

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Российский университет дружбы народов
имени Патриса Лумумбы»

На правах рукописи

Полина Мирослава Леонидовна

**ПАТОГЕНЕЗ, ПРОГНОЗИРОВАНИЕ И РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА
БОЛЕЗНЕЙ ЭНДОМЕТРИЯ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПОВТОРНЫМИ
НЕУДАЧАМИ ЭКО**

3.1.4. Акушерство и гинекология

3.3.2. Патологическая анатомия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:

Радзинский Виктор Евсеевич,
заслуженный деятель науки Российской
Федерации, член-корреспондент РАН;
доктор медицинских наук, профессор,
Михалева Людмила Михайловна,
заслуженный деятель науки Российской
Федерации, член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ПОВТОРНЫХ НЕУДАЧАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	17
1.1 Повторные неудачи экстракорпорального оплодотворения в фокусе нерешенных научных проблем	17
1.2 Нарушения рецептивности эндометрия в генезе повторных неудач экстракорпорального оплодотворения.....	20
1.3 Роль дисбаланса процессов апоптоза и пролиферации эндометрия	22
1.4 Роль молекулярных маркеров нарушения паракринной регуляции имплантации	23
1.5 Иммунологические аспекты нарушений имплантации	26
1.6 Роль нарушений микробиоты эндометрия в генезе повторных неудач имплантации	31
1.7 Дискуссионные аспекты этиологии и диагностики заболеваний/нарушений состояния эндометрия	35
1.8 Современные методы и перспективы лечения нарушений состояния эндометрия, ассоциированных с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения	39
ГЛАВА 2. ДИЗАЙН И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ	44
2.1 Методы исследования	48
2.2 Методы лечения и контроль излеченности	60
2.3 Этапы программы ЭКО/ИКСИ и переноса эмбриона	64
2.4 Статистическая обработка массива полученных данных	66
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН	69
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ ЖЕНЩИН С ПОВТОРНЫМИ НЕУДАЧАМИ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ	91
4.1 Сонографическое исследование эндометрия	91
4.2 Гистероскопическое исследование эндометрия	95
4.3 Патоморфологическое исследование эндометрия	99
4.4 Метаболические и гормональные особенности гомео–статуса женщин с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения	111
4.5 Микробиологическое исследование биоценоза нижних отделов генитального тракта и эндометрия	113
ГЛАВА 5. ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИОННО– ГОМЕОСТАТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ЭНДОМЕТРИЯ ЖЕНЩИН С ПОВТОРНЫМИ НЕУДАЧАМИ ЭКО	143

5.1	Результаты иммуногистохимических исследований иммунного профиля эндометрия	143
5.2	Особенности иммунного профиля эндометрия, определяющие принадлежность к различным фенотипам	164
5.3	Клинико–анамнестические детерминанты молекулярных механизмов адаптационно–гомеостатических реакций эндометрия	182
5.4	Детерминанты молекулярно-адаптационных фенотипов по результатам инструментальных исследований	188
5.5	Ультраструктурные особенности эндометрия в период «имплантационного окна»	193
5.6	Иммуногистохимическая оценка рецептивности эндометрия женщин в зависимости от фенотипа	201
5.7	Результаты исследований содержания в периферической крови витамина D при фенотипах эндометрия	215
5.8	Нарушения вагинального, цервикального и микробиоценоза матки при молекулярно-адаптационных фенотипах эндометрия	218
5.9	Корреляционные связи между иммуногистохимическими маркерами локального иммунитета при фенотипах эндометрия	241
	ГЛАВА 6. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ АЛГОРИТМА ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ ТАКТИКИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПАХ ЭНДОМЕТРИЯ И ОЦЕНКА ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ.....	254
6.1	Математические модели прогнозирования молекулярно-адаптационных фенотипов эндометрия	254
6.2	Алгоритм дифференцированного подхода к тактике ведения женщин с болезнями эндометрия, ассоциированными с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения	266
6.2	Эффективность персонифицированной терапии при различных фенотипах эндометрия	270
	ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	287
7.1	Фенотип секреторного (нормального) эндометрия.....	300
7.2	Фенотип нарушенного иммунного статуса.....	303
7.3	Диспластический фенотип эндометрия.....	307
7.4	Пролиферативный фенотип эндометрия.....	312
7.5	Фенотип хронического воспаления.....	319
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	333
	Выводы	333
	Практические рекомендации	340
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	343
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	347

ВВЕДЕНИЕ

Глобальная аналитика почти сорокалетнего опыта использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в мире демонстрирует неутешительную в аспекте демографических и экономических проблем тенденцию: более чем у 60% женщин в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) не наступает беременность после первого переноса эмбрионов, 20% страдают от повторных неудач имплантации (ПНИ) и привычного невынашивания беременности (ПНБ) [47, 72, 95, 128]. Нерешенные вопросы ПНИ включают целый спектр заболеваний и нарушений: доказанно препятствующие зачатию и беременности эмбриональные и эндометриальные факторы, и неочевидные, не получившие должного осознания, недостаточно изученные: невосприимчивый эндометрий, иммунорезистентность, нарушения микробиома, а также спорные, например, – тромбофилии [174, 195, 266, 275, 382].

С позиций молекулярных механизмов, формирующих имплантационную восприимчивость, эндометрий, при всем многообразии научных работ, остается наиболее неисследованной тканью женского организма [67, 97]. Противоречивость суждений об особенностях и последствиях эндометриальных «поломок» ассоциирована с эволюцией взглядов на причины неудач ЭКО: от морфологической незрелости, изменений эхо-характеристик, субэндометриального кровотока до аберрантного рецептивного профиля с нарушением стероидзависимой продукции факторов микроокружения [46, 67, 79, 286, 290].

Не систематизированы данные о молекулярно-биологическом профиле эндометрия как основной причине или сопутствующем факторе репродуктивных неудач при гиперплазии (ГЭ) и полипе эндометрия (ПЭ), внутриматочных синехиях, хроническом эндометрите (ХЭ), трубно-перитонеальном бесплодии (ТПБ) [91, 178]. Проблема бесплодия неясного генеза (БНГ) многогранна с позиций невыявленных заболеваний и неуточненных механизмов субоптимальной рецептивности эндометрия [40, 140].

Отсутствие алгоритмированного диагностического подхода определяет порядка 14,0-51,0% внутриматочных «находок» при сонографии и гистероскопии,

а частота молекулярных дефектов, связанных с дисрегуляцией процессов, влияющих на рецептивность эндометрия, достигает 60,0-70,0% [244, 246]. Фундаментальность научных подходов при оценке молекулярных характеристик эндометрия не отменяет контраверсий суждений ввиду различий дизайнов исследования и методик лечения [79, 386], невыясненных конфаундеров рецептивности и индивидуальной фазы трансформации, причин смещения «окна имплантации».

Аспекты дисрегуляции локальной иммунной системы при повторных неудачах ЭКО недостаточно изучены с позиций медиаторов иммуноопосредованных молекулярных «событий» [259, 295, 371, 378].

Дискуссионные аспекты репродуктивных последствий ХЭ обусловлены отсутствием четких рекомендаций необходимости исключения заболевания при обследовании бесплодных пар [2, 12, 35].

