

Мелкозерова О.А.<sup>1</sup>, Башмакова Н.В.<sup>1</sup>, Есарева А.В.<sup>1</sup>, Чистякова Г.Н.<sup>1</sup>,  
Брагина Е.Е.<sup>2</sup>, Барлит О.Г.<sup>1</sup>

## Ультраструктурная и морфологическая характеристика тканевой рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами

1 – ФГБУ «Уральский НИИ Охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург; 2 – ФГБОУ ВО «Московский государственный университет М.В. Ломоносова», Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, г. Москва

Melkozerova O.A., Bashmakova N.V., Esareva A.V., Chistjakova G.N., Bragina E.E., Barlit O.G.

### Ultrastructural and morphological characteristics of endometrial tissue receptivity in patients with reproductive failures

#### Резюме

С целью изучения морфофункциональных и ультраструктурных особенностей тканевой рецептивности «тонкого» эндометрия обследовано 46 женщин с маточной формой бесплодия и 45 пациенток с привычным невынашиванием беременности, обусловленными гипоплазией эндометрия. Контрольную группу составили 28 фертильных здоровых женщин. Проведено морфологическое и ультраструктурное исследование эндометрия методом сканирующей электронной микроскопии в период предполагаемого «имплантационного» окна на 7 день после овуляции, определяемой по мочевоому тесту. Структурными маркерами нарушения тканевого уровня рецептивности эндометрия являются морфологические признаки хронического воспаления и его исходов, в также диспластические процессы, сопровождающиеся нарушением формирования и созревания пиноподий, разобщения плотных межклеточных контактов и дисфункцией клеток микроокружения.

**Ключевые слова:** маточное бесплодие, привычное невынашивание, рецептивность, «тонкий» эндометрий, пиноподии

#### Summary

The aim of study was the morphological and ultrastructural features of the tissue level of the receptivity of the endometrium. There were examined 46 women with a uterine infertility due to the "thin" endometrium and 45 patients with recurrent miscarriage of pregnancy associated with endometrial hypoplasia. The control group consisted of 28 fertile healthy women. A histological and ultrastructural study of the endometrium was performed using the scanning electron microscopy method during the supposed "implantation" window on day 7 after ovulation, determined by the urinary test. Structural markers of endometrial tissue receptivity destruction are morphological features of chronic inflammation and its outcomes, or dysplastic processes, accompanied by a violation of the formation and maturation of pinopodies, separation of dense intercellular contacts and dysfunction of cells in the microenvironment.

**Key words:** pinopodies, receptivity, recurrent miscarriage, "thin" endometrium, uterine infertility

#### Введение

Значительные успехи репродуктивной медицины, достигнутые за последние десятилетия, не изменили проблему снижения демографических ресурсов нашей страны. По данным Всемирной организации здравоохранения частота бесплодных браков в России превышает 15%, что считается критическим уровнем для воспроизводства населения нации [1,2,3]. Более чем тридцатилетняя история существования методов вспомогательной репродукции не привела к снижению распространенности бесплодного брака, а эффективность

программ экстракорпорального оплодотворения не меняется уже многие годы и остается на уровне 30-40% [4,5]. «Последним непреодоленным рубежом» вспомогательных репродуктивных технологий, по мнению их создателя - Роберта Эдвардса, является нерепрециптивный эндометрий, и ситуация не изменилась за прошедшие десять лет с момента провозглашения этого постулата [6]. Маточный фактор бесплодия остается основной причиной репродуктивных неудач ЭКО при переносе эмбрионов хорошего качества, определяя до 70% в их структуре [6].

Частота самопроизвольного прерывания беременности в России продолжает оставаться высокой, занимая от 15 до 23% всех зарегистрированных беременностей, при этом около 50% выкидышей приходится на долю привычного невынашивания беременности [7].

В структуре ранних репродуктивных потерь неразвивающаяся беременность занимает доминирующее положение, определяя не только масштабы репродуктивных потерь, но и неблагоприятный репродуктивный прогноз [8,9].

Российская Федерация занимает лидирующие позиции в мире по распространенности неблагоприятных в отношении эндометрия медицинских практик, которые в том числе касаются завершения беременности хирургическим путем, при помощи кюретки. Производимое количество абортотворения в России в десятки раз превышает показатели стран с развитой системой планирования семьи [1,2,8].

Потому в последние годы в фокусе научного интереса находятся исследования, посвященные изучению рецептивности эндометрия при патологии имплантации, связанной с бесплодием и привычным невынашиванием беременности.

**Цель работы** – изучение клинических, ультраструктурных и морфологических предикторов нарушения рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами, обусловленными «тонким» эндометрием.

## Материалы и методы

Обследовано 46 женщины с маточной формой бесплодия (первая основная группа) и 45 женщин с привычным невынашиванием беременности (вторая основная группа), ассоциированным с «тонким» эндометрием. Контрольную группу составили 28 здоровых фертильных женщин, не имеющих в анамнезе случаев невынашивания беременности, имеющих срочные роды через естественные родовые пути без отклонения от физиологического течения беременности и родового акта в анамнезе, закончившиеся рождением здоровых детей.

