

Мелкозерова О.А., Башмакова Н.В., Чистякова Г.Н.

Программа диагностики нарушений рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами

ФГБУ «Уральский НИИ Охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения России, г. Екатеринбург

Melkozzerova O.A., Bashmakova N.V., Chistyakova G.N.

Diagnostics program of endometrial receptivity disorders in patients with reproductive failures

Резюме

С целью оптимизации программы диагностики нарушений рецептивности эндометрия проведено проспективное сравнительное контролируемое исследование, включающее 210 пациенток, в том числе 182 пациентки с гипоплазией эндометрия, клинически проявляющейся в виде бесплодия, невынашивания беременности, неудачными попытками ВРТ, и 28 фертильных условно здоровых пациенток, имеющих в анамнезе срочные роды, закончившиеся рождением здоровых детей. Проведен сравнительный анализ данных анамнеза, ультразвукового исследования органов малого таза, данных морфологического и иммуногистохимического анализа образцов эндометрия, взятых в день предполагаемого «окна имплантации» на 7 день после овуляции, определяемой по данным мочевого теста, офисная гистероскопия. Разработана система диагностических мероприятий, предусматривающая оценку информативных ультразвуковых, морфофункциональных характеристик и состояния микробиоты эндометрия, диагностическую гистероскопию и определение рецептивности эндометрия по разработанной модели прогноза, что позволяет с точностью 92,5% диагностировать нарушения рецептивности эндометрия и детализировать их причину.

Ключевые слова: Диагностика, рецептивность эндометрия, бесплодие, невынашивание беременности

Summary

In order to optimize the algorithm for the diagnosis of endometrial receptivity disorders, a prospective, comparative, controlled study was conducted, involving 210 patients, including 182 patients with endometrial hypoplasia, clinically manifested as infertility, miscarriage, unsuccessful attempts at ART, and 28 fertile, conditionally healthy patients with a history term delivery, which resulted in the birth of healthy children. A comparative analysis of the anamnesis data, pelvic ultrasound of the pelvic organs, morphological and immunohistochemical analysis of endometrial specimens taken on the day of the supposed 'implantation window' on day 7 after ovulation, determined by urinary test data, office hysteroscopy. A system of diagnostic measures has been developed that provides an assessment of informative ultrasound, morphofunctional characteristics and state of endometrial microbiota, diagnostic hysteroscopy and determination of endometrial receptivity according to the developed prognosis model, which allows to diagnose, with 92.5% accuracy, infringements of endometrial receptivity and to detail their cause.

Keywords: Diagnosis, endometrial receptivity, infertility, miscarriage

Введение

Одной из серьезных проблем является объективная диагностика рецептивной функции эндометрия. Диагностические маркеры рецептивности эндометрия не сфигурированы по информативности, имеют недостаточную доказательную базу в плане интерпретации результатов, трудно воспроизводимы в рутинной клинической практике, и многие из них пока используются только в научных целях [1-8]. По данным ряда исследователей [9-13] отсутствуют достоверные корреляции между толщиной эндо-

метрия в период «имплантационного окна» по данным ультразвуковой диагностики и частотой наступления беременности в спонтанных циклах и в программах ВРТ, а также в отношении исходов беременности. Не определены морфологические и иммуногистохимические критерии нерепрецивного эндометрия. Этим определяется отсутствие единых подходов к формированию показаний и оценке эффективности проводимой терапии.

Следует также учитывать, что объем биологического материала для проведения диагностических процедур

при гипоплазии эндометрия весьма мал, что диктует особую актуальность в выборе точных диагностических критериев нерцептивного эндометрия, определяющих лечебную тактику практического врача.

Цель исследования – оптимизация диагностики нарушений рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами.

Материалы и методы

Проведено проспективное сравнительное контролируемое исследование, включающее 210 пациенток, составивших две группы наблюдения. В первую группу были включены пациентки с гипоплазией эндометрия, клинически проявляющейся в виде бесплодия, невынашивания беременности, в том числе неудачными попытками ВРТ (n=182). Вторую (контрольную) группу составили фертильные условно здоровые пациентки без выявленных соматических и гинекологических заболеваний, имеющих в анамнезе срочные роды, закончившиеся рождением здоровых детей (n=28).

Критерии включения в исследование: репродуктивный возраст (18 - 40 лет); маточный фактор бесплодия или невынашивания беременности, обусловленный гипоплазией эндометрия; толщина эндометрия не более 8 мм в день ЛГ+7 (период предполагаемого «имплантационного окна»), нормокоагуляция.

Критерии исключения: возраст менее 18 и более 40 лет; онкологические заболевания, соматическая патология, при которой вынашивание беременности противопоказано; бесплодие и невынашивание беременности, не ассоциированное с гипоплазией эндометрия.

Исследование эндометрия проводилось в день предполагаемого «окна имплантации» ЛГ+7, определяемого по данным мочевого теста на овуляцию.