Смена представлений о «стерильности» эндометрия на вероятное присутствие комменсалов и патогенов отсылает к изучению механизмов влияния микробного разнообразия на процессы ремоделирования и его рецептивный статус [51, 270, 291]. Перспективны, хотя и противоречивы данные исследований микробиоты при заболеваниях эндометрия, включая ПЭ, ГЭ, а также в сочетании с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) [280, 284]. Динамическое взаимодействие между микробиомом и иммунитетом — сложная и быстро развивающаяся область науки с огромными возможностями для развития репродуктивной медицины [203]. Однако механизмы взаимосвязи между врожденной и адаптивной иммунной системами эндометрия, микробиотой, метаболитами и белками малоизучены [354, 355].

Разноречивы мнения о влиянии на систему коммуникации «эмбрион-эндометрий» пиноподий, начиная от плотности их распределения и особенностей морфологических форм и до механизмов нарушения экспрессии факторов регуляции «окна имплантации» [285, 290]. Неоднозначные представления о фертильном потенциале женщин с «тонким» эндометрием инициируют поиск

маркеров «фиброзного» фенотипа и уточнение роли трансформирующего фактора роста бета-1 (TGF- β 1) [83, 90, 292].

Дискутируется связь репродуктивных неудач с неадекватным сывороточным уровнем 25-гидроксикальциферола [25(OH)D] и нарушением экспрессии его рецепторов (VDR) в контексте гормонально-иммунных взаимодействий и влияния на цитокиновый профиль локальной иммунной системы Th1/Th2 эндометрия [383].

Недостаточно доказательств использования какого-либо вмешательства для подготовки эндометрия перед переносом эмбрионов в естественных или криоциклах [303]. Низкую результативность лечения повторных неудач ЭКО детерминирует отсутствие унифицированного диагностического подхода, что является поводом к выяснению истинных причин нарушения децидуализации и рецептивности эндометрия [259].

Степень разработанности темы. Весомый вклад в изучение факторов, влияющих на секреторную трансформацию эндометрия, внесло понимание ряда механизмов нарушений в период «окна имплантации» — от атипичных характеристик желез до асинхронного взаимодействия между клетками, тканью и эмбрионом [384]. Представление об эндометриальной дисфункции как «...обратимых, условно обратимых морфофункциональных изменений, в основе которых лежат нарушения механизмов, приводящих к нарушению имплантации ...» (Толибова Г.Х. и соавт., 2018) [82], определило новый виток развития молекулярной репродуктологии, актуализировав поиск кофакторов «рецептивного» профиля и разработку концепции полноценного иммунного микроокружения [162]. Последствия механической «травмы» эндометрия более изучены с патоморфологического «ракурса», нежели с позиций поиска предикторов фертильных опций «тонкого» эндометрия [39, 156].

Проблема ХЭ как причины бесплодия и повторных неудач ЭКО требует более надежных методик верификации и уточнения генеза, особенно с появлением концепции «воспалительного состояния эндометрия» [100, 140, 181, 219, 243].

Исследования молекулярно-биологических особенностей эндометрия при ХЭ вскрывают нерешенную проблему диагностических ошибок и неэффективности лечения [89, 114].

Представления о возможности реализации фертильности женщин с полипами и микрополипами эндометрия противоречивы [143, 189] и отсылают к изучению микросреды и механизмов регуляции имплантации после удаления образований [265, 356]. Риск ПНИ доказан в отсутствие зрелых форм и при дисхронозе развития пиноподий [10, 132], однако взаимодействие этих ультраструктур с прочими молекулярными сигнатурами эндометрия малоизучено [281].

Доказано влияние на фертильность гомеобокс-генов НОХА 10,11 и кодируемых ими белков как ключевых регуляторов рецептивности эндометрия при некоторых гинекологических заболеваниях [227,228], однако данные об их участии в генезе «маточного фактора» бесплодия малочисленны и противоречивы [92] и вовсе отсутствуют при повторных неудачах ЭКО.

Прогресс в понимании механизмов диалога эндометрия с генетически и иммунологически отличным эмбрионом [243, 372], как и негативного влияния на передачу сигналов половых стероидов и стабильность гомеостаза аномального профиля цитокинов в 80,0% ПНИ не до конца объясняет гетерогенность суждений о факторах регуляции локального иммунного ответа, приводящих к бесплодию и репродуктивным неудачам [181]. Сведения о скомпрометированном иммунном взаимодействии в период «окна имплантации» базируются на теоретических выкладках, либо исследованиях отдельных маркеров, ограничивая воссоздание картины межмолекулярных взаимодействий и оценку их влияния на рецептивный статус эндометрия [355, 401].

Анализ истинных причин повторных неудач ЭКО при идеальной синхронизации эндометрия с эмбрионом объясняет внимание к пулу иммунокомпетентных клеток, доминирующему Т-профилю (Th1/Th2) и характеру экспрессии предполагаемых кофакторов рецептивности – цитокинов, хемокинов, факторов роста и молекул адгезии [385].

Внедрение технологии секвенирования генов позволило выявить различия микробного состава матки при физиологическом статусе и заболеваниях эндометрия [183, 186], нарушениях имплантации и выкидышах после ЭКО [185], однако в реакциях взаимодействия системы «эндометрий-локальный иммунитет» роль микробиоты практически не рассматривалась [122, 168]. Расширенные представления о потенциальном участии и реализации эффектов кальцитриола через VDR и регуляцию экспрессии генов, участвующих в имплантации [393], внесли изменения в понимание его роли как гормонального мессенджера. Однако возможность 25(OH)D влиять на рецептивность эндометрия через локальную иммунную активность дискутируется [334].

Повышение результативности лечения женщин с повторными неудачами ЭКО представляется реальным при выборе стратегий, основанных на понимании молекулярно-биологических особенностей эндометрия, позволяющих прогнозировать реальные шансы реализации репродуктивной функции. Современные концепции патогенеза нарушений имплантационного потенциала эндометрия будут эффективны только при интегральном учете роли микробиома, факторов локального иммунитета и влияния оксидативного стресса, что позволит корректировать передачу гормональных сигналов с целью персонификации лечебно-диагностических подходов, инновационных диагностических и терапевтических стратегий преодоления infertility.

Цель исследования: повысить эффективность преодоления повторных неудач ЭКО, ассоциированных с нарушениями адаптационно–гомеостатических реакций эндометрия.

Для выполнения цели были поставлены следующие **задачи:**

1. Установить распространенность и структуру болезней и патологических состояний эндометрия при повторных неудачах ЭКО.
2. Оценить структурно–метаболические особенности эндометрия, ассоциированные с нарушением адаптационно–гомеостатического потенциала ткани на фоне изменений микробиоты генитального тракта.

3. Выявить морфологические и иммуногистохимические маркеры нарушений рецептивности в период «имплантационного окна» у пациенток с повторными неудачами ЭКО.

4. Определить основные иммунные механизмы нарушений функции и адаптационно–гомеостатических реакций эндометрия при повторных неудачах ЭКО.

5. Описать патогенетически значимые молекулярно-адаптационные фенотипы, определяющие имплантационную несостоятельность эндометрия при повторных неудачах ЭКО.

6. Установить особенности патогенеза и локального иммунитета у пациенток с полипами эндометрия и повторными неудачами ЭКО.

7. Разработать модели персонифицированного прогнозирования и алгоритм ранней диагностики нарушений функции эндометрия при повторных неудачах ЭКО.

8. Разработать систему мер по преодолению повторных неудач ЭКО, связанных с эндометриальным фактором, и оценить ее эффективность.

Научная новизна.