Критерии включения в исследование: репродуктивный возраст (18 - 40 лет); маточный фактор бесплодия или невынашивание беременности, обусловленные «тонким» эндометрием; диагностированное по данным УЗИ на 20-22 день цикла М-Эхо менее 8 мм, овulatoryный цикл, нормокоагуляция.

Критерии исключения: возраст менее 18 и более 40 лет; онкологические заболевания, соматическая патология, при которой вынашивание беременности противопоказано; бесплодие и невынашивание беременности, не ассоциированные с «тонким» эндометрием.

Исследовали образцы эндометрия, взятые методом *pipelle*-biopsia в период предполагаемого «окна имплантации» на 7 день после овуляции, определяемой по мочево-мому тесту, и соответствующего 20-22 дню 28-дневного менструального цикла.

Материалы биоптатов эндометрия для гистологического исследования фиксировали в 10% нейтральном формалине, заключали в парафин, делали срезы толщиной 5 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. Ми-

кроскопическое исследование проводили на микроскопе Carl Zeiss Primo Star (Германия). На гистологических препаратах оценивалась структура эндометрия (состояние стромы, железистого аппарата, соответствие эндометрия фазе менструального цикла, развитие сосудов стромы эндометрия).

Для сканирующей электронной микроскопии материал помещали в контейнер Эппендорфа с фосфатным буфером 1,0 мл и транспортно фиксировали при  $t$  37,0°C в лабораторию. Для исследования в трансмиссионном электронном микроскопе эндометрий в течение 30 мин при 37°C центрифугировали с 2,5% раствором глутарового альдегида на 0.1M фосфатном буфере (pH7.2). Глутаровый альдегид добавляли в соотношении 20:1. Центрифугирование проводили в течение 15 мин при 1000 об/мин. Супернатант удаляли, к осадку добавляли 1-2 мл глутарового альдегида. Фиксация продолжалась от 60 мин до 7 суток (Holstein, Roosen-Runge, 1981).

Далее материал промывали фосфатным буфером, фиксировали 1% осмиевой кислотой на фосфатном буфере, обезживали в серии спиртов (50° - 5 мин, насыщенный раствор уранилацетата в 70° спирте - 12-14 час, 96° спирт - 1 час, 100° - 1 час, абсолютный ацетон - 30 мин). Заливку производили в смесь эпон-аралдит (Mollenhauer, 1964) после предварительной пропитки в 3 смесях эпоксидной смолы и ацетона (1:2, 1:1, 2:1) по 1 часу при 20°C. Полимеризацию осуществляли 24 часа при 37°C и 24 часа при 56°C. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме UltraCut11, окрашивали цитратом свинца (Mi Honig, 1961) и изучали в электронном микроскопе JEM 100S. Для исследования в сканирующем электронном микроскопе часть материала после обезживания высушивали в критической точке возгонки углекислоты и просматривали в растровом электронном микроскопе «Hitachi-S350», Япония.

Оценивались наличие пиноподий, плотность их распространения, степень их развития в соответствие с фазой менструального цикла, акселерация или гипоплазия пиноподий, наличие гетероморфности секреторных клеток, морфология ресничных клеток, плотность межклеточных контактов.

Статистический анализ данных осуществлялся с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0. Результаты обрабатывались методами вариационной статистики и представлены в виде  $M \pm m$ . Оценка достоверности различий средних величин и относительных показателей проводилась с использованием *t*-критерия (критерия Стьюдента). За уровень значимости в исследовании принято  $P < 0,05$ . Различия между непараметрическими переменными проводилось при помощи  $\chi^2$  Пирсона (Person). Относительный риск оценивали по показателю соотношения шансов (oddsratio, OR) с 95%-ным доверительным интервалом (95%CL). Нулевая гипотеза отвергалась при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Средний возраст обследованных женщин составил  $33,13 \pm 0,72$  лет в первой основной группе,  $32,52 \pm 0,68$  лет

во второй основной группе и  $32,52 \pm 0,68$  лет в контрольной группе;  $p > 0,05$ . Группы были сопоставимы по возрасту.

Основной нозологией, формирующей клиническую картину маточной формы бесплодия и привычного невынашивания беременности, ассоциированного с «тонким» эндометрием, выступал хронический эндометрит, верифицированный в 68,47% (63) наблюдений в первой группе и в 63,63% (56) наблюдений во второй группе. Хронический эндометрит часто сочетался с воспалительными заболеваниями нижнего отдела репродуктивного тракта (56,52% в группе №1; 54,54% в группе №2 против 7,14% в контроле;  $p=0,04$ ). Около трети пациенток в первой основной группе наблюдали 28,26% (26) и 34,34% (30) пациенток второй группы страдали хроническим аднекситом и имели в анамнезе инфекции, передаваемые половым путем. Структура органических поражений матки, приводящих к нарушению фертильности у пациенток первой группы, была представлена синдромом Ашермана в 23,91%, пороками развития матки (7,69%).