Для ИГХ-исследования использовали двухэтапный стрептавидин-биотин-пероксидазный метод с демаскировкой антигена и применением стандартных наборов моноклональных и поликлональных антител фирмы «Bond RTU Primary» и «DAKO», США. На парафиновых срезах по стандартной методике с предварительной демаскировкой антигенов в СВЧ-печи с использованием соответствующих стандартных антител выявляли следующие маркеры: ERα, клон 6F-11; PR, клон 16; p53, клон DO-7; bcl-2, клон 100/D5; CD56, clone 1213C3, Ki67, клон SP6; поликлональные антитела к p16, LIF-R, LIF. Проявление реакции осуществлялось системой визуализации «Dako Cytoation». Для визуализации первичных антител использовали безбиотинную систему детекции Super Sensitive Polymer-HRP Detection System (Biogenex).

Для иммуногистохимического исследования использовали серийные парафиновые срезы. Результаты реакции рецепторов к эстрогенам и прогестеронам идентифицировались по ядерному или мембранному окрашиванию клеток для соответствующих маркеров с оценкой процента окрашенных клеток и интенсивностью окраски клеток. Экспрессию рецепторов к эстрогенам и прогестеронам оценивали по 3-балльной шкале (слабая, средняя и выраженная степени). Для анализа результатов

ИГХ реакций использовали метод гистологического счета H-score по формуле: $HS = 1a + 2b + 3c$, где a – % слабо окрашенных клеток, b – % умеренно окрашенных клеток, c – % сильно окрашенных клеток, 1, 2, 3 – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах. Для оценки уровня экспрессии антигенов Ki-67, bcl-2, p16, в железах подсчитывались индексы пролиферации и апоптоза – отношение количества окрашенных ядер клеток к общему числу ядер в процентах при подсчете не менее 400 ядер. Экспрессия Ki-67, bcl-2, p16 в строме оценена путем подсчета количества окрашенных ядер в поле зрения при увеличении 400, при этом изучали не менее 10 полей зрения. Экспрессию CD56+ оценивали путем подсчета позитивных клеток в поле зрения при увеличении 400 при подсчете не менее 10 полей зрения. Экспрессию LIF, LIFR определяли на мембранах клеток поверхностного эпителия желез эндометрия путем подсчета количества окрашенных клеток в поле зрения при увеличении 400, при этом изучали не менее 10 полей зрения.

Для бактериологического исследования аспирационную биопсию эндометрия проводили с помощью кюретки Pipelle-PAMP de Corbie после тщательной обработки шейки матки раствором антисептика. Материал помещался в специальные транспортные системы с условиями анаэробииа и исследовался культуральным методом. Для выявления анаэробной микрофлоры использовался метод культивирования микроорганизмов с помощью микроаналитата. Титр более 104 геном-эквивалентов (ГЭ) для условно-патогенных инфектов считали диагностическим.

УЗИ органов малого таза проводилось на аппарате Voluson 8 (General Electric®) с использованием мультиточечного абдоминального датчика с частотой 3,5-5 МГц и полостного трансвагинального конвексного датчика частотой 6,5 МГц с программным обеспечением для реализации триплексного режима сканирования (сероскальный В-режим в сочетании цветового и импульсного доплера в масштабе реального времени - «real-time processing»). При проведении ультразвукового исследования органов малого таза на 5-11 и 20-22 день менструального цикла оценивали положение матки в полости малого таза; ее форму, структуру миометрия, констатировали наличие миоматозных узлов и аденомиоза, отмечали наличие расширенных вен малого таза, исключали патологию шейки матки, маточных труб. Кроме того, оценивали состояние фолликулярного аппарата яичников, рассчитывали яичниково-маточный индекс (для исключения синдрома поликистозных яичников) и исключали наличие объемных образований яичников. Особое внимание уделяли исследованию срединного маточного М-эхо. Определяли его толщину, структуру, симметричность, контуры, наличие включений, а также оценивали состояние полости матки (наличие жидкостного и экзогенного содержимого, инородных тел).

Диагностическую гистероскопию проводили на 20-22 день цикла на оборудовании Karl Storz, офисным гистероскопом с диаметром оптики 2 мм.

Статистический анализ данных осуществлялся с по-

Таблица 1. Рейтинг информативных параметров рецептивности эндометрия по данным иммуногистохимического исследования^{a,b,c}

Step	Input parametrs	Lambda Weelks							
		Stat.	df 1	df 2	df 3	F-value			
						Ranking	Step	df 1	p-value
1	Ki67stroma	.966	1	1	246,00	8,536	1	246,000	.004
2	ER/PR строма	.936	2	1	246,00	8,400	2	245,000	.000
3	LIF железы	.908	3	1	246,00	8,192	3	244,000	.000
4	LIFR железы	.889	4	1	246,00	7,592	4	243,000	.000
5	CD56+ строма	.872	5	1	246,00	7,128	5	242,000	.000
6	bcl 2 строма	.856	6	1	246,00	7,044	6	241,000	.000
7	p53 железы	.836	7	1	246,00	6,726	7	240,000	.000

*Примечания: На каждом шаге вводится переменная, минимизирующая общую лямбду Уилкса.

a. Максимальное число шагов равно 64.

b. Минимальное частное F для ввода - это 3.84.

c. Максимальное частное F для удаления - это 2.71.

