленные пороговые значения счета ER, PR 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, FOXA1, FOXA2 в эндометрии.

У ряда женщин с ТЭ применяли терапию лекарственными препаратами половых гормонов – препараты трансдермального эстрадиола назначали с 5 по 25 д.м.ц., гестагены (дидрогестерон, микронизированный прогестерон) для поддержания 2 фазы м.ц. назначали в соответствии с

инструкцией к препаратам.

В текущем исследовании большая часть участниц I группы (n=31/52) в ходе исследования отказались от планирования беременности и терапии в связи с пандемией инфекционного заболевания COVID-19 (11.03.2020-05.05.2023), отложив реализацию репродуктивной функции на неопределенный срок.

Из оставшихся 21 участниц I группы, не изменивших репродуктивных планов, 16 женщин получали трансдермальные препараты эстрадиола (начальная доза 1.0-1.5 мг в 1 дозе геля). Первичная цель терапии – усиление пролиферации эндометрия (УЗ-контроль в динамике на 11-13 д.м.ц.); конечная цель – наступление беременности, что подтверждало преодоление нарушений рецептивности эндометрия.

Из 16 женщин с ТЭ, получавших препараты эстрадиола в начальной дозе, у 4 женщин отмечено усиление пролиферации эндометрия в 1-ом цикле лечения (величина М-эхо  $\geq 7$  мм по данным УЗИ на 11-13 д.м.ц.). У этих 4-х женщин выявлены в 75% случаев полноценная фазовая трансформация эндометрия, экспрессия ER, PR, FOXA1, FOXA2 в эндометрии и в 100% случаев эндометриальная экспрессия LIF, сходные с соответствующими показателями у здоровых женщин.

У остальных 12 женщин, получавших терапию препаратами эстрадиола в начальных дозах (1,0-1,5 мг/сут) (в течение 2-х м.ц.), не было увеличения М-эхо. В ряде исследований (Sauer, M.V., et al., 1991, Díaz-Gimeno P., et al., 2017) отмечено, что существенное увеличение ТЭ возможно при использовании повышенной дозы препаратов эстрадиола – 4 мг/сут. При увеличении дозы эстрадиола у 11 из 12 женщин получен эффект терапии в виде усиления пролиферации эндометрия (величина М-эхо  $> 7$  мм по данным УЗИ на 11-13 д.м.ц.). У 1 пациентки не было отмечено увеличения М-эхо, однако наступила беременность, закончившаяся рождением доношенного ребенка (в цикле зачатия величина М-эхо 6 мм на 13 д.м.ц.). У женщин (n=12), получавших более высокие дозы трансдермального эстрадиола, в 100% случаев выявлены ИФТ-2,3,4, в 83% – неполноценная фазовая трансформация эндометрия, но в большинстве случаев – сходные с таковыми показателями у здоровых женщин эндометриальная экспрессия LIF и/или FOX-белков.

У 10 (47,6%) из 21 женщины I группы, не изменивших репродуктивные планы, наступила беременность. 5 женщин из 10 получали препараты эстрадиола. У этих 5 женщин в 100% случаев терапия эффективна в плане преодоления проблем репродуктивных нарушений: у 1 пациентки с невынашиванием беременности в анамнезе произошли срочные роды; у 4 женщин преодолено бесплодие в анамнезе. В 75% случаев у данных женщин выявлены ИФТ-2,3,4 и неполноценная фазовая трансформация эндометрия. В то же время, в 75% наблюдалась сходная со здоровыми женщинами выраженная экспрессия LIF и сниженная экспрессия FOXA1, в 60% случаев

наблюдалась выраженная экспрессия FOXA2. За время исследования у остальных 5 из 10 женщин беременность наступила самостоятельно до начала применения препаратов половых гормонов. Все пациентки этой когорты имели диагноз «бесплодие неясного генеза», и в 100% случаев данная репродуктивная проблема преодолена (у 3х пациенток – роды живыми доношенными детьми, у 2х пациенток – неразвивающиеся беременности раннего срока). В 80% случаев в данной когорте выявлены отличные от здоровых женщин характеристики экспрессии ER, PR в эндометрии, в 60% – неполноценная фазовая трансформация эндометрия и сниженная экспрессия LIF, однако выявлена сходная со здоровыми женщинами экспрессия FOXA1 и/или FOXA2. Величина М-эхо в преовуляторный период у данной когорты из 5 женщин – от 4,6 до 6 мм, что подтверждает возможность спонтанной беременности на фоне ТЭ.

В целом у 21 женщины I группы, у которых наступила беременность и/или отмечено увеличение М-эхо на фоне терапии препаратами половых стероидов выявлена сходная с соответствующими показателями у здоровых женщин эндометриальная экспрессия протеомных молекул: LIF – в 67%, FOX-белков – 81% случаев.