Особенностью акушерского анамнеза пациенток с бесплодием, ассоциированным с «тонким» эндометрием, является доминирование у них вторичного бесплодия (67,39% женщин в основной группе №1). При этом только у трети пациенток первой группы (35,48%) вторичному бесплодию предшествовали роды. Главным образом вторичному бесплодию предшествовали серия медицинских абортотерапевтических беременностей (в среднем  $2,46 \pm 0,54$  случая прерывания беременности), либо спонтанные аборты (в среднем  $1,86 \pm 0,56$  случаев абортов на одну пациентку данной группы). В репродуктивном анамнезе пациенток второй группы также доминировали ранние репродуктивные потери, среди которых основное место занимала неразвивающаяся беременность (86,36%), которую можно считать одним из клинических проявлений эндометриопатии.

Показана высокая частота хирургического аборта в анамнезе у пациенток с бесплодием, ассоциированным с «тонким» эндометрием - 40,21% (37). Вспомогательными репродуктивными технологиями воспользовались 69,56% пациенток основной группы. Число попыток ЭКО, предпринятых женщинами с бесплодием и гипоплазией эндометрия, достигало 6, что свидетельствует об отсутствии эффекта от проведения программ ВРТ у данных пациенток.

Проанализированы результаты гистологического исследования биоптатов эндометрия, взятых у пациенток групп наблюдения в период предполагаемого «окна имплантации», на 7 день после овуляции, определяемой по мочевого тесту, что соответствовало 20-22 дню 28-дневного менструального цикла (таблица 1).

Хронометрически эндометрий большинства обследованных женщин в группах наблюдения соответствовал секреторной фазе менструального цикла: у 82,61% женщин с бесплодием, у 71,11% женщин с невынашиванием беременности и у 89,28% женщин контрольной группы,  $p > 0,05$ . Несмотря на это у части женщин отмечалось как хронометрическое отставание созревания желез эндоме-

трия в сравнении с днем цикла, так и опережение в развитии желез.

Выраженное хронометрическое отставание в трансформации желез эндометрия, при котором в период средней стадии фазы секреции в эндометрии определялись железы в фазе пролиферации, наблюдалось достоверно чаще у пациенток с бесплодием - в 37,03% случаев, в то время как в контрольной группе данный показатель не превышал 10,71% ( $p=0,012$ ), а у пациенток с невынашиванием беременности выраженный дисхронизм с отставанием созревания желез эндометрия наблюдался реже, чем у пациенток в группе с бесплодием - в 13,33%, что так же превышает контрольные значения (таблица 1).

Умеренное хронометрическое опережение в секреторной трансформации желез эндометрия, при котором в период «окна имплантации» у пациенток обнаруживались железы в поздней стадии секреции, либо в стадии близкой к десквамации, встречалось нечасто и достоверно не отличалось по частоте в группах наблюдения (таблица 1).

При изучении распределения желез эндометрия в строми выявлено, что у более чем половины всех пациенток с бесплодием и невынашиванием беременности в эндометрии определяется неравномерный характер распределения желез, их локальные скопления в периваскулярных областях стромы и разряжения в бессосудистой стромальной зоне (50,00% и 57,78%), в то время как в контрольной группе данный показатель не превышает пятой части женщин - 18,86% ( $p_1=0,011$ ;  $p_2=0,012$ ) (таблица 1).

При исследовании стромы эндометрия у 69,56% женщин с бесплодием и у 77,78% с привычным невынашиванием беременности в образцах эндометрия определялось выраженное уплотнение стромального матрикса, в контроле данный показатель составил лишь 10,71% ( $p_1=0,0001$ ,  $p_2=0,0002$ ) (таблица 1).

Хорошо развитая сосудистая сеть стромы в период «окна имплантации» наблюдалась наиболее часто у здоровых женщин контрольной группы - в 78,57%, что достоверно превышало данный показатель в группе женщин с бесплодием ( $p=0,019$ ). У данных пациенток только в 36,95% случаев наблюдалась адекватная васкуляризация стромы, а в 21,73% случаев в образцах эндометрия отмечалось выраженное обеднение стромального компонента сосудами за счет низкой плотности их распределения и сужения просвета по сравнению с контрольными образцами эндометрия. У женщин, страдающих невынашиванием беременности, отмечалась та же картина. Выраженное обеднение стромальной сосудистой сети эндометрия в период «окна имплантации» наблюдалось у каждой пятой пациентки - в 22,22%, уплотнение стромальной матрицы - в 77,78% случаев ( $p=0,002$ ) (таблица 1).

У половины женщин в группе с невынашиванием беременности гистологически определялось наличие небольших фиброзно-железистых полипов эндометрия с эпителием в фазе пролиферации, что значительно превышает контрольные значения ( $p=0,036$ ) (таблица 1).