Разработана научная концепция преодоления повторных неудач ЭКО, ассоциированных с эндометриальным фактором. Получены приоритетные данные, расширяющие представления о частоте, структуре и патогенезе нарушений состояния эндометрия при БНГ, ТПБ, НГЭ I–II стадии, «тонком» эндометрии, ХЭ. Выявлены предпосылки репродуктивного нездоровья, сочетанные с формированием структурно–метаболических особенностей эндометрия. Показана их детерминированность паттернами, ассоциированными с микробным и вирусным инфицированием биотопов генитального тракта, хирургической травмой и хроническим воспалением эндометрия, снижением уровня 25(OH)D в сыворотке крови. Представлены варианты патоморфологического несоответствия эндометрия в период «окна имплантации» секреторному статусу, выделены морфотипы [диспластический, пролиферативный, хронический эндометрит, секреторный (норма)]. Определен вклад молекулярно–клеточных «поломок» и нарушения

микробиома эндометрия в генез повторных неудач ЭКО при бесплодии различного генеза. Получены новые данные об иммуноопосредованных механизмах нарушений в период «имплантационного окна» при заболеваниях эндометрия, доказывающих неоднородность молекулярных сигнатур внутри разных нозологических форм бесплодия (БНГ, ТПБ, НГЭ, «тонкий» эндометрий, ХЭ).

Определены молекулярно-адаптационные фенотипы эндометрия [нарушенного иммунного статуса, хронического воспаления, нормальный (секреторный), диспластический, пролиферативный], обусловленные состоянием иммунного профиля в период «окна имплантации» [экспрессия в железистом и стромальном компартментах фактора некроза опухоли ($\text{TNF-}\alpha$), гранулоцитарно–макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), интерлейкина–10 (IL-10), хемокина C–X–C Motif Ligand 16 (CXCL16), хемокина, привлекающего В–лимфоциты (BCA1), $\text{TGF-}\beta\text{I}$, редокс–чувствительного транскрипционного фактора (NRF2)]. Выявлено несоответствие частоты морфотипов и молекулярно-адаптационных фенотипов эндометрия в период «окна имплантации».

Показано, что гетерогенность иммунного микроокружения и микробиоты эндометрия [лакто– и нелактобациллярный типы (дисбиотический, смешанный)] при различных фенотипах достоверно определяет имплантационную состоятельность микросреды. Представлены молекулярные механизмы адаптационно–гомеостатических реакций эндометрия в период «окна имплантации», включающие иммунный и рецептивный профиль [экспрессия эстрогеновых и прогестероновых рецепторов (ER/PR)], активность кофакторов рецептивности (VDR и HOXA11). Приведены новые данные об основных механизмах формирования полипов и морфофункциональных характеристиках микро– и макрополипоидного эндометрия, изолированно и в сочетании с хроническим воспалением.

Разработаны модели персонифицированного прогнозирования и ранней диагностики нарушений состояния эндометрия при различных формах бесплодия. Научно обоснованы способы преодоления повторных неудач ЭКО, связанных с

эндометриальным фактором, и критерии объективного восстановления имплантационного потенциала.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Разработана, научно обоснована и внедрена в клиническую практику методика прогнозирования и ранней диагностики эндометриальных повреждений, ассоциированных с повторными неудачами ЭКО. Обоснована необходимость персонализированного расширения объема обследования женщин с бесплодием различного генеза для детализации молекулярно–адаптационных фенотипов эндометрия, позволяющих верифицировать характер и многоуровневость повреждений. Показано, что неполноценная на этапе обследования диагностика паттернов эндометриальных нарушений в группах с БНГ, ТПБ, НГЭ, «тонким» эндометрием и ХЭ увеличивает частоту репродуктивных неудач, как и гипердиагностика хронического воспаления и необоснованная антибактериальная терапия. В противовес этому предложен алгоритм достоверной диагностики ХЭ и его патоморфологических форм [полная и неполная (лимфоидный фолликулярный тип и диспластический)].

Показана эффективность персонифицированного подхода, предусматривающего прогнозирование структурно–функциональной несостоятельности эндометрия в период «окна имплантации» на основании выявленных клинических факторов риска и ранней диагностики нарушений микросреды матки (микробиома, рецепторного профиля, иммунного микроокружения и пиноподий). Представлены данные о реальных возможностях улучшения морфофункциональных характеристик и имплантационного потенциала эндометрия женщин с повторными неудачами ЭКО на основании имеющихся и перспективных лечебных стратегий.

Методология и методы исследования

Выполнено открытое обсервационное комбинированное (про– и ретроспективное) исследование, программа которого предусматривала выявление клинико–анамнестических факторов риска повторных неудач ЭКО и оценку морфофункционального состояния эндометрия в период «окна имплантации». В

соответствии с поставленной целью и задачами намечены этапы исследовательской работы, выбран контингент (женщины с повторными неудачными попытками ЭКО) и методы исследования [клинико–эпидемиологический, эхография с доплерометрией, гистероскопия, патоморфологический, включая иммуногистохимический (ИГХ), микробиологический, сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)].

Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины, групп сформированы с учетом критериев включения/исключения, информированного согласия. Ретроспективный этап был необходим для сравнительного анализа эффективности традиционной (n=98) и персонифицированной (на проспективном этапе исследования) тактики лечения нарушений состояния эндометрия в группах с повторными неудачами ЭКО.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Развитие эндометриальной дисфункции эндометрия, сочетанной с повторными неудачами ЭКО при бесплодии различного генеза, детерминирована ростом дисбиотических нарушений микрофлоры, инфекционно-воспалительных заболеваний органов малого таза, неоднократными внутриматочными манипуляциями, отсутствием реабилитационных мер после репродуктивных потерь, приводящих к снижению адаптационно-гомеостатического потенциала сообразно воздействию повреждающего фактора.

2. Структурно-функциональные особенности эндометрия при повторных неудачах ЭКО определяют: целостность и темпы созревания железистого и стромального его компартментов и ультраструктур (пиноподии), состояние гормонально-метаболического гомеостаза (асинхронное и патологическое смещение «окна имплантации» – нарушение экспрессии ER/PR, кофакторы рецептивности VDR, HOXA11), наличие континуума микробиоты нижних и верхних отделов репродуктивной системы.

3. Адаптационно-гомеостатические характеристики эндометрия, неоднородные внутри групп (бесплодие неясного генеза, трубно-перитонеальное бесплодие, наружный генитальный эндометриоз, хронический эндометрит,

«тонкий» эндометрий), расцениваются как универсальные реакции на патоген-ассоциированные или эндокринные паттерны воздействия, реализуемые в виде фенотипов (нарушенный иммунный статус, диспластический, пролиферативный, хроническое воспаление, секреторный – норма).

4. Характер повреждений эндометрия, определяемый «компетентностью» составляющих «тригона» «ткань–микробиота–локальный иммунный статус», имеет векторную направленность: дисбаланс процессов апоптоза/пролиферации, хроническое воспаление, иммунная дисрегуляция.

5. Детерминантой полиповидных образований эндометрия при повторных неудачах ЭКО у женщин с бесплодием различного генеза выступает патогенетически сходная молекулярно-биологическая основа: повышение пролиферативного потенциала (гиперэкспрессия ER, Ki-67, HOXA11, VDR) в ответ на триггерное распознавание – эндокринных молекулярных паттернов (при полипах) и ассоциированных с вирусным поражением эндоцервикса микрополипов с развитием на фоне хронического воспаления гипериммунного ответа (гиперэкспрессия GM-CSF, TNF- α).