мощью 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 χ^2 Пирсона (Person). Направление признаков определяли методом корреляционного анализа с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$. Для построения модели прогноза использовался метод пошагового дискриминантного анализа.

Результаты и обсуждение

Критерием нулевой гипотезы являлось предположение, что пациентки контрольной группы имели рецептивный эндометрий, что позволило им осуществить репродуктивную функцию. Методом пошагового дискриминантного анализа определены значимые иммуногистохимические параметры функционального состояния эндометрия, определяющие рецептивность эндометрия (таблица 1).

Таблица 1. Рейтинг информативных параметров рецептивности эндометрия по данным иммуногистохимического исследования^{a,b,c}

Данные параметры определяют иммуногистохимическую панель маркеров рецептивности эндометрия. В результате работы алгоритма пошагового отбора были отобраны наиболее значимые параметры и построено следующее прогностическое правило определения рецептивности эндометрия:

$d = -1,389 \square x_1 + 0,022x_2 - 0,044x_3 - 0,019x_4 + 0,041x_5 + 0,006x_6 + 0,015x_7 - 3,248$ где: x_1 – индекс ER/PR в строме эндометрия (отношение баллов H-score для определения ядерной экспрессии ER и PR в строме),

x_2 – p53 в железах эндометрия (% окрашенных ядер в поле зрения),

x_3 – bcl 2 в строме эндометрия (% окрашенных ядер в поле зрения),

x_4 – CD56+ в строме эндометрия (% окрашенных клеток),

x_5 – Ki67 в строме эндометрия (% окрашенных ядер в поле зрения),

x_6 – LIF-R в железах эндометрия (баллы H-score),

x_7 – LIF в железах эндометрия (баллы H-score),

При $d > 0$ эндометрий характеризуется как рецептивный;

при $d \leq 0$ эндометрий характеризуется как нерцептивный.

Проверку устойчивости и работоспособности математической модели осуществляли методом скользящей экзаменационной выборки на 100 пациентках. Результаты экзамена представлены в таблице 2:

Предлагаемый способ дает вероятность правильного прогнозирования нерцептивного эндометрия в 91,75% случаев.

Чувствительность метода составляет 91,3%, специфичность 93,7%.

Эффективность метода составляет 92,5%.

Для уменьшения процента пропущенной патологии приоритет при принятии прогностического решения отдается в пользу патологии.

Проведен корреляционный анализ толщины М-ЭХО по данным ультразвукового исследования и уровнем экспрессии рецепторов половых стероидов в эндометрии (рисунок 1). Показано, что толщина М-ЭХО прямо пропорциональна уровню экспрессии рецепторов половых стероидов в строме эндометрия и корреляционно не связана с уровнем экспрессии в железах эндометрия.

Проведен корреляционный анализ клинических, гистологических и ультраструктурных характеристик эндометрия, определяющих его рецептивность (рисунок 2).

С целью изучения диагностической значимости УЗИ в оценке рецептивности эндометрия проведен корреляционный анализ ультразвуковых характеристик эн-

Таблица 2. Результаты классификации**

ГРУППА			Предсказанная принадлежность к группе		Всего
			0	1	
Исходный	Количество	0	59	5	64
		1	16	168	184
	%	0	92,2	7,8	100,0
		1	8,7	91,3	100,0
Перекрестно проверено ^b	Количество	0	60	4	64
		1	16	168	184
	%	0	93,7	6,3	100,0
		1	8,7	91,3	100,0



Рисунок 1. Линейная регрессия уровня экспрессии стероидных рецепторов в строме и железах эндометрия в зависимости от толщины М-эхо



Рисунок 2. Корреляционный анализ данных иммуногистохимического и морфологического исследований имплантационного эндометрия (ЛП7+) в зависимости от факта наступления беременности

дометрия и маркеров его рецептивности. Не получено достоверных корреляционных связей между толщиной М-Эхо и плотным характером стромального компонента эндометрия ($r=0,47$), равномерным распределением желез ($r=0,56$) и наличием зрелых пиноподий световой микроскопии ($r=0,32$). Таким образом, толщина М-Эхо не может считаться достаточным критерием, определяющим состояние рецептивности эндометрия. Достоверную диагностическую ценность имеет определение эхо-структуры эндометрия в период «имплантационного окна». Наличие трехслойной эхоструктуры эндометрия положительно коррелировало со своевременным созреванием желез ($r=0,33$; $p=0,000$), и напротив, отрицательно коррелировало с признаками диссинхронизма (отставание/опережение) в созревании желез эндометрия ($r=-0,17$;

$p=0,025$), имела положительную корреляцию с васкуляризацией стромы ($r=0,197$; $p=0,008$) и наличием зрелых пиноподий по данным световой микроскопии ($r=0,174$; $p=0,02$). Таким образом, трехслойная эхо-структура эндометрия может свидетельствовать о правильном ритме созревания желез эндометрия, структурных перестройках апикальной поверхности мембран желез и стромальной трансформации эндометрия в период «имплантационного окна», определяющих его рецептивность.