**Таблица 1. Данные гистологического исследования эндометрия пациенток групп наблюдения до начала терапии, 22-24 день цикла, (% ,  $\chi^2$  , p)**

		Бесплодие n=46 P%±m / абс.	Невынашивание n=45 P%±m / абс.	Контроль n=28 P%±m / абс.	$\chi^2$ / p		
		1	2	3	$\chi^2$ / p <sub>1-2</sub>	$\chi^2$ / p <sub>1-3</sub>	$\chi^2$ / p <sub>2-3</sub>
1	Соответствует фазе цикла	82,61±7,01%	71,11±12,52%	89,28±6,16%	0,552	0,661	1,895
		38	32	25	0,457	0,416	0,158
2	Равномерное распределение желез	50,00±8,98%	42,22±13,72%	81,14±7,61%	0,199	6,331	6,351
		23	19	23	0,655	<b>0,011</b>	<b>0,012</b>
3	Железы в поздней пролиферации: выраженное хронометрическое отставание	37,03±3,71%	13,33±9,71%	10,71±5,22%	1,522	6,745	0,242
		17	6	3	0,217	<b>0,012</b>	0,622
4	Железы в ранней секреции: умеренное хронометрическое отставание	28,26±8,71%	48,88±9,71%	21,42±8,15%	2,054	0,269	3,285
		13	22	6	0,151	0,603	0,069
5	Железы в фазе средней секреции: хронометрическое соответствие	71,73±8,07%	57,77±13,72%	74,42±8,59%	0,961	0,035	1,22
		33	26	20	0,327	0,847	0,269
6	Железы в поздней секреции: умеренное хронометрическое опережение	17,39±7,01%	8,89±1,14%	10,71±6,39%	3,019	0,596	1,746
		8	4	3	0,082	0,45	0,186
7	Строма рыхлая	21,73±7,42%	28,88±7,52%	85,71±6,96%	0,064	16,286	13,141
		10	13	24	0,799	<b>0,001</b>	<b>0,003</b>
8	Плотная строма	69,56±8,32%	77,78±11,3%	10,71±6,16%	0,463	19,924	18,658
		32	35	3	0,496	<b>0,0001</b>	<b>0,0002</b>
9	Сосуды стромы сужены	21,73±7,42%	22,22±11,28	7,14±1,32%	0,001	2,371	1,692
		10	10	2	0,973	0,123	0,193
10	Выраженный сосудистый компонент стромы	36,95±8,65%	48,89±13,86%	78,57±8,15%	0,627	9,638	3,28
		17	22	22	0,428	<b>0,0019</b>	0,063
11	Наличие пиноподий	28,26±7,52%	40,00±8,8%	82,14±7,6%	0,607	11,124	10,129
		13	18	23	0,436	<b>0,008</b>	<b>0,014</b>
12	Полипсы эндометрия	21,73±7,42%	51,11±13,86%	17,85±7,61%	3,638	0,101	4,413
		10	23	5	0,056	0,749	0,035
13	Хронический эндометрит	32,61±8,32%	73,33±13,28%	7,14±2,1%	10,088	5,137	15,214
		15	33	2	<b>0,0076</b>	<b>0,013</b>	<b>0,022</b>

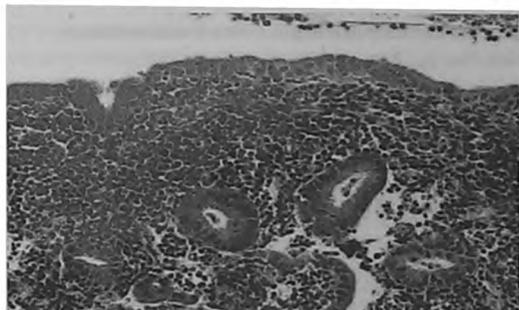
\* С учетом поправки Бонферони, при сравнении трех групп наблюдения достоверными считаются различия при уровне значимости  $p < 0,017$ .

Картина хронического эндометрита, ассоциированного с гипоплазией эндометрия, выявлена только у трети пациенток с бесплодием – 32,61% и у 73,33% женщин с невынашиванием беременности, что достоверно отличает эти две группы наблюдения ( $p=0,007$ ). В контроле данный показатель не превышал 7,14%, что достоверно ниже, чем у пациенток с бесплодием ( $p=0,013$ ) и невынашиванием беременности ( $p=0,002$ ) (таблица).

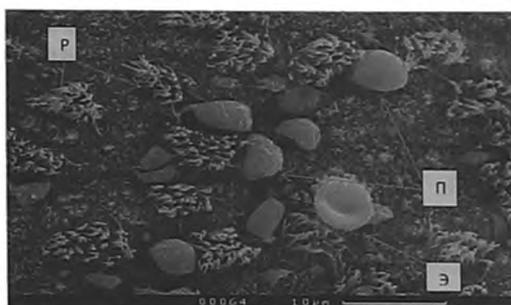
В эндометрии пациенток с хроническим эндометритом определялись воспалительные инфильтраты, рас-

положенные наиболее часто в перигландулярной и периваскулярной зоне, реже диффузно. Инфильтраты были представлены мононуклеарными клетками и состояли из лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов, окруженных фибробластами. В строме отмечались процессы очагового фиброобразования и склеротических изменений стенок спиральных артерий эндометрия (рисунок 1).