6. Эффективность персонифицированного подхода при оздоровлении женщин с бесплодием различного генеза и повторными неудачами ЭКО основывается на ранней диагностике многоуровневости эндометриальных повреждений, прогнозировании вариантов иммунных нарушений и моделировании молекулярно-адаптационных фенотипов с уточнением резерва эндометрия и реальных возможностей восстановления структурной пластичности, гомеостаза и гомеокинеза, позволяющих добиться увеличения частоты наступления беременности и родов (в 1,8 раза).

Степень достоверности и апробация работы

Исследование проводилось в соответствии с принципами доказательной медицины. Достоверность результатов работы, обоснованность выводов и рекомендаций базируется на достаточном числе наблюдений, широком спектре современных методов исследования с использованием рекомендуемых статистических методик. Сформулированные на основании исследований

положения, выводы и рекомендации аргументированы и вытекают из результатов комплексных исследований.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов прикладных программ «Microsoft Excel» (2007), «Statistica for Windows 6.0» (StatSoft, США), пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 26 (IBM, США). Качественные признаки представлены в виде абсолютных и относительных (процентных) величин, количественные – при нормальном распределении данных в виде средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (standard deviation, SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ); распределении, отличном от нормального – медианы (Me) и верхнего и нижнего квартилей ($Q1$ – $Q3$). Значимость различий качественных признаков оценивалась при использовании критерия χ^2 Пирсона и точного критерия Фишера, количественных – t -критерия Стьюдента или U -критерия Манна–Уитни, при множественных сравнениях – критерия Крускала–Уоллиса. Различия показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили с ранжированием по коэффициентам Спирмена или Пирсона. Показатель отношения шансов (ОШ) с границами 95% ДИ использовали при сравнении категориальных данных. Прогностические модели строили с помощью методов линейной регрессии, бинарной логистической регрессии и receiver operating characteristic (ROC-анализа) – кривая для представления ее результатов.

Работа была выполнена в рамках основной научно – исследовательской деятельности кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии ФГАОУ ВО РУДН — «Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально–экономических условиях» (номер государственной регистрации 01.9.70 007346, шифр темы 317712).

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на: Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2023); Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья» (Москва, 2023), XVII Общероссийском научно-

практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Москва, 2023), VIII Всероссийской конференции с международным участием «Репродуктивное здоровье женщин и мужчин» (Москва, 2023).

Апробация диссертации состоялась 9.02.2024 года на научной конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института (МИ) ФГАОУ ВО РУДН совместно с сотрудниками «НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына» ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», протокол № 10.

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, внедрены в практическую работу учреждений кафедры отделения гинекологии ГБУЗ г. Москвы «ГКБ имени В.М. Буянова ДЗМ», патологоанатомического отделения «ГКБ №31 ДЗМ имени академика Г.М. Савельевой», в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии МИ ФГАОУ ВО РУДН, кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины факультета непрерывного медицинского образования МИ ФГАОУ ВО РУДН.

Личный вклад соискателя заключается в участии во всех этапах диссертационного исследования: анализе массива выкопированных из медицинской документации пациенток с повторными неудачами ЭКО, курации пациенток, их обследовании, включающем сонографическое исследование органов малого таза, гистероскопию, пайпель–биопсию эндометрия; обработке и интерпретации полученных результатов, формулировке выводов, разработке прогностических моделей и алгоритма ранней диагностики, подготовке основных публикаций, отражающих базовые концепции диссертации.

Исследования осуществлялись совместно с лабораторией патоморфологии на базе ФГБНУ НИИ Морфологии человека (директор института – засл. деятель РФ., член–корреспондент РАН, д.м.н., профессор Михалева Л.М.).

Анализ эндометрия методом СЭМ выполнен совместно с отделом электронной микроскопии Научно–исследовательского института физико–химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного

университета имени М.В. Ломоносова (руководитель – д.б.н., профессор Брагина Е.Е.).

По материалам диссертации опубликовано 25 научных работ в отечественной и зарубежной печати, из них – 8 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, 10 – в изданиях, цитируемых в базе Scopus/Web of Science.

Диссертационная работа изложена на 390 страницах, состоит из введения, включающего методологию обследования, обзора литературы, пяти глав, содержащих результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, включающего выводы и практические рекомендации, указателя литературы.

Работа содержит 105 таблиц, иллюстрирована 104 рисунками. Список литературы включает 405 источников, из них 100 на русском и 305 – на иностранном языках.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ПОВТОРНЫХ НЕУДАЧАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Повторные неудачи экстракорпорального оплодотворения в фокусе нерешенных научных проблем

Масштабы нарушения репродуктивной функции в мире довольно критичны [128]: «маточный фактор» бесплодия может затронуть одну из 500 женщин [381]. Достижения репродуктологии не могут скрыть проблемы современных реалий: частота наступления беременности (ЧНБ) в программах ВРТ остается невысокой (40,0%), наряду с экспоненциальным ростом репродуктивного нездоровья на фоне социально–экономических угроз демографической политике [67, 72, 95, 124, 195, 266]. Неуклонный рост бесплодия (39,0% по причине женского фактора, 15% – необъяснимого генеза) вынуждает к поиску скрытых причин и повышения эффективности методов ЭКО [67, 95], повторные неудачи которых связывают с дефектами гамет, эмбрионов, заболеваниями матки и эндометрия. Термин «повторные неудачи ЭКО» более обширен, чем ПНИ. Отсутствие четких дефиниций понятия ПНИ в научной среде разрешилось с появлением законодательно утвержденной позиции, что «повторные неудачные попытки переноса эмбрионов (имплантации)» интерпретируются как случаи трех неудачных попыток селективного переноса «свежих» или размороженных эмбрионов у женщин моложе 35 лет, и двух — 35 лет и старше, при отсутствии каких–либо факторов, снижающих шансы наступления беременности [37].

Эндометрий – *terra incognita* современной репродуктологии, диапазон очевидных и неявных изменений которого при БНГ и различных гинекологических заболеваниях («тонкий», гиперпластический, хроническое воспаление) признан ведущей причиной отрицательных исходов программ ВРТ и подводит к

необходимости пересмотра подходов к профилактике и лечению данного контингента женщин [67, 97, 100, 195].