Лучший эффект терапии трансдермальными препаратами с эстрадиолом в виде увеличения М-эхо и/или наступления беременности без лечения при наличии ТЭ наблюдали у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе, у которых определена эндометриальная экспрессия LIF, FOXA1, FOXA2, сопоставимая с таковыми показателями у здоровых женщин. 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 ТЭ и репродуктивными дисфункциями в анамнезе.

## **ВЫВОДЫ**

1. Для формирования гипопластического эндометрия существенно не значимы выскабливания полости матки в анамнезе и уровни сывороточных E<sub>2</sub>, 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<sub>2</sub>, 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **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.**

2. Aganezova, N. Endometrial expression of estrogen and progesterone receptors in women with different thickness of the endometrium / N. Aganezova, S. Aganezov, K. Gogichashvili // ESG Abstract Book 2021, 14th Congress of the European Society of Gynecology, 11-13 November 2021, Venice, Italy. – 2021. – P. 103

3. **Аганезов, С.С. Рецептивность при различной толщине эндометрия у женщин репродуктивного возраста (обзор литературы) / С.С. Аганезов, К.Э. Гогичашвили, Н.В. Аганезова // Гинекология. – 2022. – 24 (1). – С. 4–10. DOI: 10.26442/20795696.2022.1.201120.**

4. **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. DOI: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.303>.**

5. Гогичашвили, К.Э. Экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона в эндометрии у женщин при различной функциональной активности желтого тела яичника / К.Э. Гогичашвили // Эйхвальдские чтения – 2022: Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых с международным участием, посвященной 185-летию профессора Э.Э. Эйхвальда. 14 апреля 2022 года / под ред. В.И. Мазурова, С.А. Артюшкина. – СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, 2022. – С. 36-44.

6. Гогичашвили, К.Э. Эндометриальная экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона у женщин с различной толщиной эндометрия / К.Э. Гогичашвили // Мечниковские чтения-2022: материалы Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием. 28 апреля 2022 года / под ред. Н. В. Бакулиной, С.В. Костюкевича, Н.Т. Гончара. Ч. I. СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, 2022. — С. 25-26.

7. Aganezova, N. Endometrial expression of estrogen and progesterone receptors in women with different thickness of the endometrium // N. Aganezova, S. Aganezov, K. Gogichashvili // ESC Abstract Book 2022, 16th Congress of the European Society of Contraception and Reproductive Health, 25-28 May 2022, Ghent, Belgium. – 2022. – P. 160-161.

**8. Аганезова, Н.В. Рецептивность эндометрия у женщин репродуктивного возраста при «тонком» и «абсолютно тонком» эндометрии / Н.В. Аганезова, С.С. Аганезов, К.Э. Гогичашвили // Гинекология. – 2022. – №24 (6). – С.478–486. DOI: [10.26442/20795696.2022.6.201804](https://doi.org/10.26442/20795696.2022.6.201804).**

9. Aganezova, N. Characteristics of endometrium reception in women with «thin» and «absolutely thin» endometrium // N. Aganezova, S. Aganezov, K. Gogichashvili // COGI Abstract Book 2022, The 30th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility, 24-26 November 2022, Amsterdam, The Netherlands. – 2022. – P. 133.

**10. Аганезова, Н.В. Особенности эндометриальной экспрессии лейкемия ингибирующего фактора у женщин репродуктивного возраста при различной толщине эндометрия / Н.В. Аганезова, С.С. Аганезов, К.Э. Гогичашвили, А.С. Артемьева, А.О. Нюганен // Проблемы репродукции. – 2023. – №29 (4). – С. 6–17 <https://doi.org/10.17116/repro2023290416>.**

**11. 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](https://doi.org/10.26442/20795696.2023.3.202358).**

12. Гогичашвили, К.Э. Экспрессия лейкемия ингибирующего фактора у женщин с различной толщиной эндометрия / К.Э. Гогичашвили // Мечниковские чтения-2023: материалы 96-й Всероссийской научно-практической конференции студенческого научного общества с международным участием. 26-27 апреля 2023 года / под ред. Н. В. Бакулиной, С.В. Тихонова. СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, 2023. – С. 65-66.

13. Aganezova, N. Expression of the leukemia inhibiting factor in women with different endometrial thickness // N. Aganezova, S. Aganezov, K. Gogichashvili // COGI Abstract Book 2023, The 31th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility, 23-25 November 2023, Vienna, Austria – 2023. – P. 107-108.

**14. Аганезова, Н.В. Характеристики экспрессии протеомных маркеров у женщин с «тонким» эндометрием и их значение для терапевтических эффектов использования препаратов эстрадиола / Н.В. Аганезова, С.С. Аганезов, К.Э. Гогичашвили // Гинекология. – 2024. – №26 (1). – С.29-38. DOI: 10.26442/20795696.2024.1.202569.**