В некоторых образцах эндометрия отмечалось повышение митотической активности клеток эпителия желез и клеток стромы эндометрия, появление кариорекси-



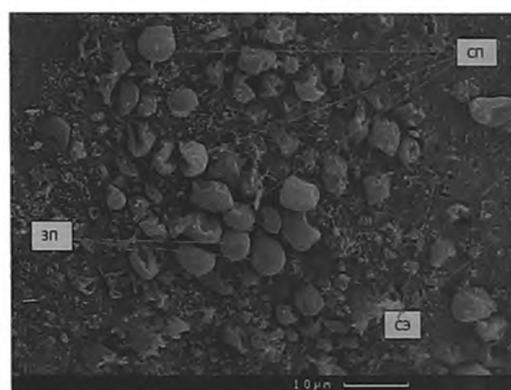
**Рисунок 1 -** Морфологическая картина эндометрия при хроническом эндометрите. Видны лимфоидные инфильтраты в строме вокруг желез и в периваскулярной зоне. Окраска гематоксилин и эозином, световая микроскопия; увеличение x 400.



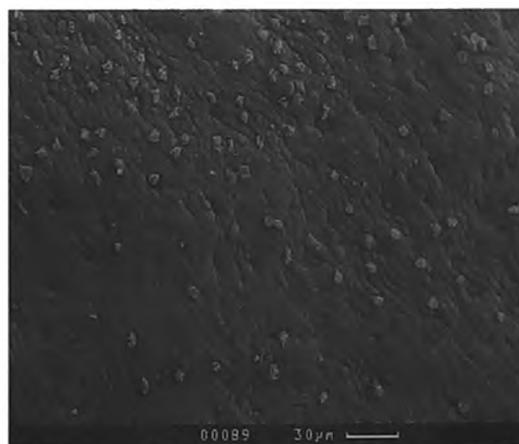
**Рисунок 3 -** Гипоплазия пиноподий: редкие пиноподии на фоне «спокойного» эпителия, полиморфные клетки желез эндометрия. Выраженные межклеточные контакты. СЭМ поверхностного эпителия эндометрия. П – зрелые пиноподии, Р – ресничные клетки, Э – эритроциты.



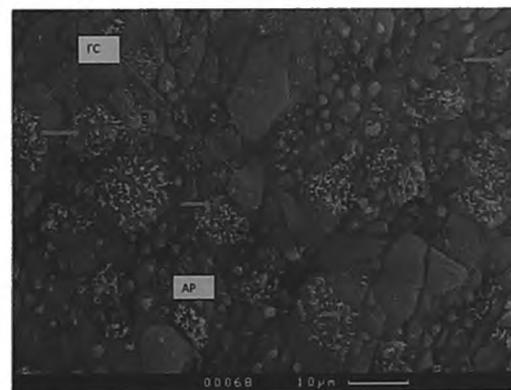
**Рисунок 2 -** «Спокойный» эпителий желез эндометрия, ровная апикальная поверхность и отсутствие пиноподий, плотные, хорошо выраженные межклеточные контакты. СЭМ поверхностного эпителия эндометрия.



**Рисунок 4 -** Асинхронность созревания пиноподий: поля «спокойного» эпителия (СЭ) сочетаются с островками зрелых (ЗП) и созревающих (СП) пиноподий. СЭМ поверхностного эпителия эндометрия.



**Рисунок 2 -** «Спокойный» эпителий желез эндометрия, ровная апикальная поверхность и отсутствие пиноподий, плотные, хорошо выраженные межклеточные контакты. СЭМ поверхностного эпителия эндометрия.

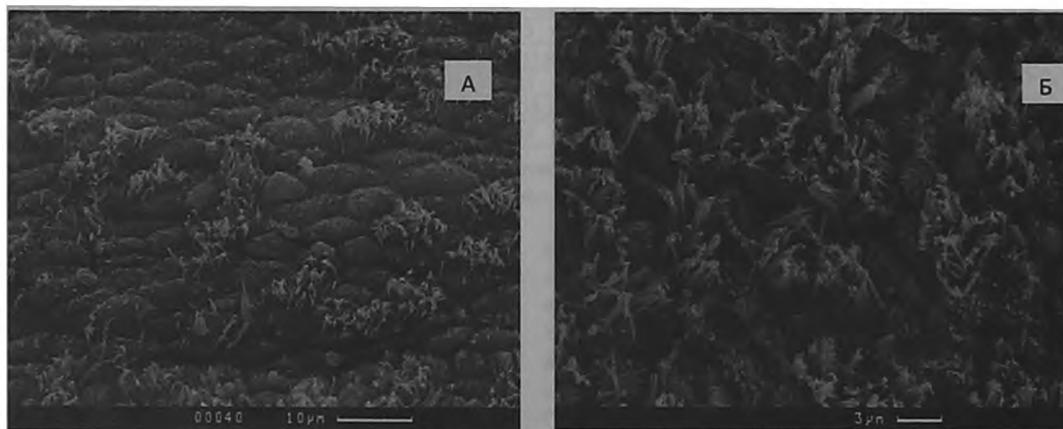


**Рисунок 5 -** Гетероморфные секреторные клетки (ГС) и атипичные ресничные клетки (АР). Стрелки – утолщенные атипичные реснички. СЭМ поверхностного эпителия эндометрия.