Наибольшее диагностическое значение в интерпретации рецептивных свойств эндометрия по данным ультразвукового исследования имеет перистальтика эндометрия. Наличие перистальтики эндометрия сильно положительно коррелировало с толщиной М-эхо ($r=0,155$; $p=0,035$), структурой и толщиной Junctional

Zone ($r=0,138$; $p=0,009$), секреторной трансформацией желез эндометрия ($r=0,718$; $p=0,000$), выраженностью сосудистого компонента стромы ($r=0,210$; $p=0,004$) и ультраструктурными характеристиками пиноподий ($r=0,360$; $p=0,000$). Таким образом, именно наличие правильной перистальтической волны (от внутреннего зева к дну матки) при проведении ультразвукового исследования является ультразвуковым критерием рецептивного эндометрия.

По нашим данным проведение диагностической гистероскопии у пациенток с репродуктивными неудачами на прегравидарном этапе после завершения терапии увеличивало шанс наступления беременности ($\chi^2=5,613$; $OR=2,430$ CI95% [1,151 ÷ 5,128]; $p<0,05$) (Рисунок 3).

Чувствительность метода УЗИ в выявлении синехий в полости матки в сравнении с гистероскопической верификацией составила 26,31% (10/38) (таблица 3). Специфичность метода составила 64,8%. Площадь под ROC-кривой составила $0,64 \pm 0,059$ CI95% [0,524+0,756]; $p=0,008$. Слабая диагностическая способность УЗИ в определении внутриматочных синехий диктует необходимость проведения гистероскопии для верификации диагноза при подозрении на любую внутриматочную органическую патологию.

При многомерном факторном анализе распределения частот встречаемости микроорганизмов в эндометриальной и вагинальной микрофлоре методом χ^2 не было получено достоверных отличий ($\chi^2=0,710$; $p>0,05$) (рисунок 4).

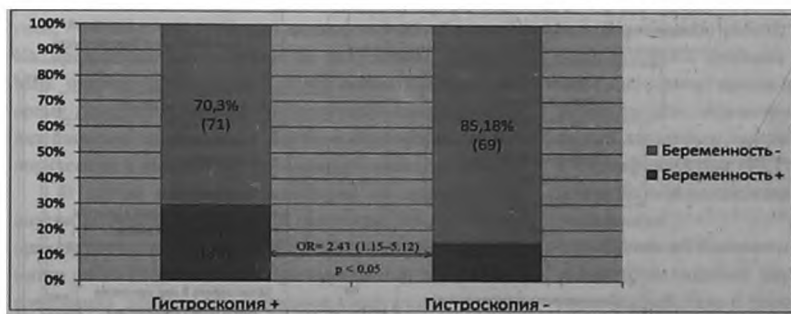


Рисунок 3. Отношение шансов частот наступления беременности в зависимости от проведения гистероскопии на предгравидарном этапе (n=182)

Таблица 3. Сравнительный анализ диагностической ценности TV-УЗИ и офисной гистероскопии в выявлении внутриматочной патологии (n=101)

Патология	TV-УЗИ	Гистероскопия	Гистология	Чувствительность % УЗИ	Чувствительность % HS	Специфичность % УЗИ	Специфичность % HS	χ^2	p
	Абс. %	Абс. %	Абс. %						
Микрополипы эндометрия	6,93 (7)	12,87 (13)	13,86 (14)	50,0*	92,86	95,4	90,3	4,38	<0,05
Внутриматочные синехии	9,93 (10)	23,76 (24)	23,76 (24)	37,5*	100	83,3	100	23,17	<0,01
Признаки эндометрита	22,77 (23)	32,67 (33)	21,78 (22)	92,5	98,9	95,45	75,6	2,498	>0,05

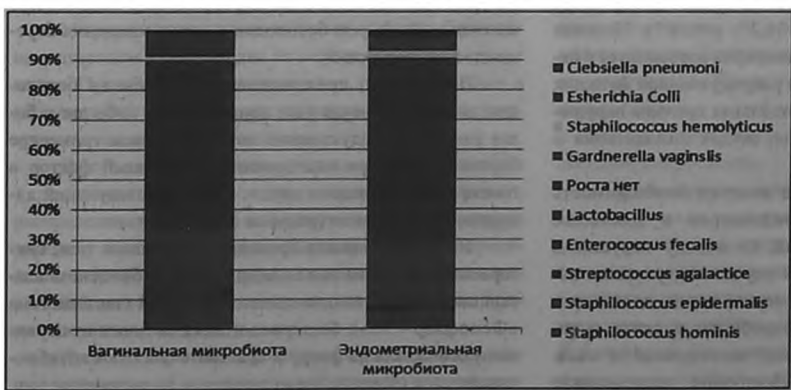


Рисунок 4. Сравнительный анализ вагинальной и эндометриальной микрофлоры у пациенток с гипоплазией эндометрия (n=210; %)