Причины трудностей преодоления повторных неудач ЭКО обусловлены гиподиагностикой повреждений эндометрия, недооценкой молекулярно–биологических паттернов, препятствующих полноценному диалогу (стадии имплантации – аппозиция, прикрепление, миграция, инвазия) с бластоцистой [46, 218, 286, 290, 300]. Ранняя диагностика и прогнозирование нарушений состояния и заболеваний эндометрия в исходе дисгормональных (гиперпластических, дистрофически–атрофических) и воспалительных процессов представляются реальной стратегией снижения неудач имплантации [30, 38, 77, 171, 381]. Недиагностированные заболевания матки (субмукозная миома, ПЭ, синехии, перегородки) у трети женщин в программах ЭКО и двух третей по данным опроса и сонографии [34] объясняются отсутствием четких алгоритмов обследования [244, 246]. Феномен «тонкого» эндометрия (2,4–8,5%) как предполагаемая причина неудач имплантации и снижения ЧНБ в программах ВРТ (в 9,1 раза) [63, 222] малоизучен с позиций прогнозирования способности к регенерации и пластичности [83]. Недооцененную роль ГЭ в генезе бесплодия доказывает высокий показатель в структуре внутриматочной патологии (44,0%) и ПНИ – в 1,6 и 2,5 раза чаще, чем с эндометриозом и миомой матки [34]. Причины бесплодия у женщин с НГЭ (до 30–50,0%) [69, 146, 264] активно исследовались в связи с развитием молекулярной биологии, однако патогенез ПНИ при «малых» формах заболевания (до 70,8%) неясен, ведущая роль эндометриального фактора оспаривается [69, 99, 247]. Дискуссионность репродуктивных последствий ХЭ при вариабельности частоты (8,0–72,0%) [76, 78, 140, 141, 144, 314, 316], стертости и неспецифичности симптоматики объясняется отсутствием рекомендаций исключения заболевания при обследовании бесплодных пар [327]. Противоречивость данных о причинах повторных неудач ЭКО обусловлена неучтенным сочетанием ХЭ с гинекологическими заболеваниями: идиопатическим бесплодием – 56,8–66,0% [140, 145, 315], НГЭ – около 40,0% [178, 223, 257], внутриматочными синехиями – 83,3% [36], ПЭ – 76,7% [143], ГЭ – 44,0% [34],

затрудняющими оценку морфофункционального состояния эндометрия и молекулярно–клеточных реакций, их универсальности или специфичности при различных формах бесплодия. Спорные представления о причастности ХЭ к ПНИ и выкидышам [2, 12, 35, 101] обосновывают необходимость комплексного многоуровневого исследования эндометрия, его молекулярно–биологических опций и иммунного профиля для выбора патогенетически обоснованного лечебного воздействия. До 70,0% репродуктивных неудач в программах ВРТ при переносе эмбрионов отличного качества связывают с неочевидными изменениями эндометрия [208, 397]: нарушением развития желез в пролиферативную фазу менструального цикла (МЦ) [310, 384], эпителиально–мезенхимальной зоны [248], мозаичностью воспалительно–дисрегенераторных повреждений [8, 32, 45, 75].

Негативное влияние ПЭ (35,0%) на ЧНБ [189] связывают с механическим препятствием к имплантации, особенно при расположении вблизи трубных углов [30, 72], реже – воспалительными изменениями биохимической среды, потенциально токсичной в отсутствие реабилитационного курса после удаления гидросальпинкса и детерминирующей дисбаланс процессов стероидогенеза, ангиогенеза и иммуногенеза [26, 172]. Противоречивость и разобщенность ключевых аспектов генеза неудач имплантации может быть преодолена исследованием влияния на реализацию эффектов стероидных половых гормонов локального микроокружения (стромальных, эпителиальных и иммунных клеток) [27, 72]. Отсутствие четких представлений о причинах и механизмах снижения восприимчивости к имплантации морфологически полноценного эндометрия [после устранения субстратов в матке (ГЭ, ПЭ) и малом тазу (гидросальпинкс, эндометриоидные гетеротопии)], регуляторах патофизиологических процессов и составляющих сигнальные пути медиаторах воспаления и иммунных факторах определяет низкую эффективность лечебных мероприятий [91, 178, 285].

Нарушение взаимодействия эндометрия и генетически и иммунологически отличного эмбриона детерминировано сложностями аутокринных, паракринных и эндокринных коммуникаций половых стероидов, факторов роста, цитокинов, хемокинов, роль и функция которых в процессе имплантации дискутируется [154,

182, 211]. Различные уровни регуляции процесса имплантации – гистологические, протеомные, генетические объясняют отсутствие универсального, точного и доступного маркера рецептивности и усложняют выявление истинных причин репродуктивных неудач [96, 97, 101]. Молекулярный профиль эндометрия в период ремоделирования и дифференциации клеток стромы в децидуальные в норме и при заболеваниях недостаточно исследован [22, 66], однако именно понимание точных механизмов, связанных с неудачей имплантации, позволит выделить новые прогностические/диагностические маркеры и определить персонифицированную тактику ведения [21, 41, 46, 55, 116, 162]. Решение проблемы повторных неудач ЭКО требует выяснения истинного вклада нарушений состоятельности эндометрия при заболеваниях органов малого таза в качестве морфологических и молекулярных предпосылок неудач имплантации, особенно при БНГ, совершенствования алгоритма ранней диагностики, стратификации персонифицированного риска с помощью прогностических моделей.

1.2 Нарушения рецептивности эндометрия в генезе повторных неудач экстракорпорального оплодотворения

В основе формирования рецептивного эндометрия лежит изменение под влиянием прогестерона экспрессии генов контроля клеточного цикла, сигнальных путей клеточной адгезии и метаболизма [82, 124]. Нарушения рецептивности полагают следствием «субпороговых» факторов дезорганизации эндометрия после вмешательств на маточных трубах и матке, коагуляции эндометриоидных гетеротопий, при субклинических формах воспаления, особенностях структуры желез [74, 260, 384]. Аберрантная экспрессия генов контроля способности бластоцисты к инвазии [397] может объясняться изменением передачи сигналов эстрадиола и прогестерона, реализуемых посредством геномных и негеномных действий [79, 382, 386]. Отсутствие снижения экспрессии ER- α в период «окна имплантации» считают причиной необъяснимого бесплодия вследствие нарушения активности необходимых для имплантации бластоцисты генов [298].

Представления о рецептивном статусе эндометрия при ХЭ разнятся, что полагают следствием различной патоморфологической основы как самого заболевания [32, 68, 84, 85, 88], так и сочетания с другими нозологиями [59, 73, 82, 89, 91, 140]. Шуршалиной А.В. (2007) [93] выявлено двукратное усиление экспрессии ER и PR в ядрах эпителиоцитов желез, с меньшей тенденцией в строме. Повышенная экспрессия ER α /ER β и PRA/PRB показана как отличие ХЭ от неизмененного эндометрия [142]. Таболовой В.К. (2014) [68], напротив, различий в ER/PR профиле в стромальном и железистом компонентах эндометрия женщин с ХЭ и здоровых не обнаружено, в отличие от неоднородного рецепторного профиля при макротипах хронического воспаления (гипо-, гиперпластический, смешанный) [65]. Приведены данные о корреляции aberrантной экспрессии PR и ER и медиаторов воспаления, однако и само воспаление может быть причиной нерецептивного эндометрия [84, 85, 93, 97, 245, 250]. Нарушение рецептивности не только в эндометрии, но и в самих синехиях проявлялось компенсаторным на фоне фиброза повышением экспрессии ER и снижением PR. С развитием грубоволокнистой соединительной ткани отмечали прогрессирующее снижение экспрессии ER [86]. Сочетание ХЭ с ГЭ полагают причиной снижения рецептивности и неполноценной секреторной трансформации эндометрия даже при нормальном уровне половых стероидных гормонов [60]. Альтернативно разрозненным представлениям, механизм формирования эндометриальной дисфункции всех женщин с НГЭ, 80% – с миомой матки и воспалительными заболеваниями органов малого таза (ВЗОМТ) рассматривают как единство патогномоничных признаков: снижение экспрессии ER в железах/строме и PR в строме эндометрия, аффинности стероидных рецепторов на фоне гиперэкспрессии белка межклеточной адгезии CD34+, отражающего избыточную активацию неоангиогенеза, наряду с положительной экспрессией p16ink4a, ингибитора циклинзависимых киназ и маркера нарушения клеточного цикла [82, 97]. Дисбаланс рецепторов с превалированием ЭР- α над экспрессией ЭР- β в железах, ПР-В над ПР-А в железах и строме показан в исследовании Иванова И.А. (2020) [30], однако практически отсутствуют данные о профиле эндометрия после

удаления образований. Немногочисленны и противоречивы представления о молекулярном статусе эндометрия после удаления гидросальпинкса [72, 91, 150].