**Таблица 2. Ультраструктурная морфологическая картина эндометрия в период «окна имплантации» в группах наблюдения, %± m,  $\chi^2$ , p**

		Бесплодие n=46 P%±m / абс.	Невынашивание n=45 P%±m / абс.	Контроль n=28 P%±m / абс.	$\chi^2 / p$		
		1	2	3	$\chi^2 / p_{1-2}$	$\chi^2 / p_{1-3}$	$\chi^2 / p_{2-3}$
1	Гипоплазия пиноподий	52,17±7,45%	37,78±7,22%	14,28±6,73%	1,904	10,620	4,648
		24	17	4	0,168	<b>0,001</b>	<b>0,031</b>
2	"Спокойный" эпителий	67,39±6,98%	42,22±7,36%	14,28±6,73%	5,821	19,69	6,242
		31	19	4	<b>0,015</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,012</b>
3	Атипичные ресничные клетки	50,00±7,45%	28,88±6,75%	7,14±4,95%	4,24	14,291	4,999
		23	13	2	0,039	<b>0,0001</b>	0,025
4	Гетероморфные секреторные клетки	15,22±5,45%	2,22±0,2%	0%	7,148	4,706	0
		7	1	0	<b>0,006</b>	0,030	0
5	Акселерация и асинхронность созревания пиноподий	17,39±5,69%	46,67±4,73%	14,28±6,73%	8,979	0,123	8,037
		8	21	4	<b>0,003</b>	0,725	<b>0,004</b>
6	Нарушение межклеточных контактов	69,56±6,90%	84,44±5,40%	7,14±4,95%	2,837	27,307	41,639
		32	38	2	0,092	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>
7	Зрелые пиноподии	34,78±7,02	55,56±7,41	71,42±8,69	3,965	9,356	1,839
		16	25	20	0,046	<b>0,0022</b>	0,175
8	Созревающие пиноподии	82,61±5,9	66,67±7,02	21,42±7,89	3,061	27,26	14,13
		38	30	6	0,080	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>
9	Зона интенсивной секреции	23,91±7,13	35,56±7,14	92,85	1,806	13,191	7,221
		11	16	26	0,423	<b>0,0001</b>	<b>0,007</b>

\* С учетом поправки Бонферони, при сравнении трех групп наблюдения достоверными считаются различия при уровне значимости  $p < 0,017$ .



**Рисунок 6 – Атипичные ресничные клетки: А - Атипичные бокаловидные ресничные клетки (А). Б - Гиперплазия ресничных клеток. СЭМ поверхностного эпителия желез.**

са и карниопикноза. В строме эндометрия определялись сосуды капиллярного типа, плотность которых соответствовала степени воспалительного процесса.

При исследовании образцов эндометрия методом СЭМ у пациенток с бесплодием достоверно более часто в образцах эндометрия в период «окна имплантации» наблюдалась картина атрофии эндометрия, так называемый «спокойный» тип эндометрия, визуализировались поля отсутствия пиноподий, гладкая апикальная поверхность эпителия желез, железы в состоянии «покоя», отсутствие секреторной активности – у 67,39% пациенток с бесплодием, в контроле 14,28% ( $p=0,001$ ) (рисунок 2). У пациенток с невынашиванием беременности этот показатель ниже и составляет 42,2%, но также достоверно превышает контрольные значения ( $p=0,012$ ) (таблица 2).

Гипоплазия пиноподий наблюдалась у 52,17% женщин с бесплодием и у 37,78% женщин с невынашиванием беременности, что достоверно выше уровня контрольных значений ( $p_1=0,001$ ,  $p_2=0,013$ ) (рисунок 3).

В основных группах наблюдения достоверно чаще визуализировались плотные межклеточные контакты – в 69,56% в группе женщин с бесплодием и в 84,44% случаев в группе женщин с невынашиванием беременности, что достоверно чаще, чем в группе контроля 7,14% ( $p_1,2<0,001$ ) (таблица 2).

Акселерация и асинхронный характер созревания пиноподий чаще наблюдался у пациенток с невынашиванием беременности – в 46,66% случаев, против 17,39% в группе женщин с бесплодием ( $p=0,003$ ), превышая контрольные значения 14,3% более чем в три раза ( $p=0,004$ ) (рисунок 4).