Рисунок 5. Сравнительный анализ микробиоты эндометрия в зависимости от репродуктивных исходов (n=210; %)

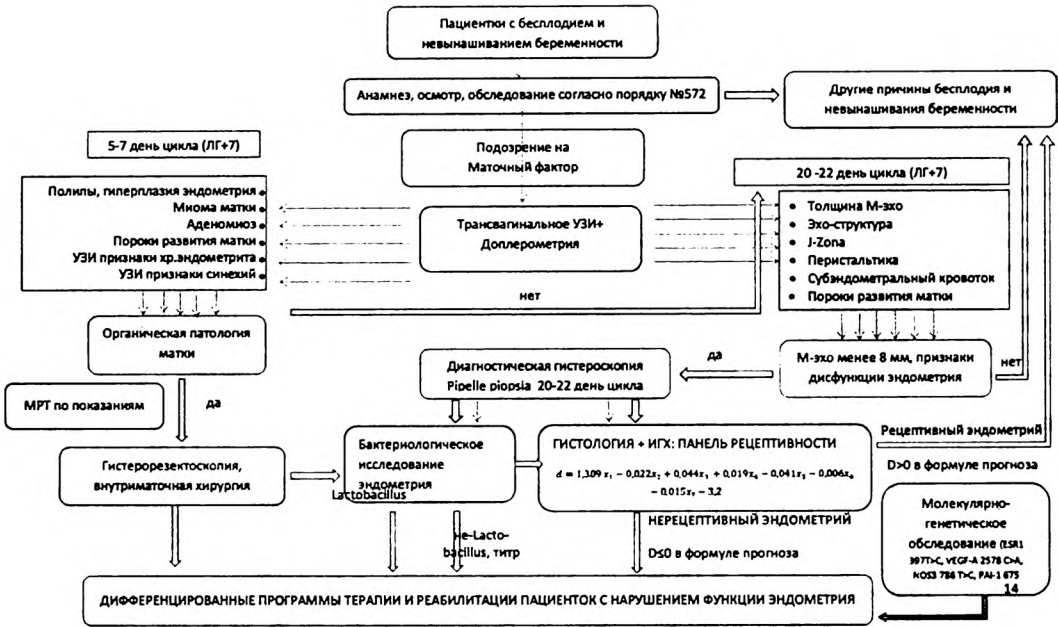


Рисунок 6. Алгоритм обследования пациенток с маточным фактором бесплодия и невынашивания беременности

Структура микробиоты эндометрия пациенток в зависимости от репродуктивных исходов представлена на рисунке 5. По данным многомерного факторного анализа выявлена достоверная зависимость репродуктивных исходов пациенток групп наблюдения от характера микробиоты эндометрия ($\chi^2=30,27; p<0,001$). Наличие бактерий не-Lactobacillus в эндометрии коррелирует с негативными последствиями для репродуктивной функции и может рассматриваться как отдельная причина нарушения рецептивности эндометрия, неудач имплантации и потерь беременности.

Представленные данные диктуют необходимость исследования микробиоты эндометрия в комплексе диагностических мероприятий по поводу нарушения рецептивности эндометрия. В случае контрольных исследований после лечебных мероприятий, достаточно определения вагинальной микробиоты в связи с наличием выявленных корреляций вагинальной и эндометриальной микробиоты. Повторное исследование

микробиоты эндометрия оправдано в случае отсутствия клинического эффекта от терапии и негативных результатах обследования вагинальной микрофлоры. На основании проведенных исследований нами разработан алгоритм диагностических мероприятий у пациенток с маточным фактором бесплодия и невынашивания беременности (рисунок 6).

Пациенткам, предъявляющим жалобы на бесплодие, две и более неудачных попытки ЭКО, либо две и более ранних репродуктивных потери в первом триместре беременности, при подозрении на маточный фактор в генезе репродуктивных неудач проводят следующий алгоритм обследования (рисунок 6).

На 5-7 день цикла проводят УЗИ малого таза; бактериоскопию мазка из влагалища; оценку биоценоза влагалища методом количественной ПЦР-РВ (тест-система «Фемофлор – 16»); бактериологический посев из цервикального канала на флору и чувствительность к антибиотикам.

При выделении абсолютных патогенов, условно-патогенных штаммов в титре более 104 КОЕ/мл, воспалительных заболеваний нижних отделов генитального тракта проводят санирующую терапию (медикаментозное лечение, по показаниям — этиотропное, с восстановлением микробиоценоза влагалища) с обязательным контролем излеченности.