1.3 Роль дисбаланса процессов апоптоза и пролиферации эндометрия

Представляет интерес изучение особенностей механизма инвазии, включающего апоптоз и факторы разрушения эпителия, межклеточного взаимодействия и реакций «клетка–субстрат» для реализации миграции, ремоделирования сосудов и внеклеточного матрикса в период «окна имплантации» при различных заболеваниях эндометрия, определяющих его несостоятельность [17, 32, 33, 44, 54, 221]. Дисбаланс процессов «пролиферация–апоптоз», изменение состава и активности клеточных субпопуляций эндометрия полагают возможной причиной неудач имплантации [22, 52, 59, 75].

Патогенез «тонкого» эндометрия, «субоптимальное» развитие которого полагают следствием высокого сопротивления в маточных артериях, нарушения васкулогенеза, рецептивности [17, 162, 299] и идиопатической архитектоники [277] сложен и дискуссионен. Львова А.В. (2018) [43] сообщает, что в патогенезе «тонкого» эндометрия основную роль играет дисхронозное созревание желез на фоне обеднения сосудистой сети, пиноподий, уплотнение стромы, снижение экспрессии лейкоингибирующего фактора (LIF), CD34+, сосудисто-эндотелиального фактора роста А (VEGF–А). Maekawa R. и соавт. (2017) [374] в качестве молекулярных механизмов ПНИ при «тонком» эндометрии представили aberrantly активированные воспалительные элементы и снижение регуляции генов, отвечающих за метаболизм и реакцию клетки на окислительный стресс.

Доказаны структурные и молекулярные особенности эндометрия при ХЭ, нарушающие восприимчивость к имплантации: воспалительная инфильтрация, фибробластические реакции и изменения архитектоники внеклеточного матрикса, апоптоз функционального слоя [35, 51, 56, 85]. Однако предикторы повышения пролиферативной активности желез эндометрия на фоне ХЭ дискутируются [59, 78]: одни авторы разрушение экстрацеллюлярного матрикса и архитектоники

ткани, нарушение фагоцитоза поврежденных клеток, процессов субклеточной и клеточной регенерации связывают с длительностью воспаления [25, 180]. В других источниках развитие микрополипов и ПЭ у женщин с ХЭ [109, 223] в период средней стадии фазы секреции (20–22 день МЦ) полагают следствием изменения экспрессии генов, кодирующих белки контроля процессов воспаления, репликации и апоптоза [110]. Сообщается о повышенной экспрессии клеточных и химических медиаторов [VEGF, TGF- β 1 и маркера клеточной пролиферации (Ki-67)] вероятного повреждения ткани и развития ГЭ на фоне избыточной воспалительной реакции, формирования пролиферативного типа эндометрия [94]. В других исследованиях причиной нарушения рецептивности и развития ГЭ на фоне ХЭ полагают изменение локальной экспрессии генов и возрастание инсулиноподобного фактора роста, связывающего белок 1 (IGFBP1), регуляторов апоптоза (BCL2 и BAX), подавление – интерлейкина-11 (IL-11), IGF1 и каспазы-8 (CASP8)) [110]. Единичны данные о механизмах повышения пролиферативной активности эндометрия при хламидийной инфекции: активация антиапоптотических белков BCL2 и подавление проапоптотических ВНЗ-доменов приводит к угнетению активности фермента каспазы-8 [137]. Нарушения рецептивности в исходе хронического воспаления могут выражаться в виде регенераторно–пластической недостаточности [8, 17], однако молекулярные критерии восстановления способности «тонкого» эндометрия к имплантации практически не представлены [17, 43, 63, 83, 98]. Данные об этиологической связи ХЭ с эндометриозом [146, 223, 343] фрагментарны и не раскрывают спектр морфологических и молекулярных «поломок» эндометрия, проявлений дисбаланса процессов пролиферации и апоптоза, выраженности оксидативного стресса.

1.4 Роль молекулярных маркеров нарушения паракринной регуляции имплантации

Риск ПНИ ассоциируется с нарушением морфологии и количества выявляемых при СЭМ пиноподий, гормонозависимых субклеточных структур

эпителия эндометрия на месте микроворсинок [1, 132]. Прогностическую ценность пиноподий как маркеров восприимчивости эндометрия определяет тип развития [развивающиеся, развитые (зрелые) и регрессирующие, с длительностью каждой фазы примерно 24 часа] [306], занимаемая площадь [градиация: избыточные (более 50%) [10], умеренные (20–50%) и не выраженные (менее 20%)] и молекулярная архитектура [132]. Другие авторы функцию пиноподий полагают значимой в связи с экспрессией на поверхности маркера LIF, который способствует инвазии бластоцисты [253]. Сообщается о количественной зависимости между типом пиноподий и экспрессией NOXA10 [319]. Эффективность оценки пиноподий, параметры которых у женщин с ПНИ и фертильных варьировали [306, 308], подтверждают данные о нарушении рецептивности эндометрия в группах с ХЭ и ГЭ, преобладании развивающихся пиноподий, мозаицизма размеров, формы и стадии развития [48, 60]. Напротив, в другом исследовании различия морфологии пиноподий, экспрессии LIF и интегрина- $\beta 3$ у женщин с ПНБ и здоровых отрицаются [307]. Комплексное исследование маркеров рецептивности или внедрение стандартизированного автоматического метода количественного определения пиноподий предлагается как альтернатива субъективизму визуальной оценки ультраструктур эндометрия [107].

1.4.1 Роль генов гомеобокса

Интерес к исследованию механизмов влияния Homeobox-генов NOXA10 и NOXA11, экспрессируемых в различных сегментах матки, обусловлен модерацией ими нижестоящих генов–мишеней [165], среди которых участвующие в регуляции рецептивности эндометрия (молекулы клеточной адгезии, факторы сигнальной трансдукции и медиаторы метаболизма) [322].

Влияние на фертильность гомеобокс-генов NOXA 10,11 и кодируемых ими белков при некоторых гинекологических заболеваниях доказано [181, 228], однако отсутствуют данные об их вовлеченности в сигнальные пути эндометрия при повторных неудачах ЭКО. Аномальная экспрессия NOX-генов выявлена при

эндометриозе, миоме матки и ПЭ [228], невынашивании [227] и бесплодии [332]. Снижение экспрессии HOXA10 в эндометрии после удаления гидросальпинкса связывают с нарушением процесса децидуализации за счет блокады клеточного цикла [332].

Другими авторами показана гиперэкспрессия HOXA10, HOXA9, HOXA11 и HOXD10 в эндометрии в среднюю стадию фазы секреции [4, 332]. Роль HOXA10 связывают с пролиферацией клеток стромы, инициацией секреторной трансформации [158]. Данные о типах экспрессии белка HOXA10 при аденомиозе переменны: сообщается о развитии резистентности к прогестерону и бесплодия как результатов гиперметилирования генов гомеобокса [4] и, напротив, корреляции снижения HOXA10 и aberrантной рецептивности эндометрия с возрастанием экспрессии микро-рибонуклеиновой кислоты (РНК) 135b в секреторную фазу МЦ [283]. Аналогичная тенденция представлена в других источниках [360]. Исследование статуса метилирования HOXA при гинекологических заболеваниях рассматривают как возможность разработки стратегий преодоления неудач имплантации [322].