Наличие атипичных ресничных клеток отмечалось у половины женщин с бесплодием, что достоверно выше, чем в образцах эндометрия контрольной группы – 7,14% ( $p=0,0016$ ) и превышало аналогичный показатель среди женщин с невынашиванием беременности – 28,88%, не достигая уровня достоверности (рисунок 6). Атипичные ресничные клетки закономерно чаще сочетались с гетероморфностью секреторных клеток, которая наблюдалась у 15,2% женщин с бесплодием и только у одной пациентки с невынашиванием беременности, имеющей, в прочем, в анамнезе период бесплодия ( $p=0,006$ ). В контроле данный вид патологии отсутствовал (рисунок 5).

Описание в созревании пиноподий, неравномерность из созревания и развития, асинхронность данных процессов наблюдалась у большинства женщин основных групп наблюдения – у пациенток с бесплодием – в 82,61%, у женщин с невынашиванием беременности – в 65,67%, что достоверно превышает уровень контрольных значений -21,4% ( $p_1=0,0011$ ,  $p_2=0,0017$ ) (таблица 2).

Зрелые пиноподии определялись в образцах эндометрия женщин основных групп наблюдения, как правило, только в сочетании с созревающими пиноподиями, имели неравномерный характер распределения на поверхности эндометрия и чаще всего располагались в устьях желез. Они встречались у 34,7% женщин с бесплодием и у 55,56% женщин с невынашиванием беременности, что достоверно ниже контрольного уровня – 71,42% ( $p_1=0,0022$ ) (таблица 2).

Морфологическим субстратом молекулярно-биологических механизмов нарушения рецептивности «тонкого» эндометрия по нашим данным явилось в первую очередь несоответствие его цитоархитектоники фазе «имплантационного» окна. У значительной части пациенток основных групп наблюдения отмечалась картина выраженного или умеренного дисхронизма в трансформации желез эндометрия, наиболее часто сопряженная с отставанием в созревании желез, их неравномерным распределением в строме со скоплениями в периваскулярных областях, что может способствовать неравномерному формированию полей пиноподий и «площадки» для имплантации бластоцисты.

Необходимой для адекватной имплантации бластоцисты и последующей инвазии трофобласта процесс разрыхления стромального компонента секреторного эндометрия, лежащий в основе его децидуализации, был нарушен в период «имплантационного окна» более чем у 70% больных, в равной степени встречался при бесплодии и невынашивании беременности. Параллельно отмечалось нарушение васкуляризации стромального матрикса эндометрия у пациенток с бесплодием и невынашиванием беременности на фоне гипоплазии эндометрия. «Плотный» характер стромального компонента «тонкого» эндометрия с обеднением его сосудистой сетью, сниженная активность апоптоза вероятно лежат в основе затруднения инвазии цитотрофобласта в спиральные артерии матки [10,11]. В то же время, согласно теории, предложенной Miwa I. и соавт. в 2009 году [12], в строме «тонкого» эндометрия создаются неблагоприятные условия для имплантации бластоцисты за счет изменения парциального давления кислорода в ткани. Это объясняется, в свою очередь, близким расположением сосудов junctional zone «тонкого» эндометрия.

Характерная морфологическая картина хронического эндометрита достоверно чаще определялась у женщин с привычным невынашиванием беременности. Только у трети пациенток с эндометриальной дисфункцией на фоне бесплодия по данным гистологического исследования были верифицированы типичные морфологические признаки хронического эндометрита: лимфоидные инфильтраты, микрополипы. Это может свидетельствовать о том, что в момент исследования эндометрия у этих пациенток мы наблюдали уже морфологические признаки исхода воспалительного процесса, а именно – стромального фиброза и склеротических изменений сосудов функционального слоя эндометрия, либо это связано с наличием других причин нарушения рецептивности невоспалительного генеза (опухоль и пороки развития матки, и др.). Данные изменения можно назвать более фатальными для фертильности, чем воспалительные, что и подтверждает факт их большей распространенности у пациенток с бесплодием.

Ламинарный эпителий желез эндометрия первым «встречает» с бластоцисту в период имплантации. Ультроструктурные изменения его поверхности, исследуемые с помощью сканирующей электронной микроскопии, открыли новый уровень рецептивности эндометрия

– тканевой. Падение экспрессии рецепторов к эстрадиолу и прогестерону в имплантационном эндометрии совпадает с изменением ультраструктуры апликальной поверхности мембран эпителия с образованием пиноподий [13]. Именно на поверхности пиноподий и происходит адгезия бластоцисты, потенцируемая взаимодействием LIF и LIFR, экспрессией молекул адгезии ( $\alpha\text{v}\beta 3$ ), остеопонтина и HB-EGF [13,14,15,16]. В нашем исследовании ультраструктурная морфологическая картина эндометрия у пациенток основных групп наблюдения характеризовалась высокой частотой гипоплазии и аллазии пиноподий в период «окна имплантации», наличием плотных межклеточных контактов в секреторных клетках эндометрия, частым асинхронным развитием и неравномерным созреванием полей пиноподий.

У пациенток с бесплодием в ультраструктурной картине эндометрия доминировали поля отсутствия пиноподий, их гипоплазия, гетероморфность секреторных клеток в сочетании с атипией клеток микроокружения. Зрелые пиноподии редки и были распределены в полях эндометрия неравномерно, располагаясь в основном в участках желез.