При верификации по данным УЗИ малого таза органических заболеваний матки (полипы и/или гиперплазия эндометрия; миома матки 0-1 тип узла, аденомиоз, узловатая форма с центропитальным ростом узла, пороки развития матки, УЗИ признаки хронического эндометрита, в том числе внутриматочных синехий) пациентке проводят гистероскопию/гистерорезектоскопию с внутриматочной хирургией, по показаниям с лапароскопической ассистенцией. На предоперационном этапе по показаниям проводят МРТ органов малого таза для уточнения диагноза. Во время гистероскопии или гистерорезектоскопии проводят биопсию эндометрия с бактериологическим, гистологическим и иммуногистохимическим исследованием.

В случае отсутствия выявления по данным УЗИ внутриматочной органической патологии, пациентка направляется на повторное УЗИ с доплерометрией сосудов матки на 20-22 день цикла. При проведении данного исследования прицельно оценивают следующие параметры: толщина М-эхо, эхо-структура эндометрия, толщина и структура Junctional Zone, перистальтика эндометрия, субэндометриальный кровоток в ЦДК.

При величине М-Эхо 8 мм и более, трехслойной структуре эндометрия с правильной перистальтикой, наличии субэндометриального кровотока в ЦДК, пациентку дообследуют на предмет выявления других причин бесплодия и невынашивания беременности.

В случае выявления двух и более описанных признаков, в том числе М-Эхо менее 8 мм, показана диагностическая гистероскопия на 20-22 день цикла и биопсия эндометрия. Обосновано проведение гистероскопии разработанным нами аппаратом для кавитационного орошения полости матки с гистероскопической ассистенцией (№RU 2606495 C2), позволяющим сочетать гистероскопию с одновременным прицельным орошением полости матки кавитированными растворами под контролем зрения.

Материал эндометрия забирают пайпель-биопсийным шприцом в области дна по передней и задней стенке матки. Проводят бактериологическое, гистологическое и иммуногистохимическое исследование образцов эндометрия, взятых на 20-22 день цикла.

Дают гистологическое заключение эндометрия с описанием следующих параметров: Равномерность распределения и стадия созревания желез эндометрия; характер плотности стромы; васкуляризация, распределение и тонус сосудов стромы эндометрия; наличие пиноподий на поверхности эпителия желез; признаки хронического эндометрита.

Проводят первичные заключения о рецептивной функции эндометрия на основании разработанного правила прогноза по результатам гистологического исследования (2).

При исследовании образцов эндометрия методом ИГХ определяют следующие параметры: ER α , PR, p53, bcl-2, CD56+, LIF, LIF-R, CD138+. На основании разработанной формулы прогноза (1) делают заключения о рецептивности эндометрия.

К настоящему времени в мире нет единых критериев нерцептивного эндометрия, четко не описана его семантика. Это объясняется отсутствием ясных представлений о патогенезе нарушения рецептивности эндометрия в связи с многоуровневостью и сложностью биологических процессов, происходящих в нем в течение очень короткого периода времени (48 часов). Изложенные обстоятельства определили поиск точных диагностических критериев нерцептивного эндометрия.

В результате работы алгоритма пошагового отбора были отобраны наиболее статистически значимые маркеры и построено прогностическое правило определения рецептивности эндометрия. Предложенное правило обладает достаточно высокой чувствительностью (91,3%) и специфичностью (93,7%), несложно в исполнении и может быть использовано в рутинной практике акушер-гинеколога.

Одним из базовых методов диагностики состояния эндометрия является ультразвуковое исследование органов малого таза с использованием трансвагинальных датчиков с энергетической доплерометрией скоростей кровотока в сосудах матки и цветовым доплеровским картированием. Бесспорными достоинствами метода являются его точность, неинвазивность, скорость получения результата. С целью изучения диагностической значимости некоторых параметров УЗИ в оценке рецептивности эндометрия в нашей работе проведен корреляционный анализ некоторых ультразвуковых критериев состояния эндометрия и клинических, гистологических и ультраструктурных характеристик эндометрия, определяющих его рецептивность.

По нашим данным, метод ультразвукового исследования эндометрия не дает точную интерпретацию рецептивности эндометрия. Нами получены лишь прямые корреляционные связи между толщиной эндометрия и уровнем экспрессии стероидных рецепторов в строме эндометрия. Было доказано, что толщина М-Эхо не определяет структуру стромы эндометрия. В то же время, плотность стромы, как показано выше, является наиболее информативным гистологическим маркером рецептивности эндометрия. Кроме того, не получено достоверных корреляционных связей между толщиной маточного эха и наличием/отсутствием зрелых пиноподий по данным световой микроскопии.

Таким образом, толщина М-Эхо не может считаться достаточным критерием, определяющим состояние рецептивности эндометрия. Большую диагностическую ценность имеет определение эхо-структуры эндометрия в период «имплантационного окна». Трехслойная эхо-структура эндометрия может свидетельствовать о правильном ритме созревания желез эндометрия и структурных перестройках аликальной поверхности мембран желез эндометрия в период «имплантационного окна».