1.4.2 Роль витамина D и его эндометриального рецептора VDR

Влияние активной формы 25-гидроксивитамина D3 [1,25(OH)₂D₃] на фертильность и результаты ВРТ объясняется способностью к стимуляции продукции эстрадиола, эстрогена и прогестерона, контролю активности ферментов [388] через два пути: геномный, реализуемый через несколько часов, опосредованный синтезом РНК и белков, и негеномный [394]. В последние десятилетия стали очевидны многие функции витамина D, включая регуляцию генов, дифференцировку и пролиферацию модуляторов иммунной системы, экспрессию интерлейкинов и антимикробных реакций [258, 392, 393]. Имеются данные об участии 25(OH)D в реакциях врожденного и приобретенного иммунного ответа, ингибирующем эффекте на факторы адаптивной иммунной системы [404] путем модуляции генов-мишеней регуляции имплантации. Способность к

регуляции в присутствии адекватного уровня витамина D иммунного гомеостаза при репродуктивно значимых инфекциях связывают с контролем воспалительных реакций [395], однако данные о взаимосвязи сигнальных медиаторов разобщены и противоречивы [311, 388, 390, 391]. Дискутабельность результатов исследований репродуктивного потенциала «D–гормона» обусловлена различием выборок, дизайна и форм бесплодия. Представлены данные о большей ЧНБ при адекватном его содержании [389]. Преобладание лишь тенденции к низкому сывороточному уровню витамина D выявлено в популяции китайок с низкой частотой оплодотворения в отличие от ЧНБ и живорождения в программах ЭКО [169], в других исследованиях также не подтверждена взаимосвязь показателей с исходами беременности [226]. Молекулярные механизмы реализации эффектов витамина D в нормальном и измененном эндометрии малоизучены и не систематизированы [135, 390, 393]. Обсуждается роль витамина D не только как гормонального мессенджера, но и кофактора рецептивности эндометрия через локальную иммунную активность [334, 393]. При связывании кальцитриола $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ с VDR в цитоплазме эпителиоцитов желез эндометрия происходит активация генов–мишеней посредством транскрипции, с изменением функции и дифференцировки иммунных клеток, включая макрофаги, В–клетки, дендритные клетки (ДК) и Т–клетки [207, 390]. Дискуссионность представлений о прогностической роли VDR при оценке рецептивности эндометрия обусловлена сообщениями как о гиперэкспрессии маркера у женщин с бесплодием без заболеваний органов малого таза в секреторную фазу МЦ по сравнению с пролиферативной [3], так и снижении количества VDR–презентирующих клеток [135]. Способность $25(\text{OH})\text{D}$ к стимуляции продукции противомикробных пептидов и антипролиферативным эффектам, регуляции ангиогенеза [13, 14] позволяет предположить значимую роль несостоятельности интерфейса «VDR–витамин D» в генезе неудач имплантации. Перспективность исследований экспрессии $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на границе плода и матери объясняют влиянием на регуляцию продукции фермента, катализирующего синтез гидроксивитамина D в кальцитриол в почках CYP27B1, и IL–10, интерферона–

гамма (IFN- γ), TNF- α и интерлейкина-2 (IL-2) в тканях хориона и децидуальной оболочки [400].

1.5 Иммунологические аспекты нарушений имплантации

Прогресс в понимании механизмов взаимодействия эндометрия и иммунологически отличного эмбриона показал обусловленность циклической пролиферации, дифференцировки и деструкции иммунных клеток циркулирующими половыми гормонами [96, 261]. Выявлено наличие у большинства иммунных клеток ядерных рецепторов для эстрадиола [196] и прогестерона [205]. Способность прогестерона к индукции воспалительных реакций, активации иммунных клеток и продукции цитокинов, являющихся медиаторами иммунных ответов [318], раскрывает сложное взаимодействие между метаболическим профилем и локальным иммунитетом [296], патогенетические аспекты которого при неудачах имплантации противоречивы и малоизучены [259, 285, 295, 371].

В системе врожденного иммунитета натуральные киллеры (NK) и антигенпрезентирующие клетки (включая макрофаги и ДК), составляющие 70% от общего числа иммунных клеток, регулируют инвазию трофобласта, ангиогенез, создание толерантной иммунологической среды [283, 364]. Эмбрионально-материнская коммуникация опосредована сбалансированным действием более 200 молекул цитокинов: IL, семейство TNF- α , IFN- γ , колониестимулирующие факторы (CSF), трансформирующие ростовые факторы и хемокины [237, 329].

Выделяют иммунные пулы с подмножеством Т-хелперов (Th1-клеточного иммунного ответа), Т-супрессоров (Th2-гуморального иммунного ответа), Th17-хелперов, регуляторных кластеров дифференцировки CD4⁺ и цитотоксических CD8⁺ [182, 236]. Провоспалительный Th1-иммунный ответ необходим для ремоделирования ткани и ангиогенеза, противостояния цитотоксичности, активности внутриклеточных патогенов [371, 401]. Клетки Th2-типа секретируют факторы, участвующие в регуляции гуморального иммунитета и устойчивости к

внеклеточным патогенам [285]. Дисрегуляцию эндометриальных/децидуальных иммунных клеток рассматривают как причину необъяснимого бесплодия, невынашивания беременности [105, 372]. Более 80% ПНИ происходит на фоне аномального профиля цитокинов, однако сложные молекулярно–биологические события при нарушении взаимодействий бластоцисты и эндометрия малоизучены [181, 371, 401].

Спорные представления об особенностях иммунного профиля эндометрия при ХЭ обусловлены сочетанием с другими гинекологическими заболеваниями, полиморфностью патоморфологической картины [89, 100, 114, 149, 219, 243]. Сообщается о повышенной продукции провоспалительных цитокинов IL–2, IFN– γ , TNF– α и цитокинов, участвующих в пролиферации и дифференцировке β –клеток (IL–4, IL–6) [192, 255], при ПНИ также было выявлено снижение уровня IFN– γ , IL–10 и LIF [371]. При ХЭ показана индукция липополисахаридом (ЛПС) экспрессии хемокинов CXCL13 в эндотелии микрососудов и CXCL1 в клетках эндометрия *in vitro* [263]. Есть мнение о невозможности прогнозирования ХЭ на основании маркеров системного воспаления и аутоиммунитета [339]. Эмбриотоксические свойства жидкости при гидросальпинксе, обусловленные микроорганизмами, эндотоксинами, цитокинами, маркерами оксидативного стресса, полагают причиной нарушения рецептивности эндометрия [150, 172, 332]. Целый пласт исследований молекулярно–биологических характеристик эндометрия при эндометриоз–ассоциированном бесплодии определил базовые звенья патогенеза: нарушения иммунитета и ангиогенеза [61, 69, 72, 99, 146, 178, 245, 264], однако спорным и недоказанным остается вопрос иммунной дисфункции как инициального звена или следствия заболевания [245]. Сообщается об особенностях «макрополипоидного» эндометрия – низкой плотности лейкоцитов, Т–клеток и NK, тогда как микрополипоидный характеризовался высокой плотностью В–клеток и плазмочитов и низкой – NK. Презентация микрополипов как проявления ХЭ включает инфильтраты из лейкоцитов (CD45+), макрофагов (CD68+), плазмочитов (CD138+) и маркера естественных маточных киллеров (CD56+), активность которых приводит к избыточной патологической

пролиферации эндометрия [272]. Возрастание провоспалительных цитокинов и дисбаланс популяций иммунных клеток [67, 68, 72, 109, 110] связывают с нарушением функции эндометрия: секреции гликоделина, экспрессии пиноподий, рецептивности, приводящих к снижению восприимчивости к имплантации [367]. Обратная корреляционная связь гиперэкспрессии клеток CD8+, маркера В-лимфоцитов CD20+ с продукцией ER, PR в строме эндометрия в исследовании Толибовой Г.Х. (2018) [82] подтверждает нарушение подавления при эндометриальной дисфункции необходимой для инвазии бластоцисты цитолитической активности CD8+ (норма – до 10 клеток в поле зрения). Показана взаимосвязь дисбаланса CD4+ Т-клеток с рецидивами ПЭ [129], риском неудач имплантации при возрастании индекса CD4+/CD8+ [177].