Клетки микроокружения (ресничные клетки) презентуют на своей поверхности трансмембранный эпителиальный муцин – MUC1, который отсутствует на поверхности пиноподий. Его биологическая роль заключается в отталкивании бластоцисты и ее правильной ориентации для инвазии только в области пиноподий [13].

У пациенток с невынашиванием беременности, проблема связана с хронометрическим отставанием в созревании пиноподий, асинхронном их развитии, а также отсутствии разобщения межклеточных контактов в период «имплантационного окна». Доказано, что одним из этапов в созревании пиноподий является нарушение межклеточных контактов поверхностного эпителия, «разобщение» клеток [15]. Биологический смысл этого явления, на наш взгляд, заключается в «облегчении» инвазии бластоцисты в эндометрий. Зрелые пиноподии визуализиро-

вались в половине исследованных образцов эндометрия у женщин с невынашиванием беременности, однако их поля также располагались неравномерно.

## Заключение

Таким образом, структурными маркерами нарушения тканевого уровня рецептивности эндометрия являются морфологические признаки хронического воспаления и его исходов, либо диспластические процессы, сопровождающиеся нарушением формирования и созревания пиноподий, разобщения плотных межклеточных контактов и дисфункцией клеток микроокружения. ■

*Мелкозёрова Оксана Александровна, кандидат медицинских наук, руководитель отдела сохранения репродуктивной функции, ФГБУ «Уральский НИИ ОММ» Минздрава России, г. Екатеринбург. Башмакова Надежда Васильевна, д.м.н., профессор, директор ФГБУ «Уральский НИИ ОММ» Минздрава России, г. Екатеринбург, заслуженный врач Российской Федерации, Главный акушер-гинеколог Уральского Федерального округа. Есарева Елена Валерьевна – аспирант ФГБУ НИИ Охраны материнства и младенчества МЗ РФ, г. Екатеринбург. Чистякова Гузель Нуховна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель научного отделения иммунологии и микробиологии ФГБУ «Уральский НИИ Охраны материнства и младенчества» МЗ РФ, г. Екатеринбург. Брагина Елизавета Ефимовна – доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет М.В. Ломоносова», Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, г. Москва. Барлит Ольга Германовна – к.м.н., врач патологоанатом ФГБУ НИИ Охраны материнства и младенчества МЗ РФ, г. Екатеринбург. Автор, ответственный за переписку – Мелкозёрова Оксана Александровна, 620146 г. Екатеринбург, ул. Ретина, 1, Рабочий телефон (343)-371-24-27*

## Литература:

1. *The European health report 2015. Targets and beyond – reaching new frontiers in evidence. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2015.*
2. *Health-2020: a European policy framework and strategy for the 21st century. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2013.*
3. Ермоленко К.С., Радзинский В.Е., Рапопорт С.И. Современное состояние проблемы реализации фертильной функции женщин позднего репродуктивного возраста. *Клиническая медицина.* 2016; 94(1): 10-15.
4. *Регистр ВРТ РАРЧ. Отчет за 2014 год. СПб; 2015.*
5. Гольмамедова И.Д. Межова О.К. Проблемы имплантации в программе IVF. *Новости медицины и фармации.* 2008; 253: 17-27.
6. Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., Пальченко Н.А. Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ. *Обзор литературы. Проблемы репродукции.* 2013; 4: 3-7.
7. *Здравоохранение в России: статистический сборник. М: Росстат; 2015.*
8. *Прегравидарная подготовка: клинический протокол. Под ред. В.Е. Радзинского. М.: Status Praesens; 2016: 23-25.*
9. Доброхотова Ю.Э., Джабава Э.М., Озерова Р.И. *Неразвивающаяся беременность: тромбофилические и клинико-иммунологические факторы: руководство. М: ГЭОТАР-Медиа; 2010.*
10. Шуришалина, А.В. *Хронический эндометрит: современные взгляды на проблему. Consilium Medicum.* 2011; 6: 36-39.
11. Казачков Е.Л., Казачкова Э.А., Воронаева Е.Е.,

- Хелашвили И.Г., Мирошниченко Л.Е. Структурная характеристика рецептивности эндометрия при хроническом эндометрите. 2013; 4(109): 60-64.
12. Miwa I., Tamura H., Takasaki A. Pathophysiologic features of "thin" endometrium. *Fertil. Steril.* 2009; 91(4): 998–1004.
  13. Молекулярные механизмы заболеваний репродуктивной системы. Под ред. М.А. Пальцева. СПб: Эко-вектор; 2017.
  14. *Uterine Endometrial Function*. Editor of H. Kanzaki. Osaka: Springer; 2017.
  15. Quinn C.E., Casper R.F. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity. *Hum. Reprod. Update.* 2009; 15: 229–236.
  16. Dong X., Sui C., Huang K. MicroRNA-223-3p suppresses leukemia inhibitory factor expression and pinopodes formation during embryo implantation in mice. *Am. J. Transl. Res.* 2016; 8(2): 1155-1163.