Эти данные соответствуют работам зарубежных коллег, которые свидетельствуют, что именно трехслойный паттерн ультразвуковой картины эндометрия коррелирует с высокой частотой наступления беременности [11,13].

В нашем исследовании наличие субэндометриального кровотока по данным цветовой доплерометрии положительно коррелировало с толщиной маточного эха, синхронностью и равномерностью созревания желез, и наличием пияподий по данным световой микроскопии. Наличие правильной пристальтической волны (от внутреннего зева к дну матки) при проведении ультразвукового исследования также коррелировало с рецептивными свойствами эндометрия. Таким образом, ультразвуковое исследование трансвагинальным датчиком является малоинвазивным, быстрым методом, обладающим высокой специфичностью в выявлении внутриматочной патологии и при оценке признаков хронической эндометрита. Главными ультразвуковыми критериями рецептивного эндометрия в период имплантационного окна являются его равномерная трехслойная структура, наличие правильных перистальтических волн от внутреннего зева к устьям маточных труб и наличие субэндометриального кровотока по данным ЦДК.

Золотым стандартом диагностики патологии эндометрия является гистероскопия, так как она обладает более высокой чувствительностью и специфичностью в выявлении внутриматочной патологии в сравнении с TV-УЗИ. В нашем исследовании подтвержден эффект повышения вероятности наступления беременности после проведения гистероскопии в спонтанных циклах и в циклах ЭКО, что совпадает с данными последнего метаанализа Di Spiezo Sardo A. и соавт., (2016) [14] и данными крупных зарубежных РКИ [15, 16].

Исследование микробиома эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами позволило сделать два вывода. Во-первых, несмотря на то, что в 35-40% случаев результаты посевов из полости матки были отрицательные, эндометрий не является стерильным, как это считалось долгие годы [17]. Полученные нами результаты, подтверждаются недавно проведенные многоцентровые исследованием по молекулярной идентификации бактериальных видов в эндометрии пациентов, перенесших гистерэктомию по поводу доброкачественных заболеваний матки. Эндометрий пациенток, не имеющих воспалительных симптомов заболеваний матки, был колонизирован ассоциацией условно-патогенных микроорганизмов и лактобактерий [18].

Во-вторых, результаты нашего исследования показали, что микробиота эндометрия влияет на репродуктивные исходы у пациенток с нарушением рецептивности. Ravel J. и соавт., 2011; а позднее Moreno I. и соавт., 2016 в своих работах также продемонстрировали зависимость репродуктивных исходов у женщин с нарушением рецептивности эндометрия от состояния микробиоты эндометрия [19-21]. По нашим данным, в эндометрии пациенток с маточной формой бесплодия и невынашиванием беременности, обусловленным его гипоплазией, преобладают микробные ассоциации условно-патоген-

ных грамм-положительных и грамм-отрицательных микроорганизмов, причем, у пациенток с невынашиванием беременности чаще встречаются облигатные патогены, стрептококк группы В, представляющие угрозу для плода. Эндометрий фертильных здоровых женщин в подавляющем большинстве колонизирован микроорганизмами группы *Lactobacillus spp.*

Нами не было получены достоверные различия в структуре микробиома влагалища и матки у пациенток с нерецептивным эндометрием, что совпадает с данными Mitchell, C.M., Haick, A., 2015 [18], но находится в противоречии с данными Moreno I., Codofler F.M., 2016, указывающими на некоторые отличия в структуре вагинального и внутриматочного микробиома человека по данным пиросеквенирования генома микроорганизмов [19].

Представленные результаты диктуют необходимость исследования микробиома эндометрия при проведении pipelle biopsy в комплексе диагностических мероприятий по поводу нарушения рецептивности эндометрия.

Заключение

Разработанная система диагностических мероприятий у пациенток с репродуктивными неудачами, обусловленными нарушением рецептивности эндометрия, предусматривает оценку ультразвуковых, доплерометрических и морфофункциональных характеристик и микробиоты эндометрия, диагностическую гистероскопию и определение рецептивности эндометрия по разработанной модели прогноза, что позволяет с точностью 92,5% диагностировать нарушения рецептивности эндометрия и детализировать их причину.■

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, 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. Автор, ответственный за переписку – Мелкозёрова Оксана Александровна, 620146 г. Екатеринбург, ул. Ретина, 1, e-mail: abolmed1@mail.ru, Рабочий телефон (343)-371-24-27

Литература:

1. Левинашвили, М.М. Оценка рецептивности эндометрия у пациенток с безуспешными программами экстракорпорального оплодотворения в анамнезе / М.М. Левинашвили, Т.А. Демура, Н.Г. Мишинева, Н.М. Фазуллина // *Акушерство и гинекология*. - 2012. - № 4-1. - С. 65-69.
2. Бурменская, О.В. Поиск маркеров персонального «окна имплантации» у женщин в программе экстракорпорального оплодотворения с помощью определения транскрипционного профиля генов / О.В. Бурменская, В.К. Боженко, В.Ю. Смольникова // *Акушерство и гинекология*. - 2017. - № 5. - С. 72-80.
3. Маслова, М.А. Оценка значимости молекулярно-генетических маркеров в эндометрии в прогнозировании исхода беременности в программе экстракорпорального оплодотворения / М.А. Маслова, В.Ю. Смольникова, А.Е. Донников, О.В. Бурменская // *Акушерство и гинекология*. - 2015. - № 3. - С. 26-32.
4. Молекулярные механизмы заболеваний репродуктивной системы / под ред. М.А. Пальцева, - СПб.: Эко-вектор, 2017. - 256 с.
5. Ниаури, Д.А. Иммуногистохимическая характеристика рецептивности эндометрия в циклах ЭКО / Д.А. Ниаури, А.М. Гзгзян, И.М. Кветной, И.Ю.Коган // *Акушерство и гинекология*. - 2014. - № 9. - С. 44-50.
6. Табалова, В.К. Профиль локальной экспрессии генов ростовых факторов и цитокинов в эндометрии периода «имплантационного окна» при хроническом эндометрите / В.К. Табалова, И.Е. Корнеева, А.Е. Донников, О.В. Бурменская // *Акушерство и гинекология*. - 2014. - № 12. - С. 74-78.
7. Berlanga, O. How endometrial secretomics can help in predicting implantation / O. Berlanga, H.B. Bradshaw, F. Vilella-Mitjana // *Placenta*. - 2011. - Vol. 32, № 3. - P.271-275.
8. Garrido-Gómez, T. Profiling the gene signature of endometrial receptivity: clinical results / T.Garrido-Gómez, M.Ruiz-Alonso, D.Blesa // *Fertil. Steril.* - 2013. - Vol. 99. - P.1078-1085.
9. Basir, G.S. Evaluation of cycle-to-cycle variation of endometrial responsiveness using transvaginal sonography in women undergoing assisted reproduction / G.S.Basir, W.S.O, W.W.So // *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* - 2012. - Vol. 19. - P. 484-489.
10. Kasius, A. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis / A. Kasius, J.G.Smit, H.L.Torrance // *Hum. Reprod. Update.* - 2014. - Vol. 20, № 4. - P. 530-541.
11. Check, J.H. Live fetus following embryo transfer in a woman with diminished egg reserve whose maximal endometrial thickness was less than 4 mm / J.H.Check, R.Cohen // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* - 2011. - Vol.38. - P.330-332.
12. Casper, R.F. It is time to pay attention to the endometrium / R.F.Casper // *Fertil. Steril.* - 2011. - Vol. 96. - P 519-521.
13. Гайдюков, С.Н. Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ (обзор литературы) / С.Н.Гайдюков, Ю.К.Боярский, Н.А.Пальченко // *Проблемы репродукции*. - 2013. - № 4. - С. 51-60.
14. Di Spiezio, S.A. Efficacy of hysteroscopy in improving reproductive outcomes of infertile couples: a systematic review and meta-analysis / S.A.Di Spiezio, C.Di Carlo, S.Minozzi // *Hum. Reprod. Update.* -2016.-Vol. 22, № 4. - P.479-496.
15. Pundir, J. Hysteroscopy prior to the first IVF cycle: a systematic review and meta-analysis / J. Pundir, V. Pundir, K. Omanwa // *Reprod. Biomed. Online.* - 2014. - Vol.28, №2. - P.151-161.
16. Smit, J.G.Hysteroscopy prior to a first IVF treatment cycle: the need for well-performed RCT / J.G. Smit, H.T. Torrance, F.J. Broekmans // *Reprod. Biomed. Online.* - 2014. - Vol.29, №1. - P.1-42.
17. Romero, R. Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion, and preterm birth after in vitro fertilization? / R. Romero, J. Espinoza // *Fertil. Steril.* - 2004. - Vol. 82. - P. 799-804.
18. Mitchell, C.M. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women / C.M.Mitchell, A.Haick, E.Nkwopara // *Am. J. Obstet. Gynecol.* - 2015. - Vol. 212.- P. 611-619.
19. Moreno, I. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure / I.Moreno, F.M.Codoñer, F.Vilella // *Am. J. Of Obstetrics and Gynecology*. - 2016. - Vol. 215, № 1.-P. 684-703.
20. Ravel, J. Vaginal microbiome of reproductive-age women / J.Ravel, P.Gajer, Z.Abdo // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* -2011. - Vol.108. - P. 4680-4687.
21. Sirota, I. Potential influence of the microbiome on infertility and assisted reproductive technology / I.Sirota, S.M.Zarek, J.H.Segars // *Semin. Reprod. Med.* - 2014. - Vol. 32. - P. 35-42.