Производство активных форм кислорода (АФК) и оксидативный стресс являются ключевыми механизмами повреждения эндометрия [20, 118, 340], однако исследований про– и антиоксидантной активности при повторных неудачах ЭКО практически не представлено.

1.5.1 Маркеры нарушений иммунного микроокружения эндометрия

TGF- β 1, многофункциональный цитокин, роль которого в имплантации эмбриона связывают с усилением пролиферации стромального компонента эндометрия и адгезии клеток трофобласта [41, 368]. После имплантации эмбриона противовоспалительные цитокины IL-10 и TGF- β 1 играют ключевую роль в регуляции толерогенных ДК в децидуальной оболочке, уменьшении воспалительного ответа и стимуляции роста регуляторных Treg-клеток [292]. Избыток TGF- β 1 связывают с неспособностью к восстановлению пролиферативной активности, подавлению дифференцировки Т-клеток в пулы – Th17 и Treg [271]. В других источниках у женщин с ПНИ выявлено снижение TGF- β 1, однако молекулярный механизм влияния факторов на рецептивность эндометрия остается неясным [159].

TNF- α представляет ведущий цитокин острофазовой реакции, секретируемый макрофагами, моноцитами, нейтрофилами, Т-клетками и NK [328], с доказанным участием в процессах пролиферации, дифференцировки и гибели клеток, усиления секреции воспалительных цитокинов и хемокинов, способности к миграции и инвазии трофобласта [375]. Аномально повышенные уровни TNF- α в менструальных выделениях женщин с ХЭ могут привести к неудаче имплантации и выкидышу [255]. TNF- α может быть стимулирован GM-CSF [249].

IL-10 является важным плейотропным иммунорегуляторным цитокином [212, 351], в сочетании с TGF- β 1 способствует дифференцировке ДК в толерогенный фенотип, который регулирует экспансию популяции Treg-клеток.

GM-CSF продуцируется несколькими типами клеток (активированные Т-клетки, В-клетки, макрофаги, моноциты, тучные клетки, эндотелиальные клетки сосудов и фибробласты) [214, 399]. Выявлена роль GM-CSF в воспалительном иммунном ответе и аутоиммунитете посредством влияния на презентацию антигена, фагоцитоз, хемотаксис и клеточную адгезию [251, 396]. Усиление адаптивного иммунитета реализуется путем рекрутирования ДК, которые могут быть воспалительными, либо толерогенными в зависимости от дозы, микроокружения и присутствия других цитокинов [367]. Блокада GM-CSF преобразует провоспалительный профиль в моноцитах, характеризующийся усилением маркера активированных лимфоцитов Human Leukocyte Antigen DR (HLA-DR) и мембранного белка суперсемейства иммуноглобулинов, экспрессированного на антиген-представляющих клетках CD86+, и продукцией TNF- α и IL-1 β , – в иммуномодулирующий – IL-10 и CXCL-11 и подавлением пролиферации Т-клеток [200, 380].

Хемокины представляют семейство цитокинов, функцией которых является направленная стимуляция адгезии иммунных клеток и миграция в инфицированную или воспаленную ткань для инициации эффективных ответов [136, 157, 179]. Известно их участие в регуляции инвазии трофобласта, плацентарного ангиогенеза, рекрутирования иммунных клеток для эмбриогенеза [363]. CXCL13 продуцируется, в основном, клетками-организаторами

мезенхимальной лимфоидной ткани, ДК и Т-хелперами. Аберрантная активация сигнальных путей хемокинов вовлечена в развитие аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний [154, 330]. Воспалительные цитокины TNF- α и INF- γ индуцируют транскрипцию ряда хемокинов [157]. Лиганд 13 CXС, регулятор иммунитета слизистой оболочки, секретируется эпителием эндометрия и может участвовать в имплантации эмбриона. Однако циклическая экспрессия маркера в эндометрии человека изучена недостаточно. Показано, что стимуляция прогестерона и 17 β -эстрадиола способна усиливать высвобождение хемокинов, что может влиять на миграцию и агрегацию периферических uNK-клеток [238]. CXCL16, трансмембранный хемокин, участвует в межклеточной адгезии и индукции клеточной пролиферации посредством регуляции через сигнальный путь нуклеарного фактора-каппа В (NF- κ B) [131]. Возрастание активности оси CXCL16/CXCR6, модулируемой TNF- α , рассматривают как причину миграции и инвазии эктопических стромальных клеток эндометрия [302].

Перспективен анализ эффектов NRF2, регулирующего клеточную защиту от токсических и окислительных воздействий посредством экспрессии стресс-индуцируемых генов [213, 376]. Активация NRF2 снижает продукцию IFN- γ , увеличивает – IL-4, IL-5 и IL-13 в CD4⁺ Т-клетках в сторону дифференцировки Th2 [293]. Механизмы регуляции взаимодействия NRF2 с NF- κ B четко не определены [376], в эндометрии женщин с ПНИ практически не представлены. Малоизучен механизм Treg-независимого влияния активации NRF2 на аутоиммунное воспаление [338].

1.6 Роль нарушений микробиоты эндометрия в генезе повторных неудач имплантации

Роль инфекционного триггера как ведущего и/или придающего модальность другим обсуждается в качестве возможной причины необъяснимого бесплодия, морфофункциональных преобразований эндометрия [9, 12, 32, 44, 45, 51, 52, 56, 291]. Влияние микроэкологии различных отделов репродуктивного тракта

дискутируется не только с позиций конкордантности [11, 357], но и снижения способности к восприимчивости в период «окна имплантации» при бактериальном вагинозе (БВ), нарушении цервикагинальной микробиоты, эндометрите, ВЗОМТ [40, 76, 320]. Наибольшие дискуссии разворачиваются в отношении репродуктивных неудач при БВ: в одних источниках показана взаимосвязь с дисбиозом [353], развитием трубного бесплодия [104], других – риск считают относительным [337]. Толибовой Г.Х. (2018) при исследовании микробиоты влагалища, цервикального канала и эндометрия пациенток с первичным и вторичным бесплодием вне зависимости от нозологии показана ассоциативность условно-патогенных микроорганизмов (*Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Eubacterium* spp.) с вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска (ВПЧ ВР) [82].

Малоизучены эффекты влияния на имплантационный потенциал эндометрия БВ-ассоциированных бактерий, варьирующие, по сообщениям, от способности токсичных метаболитов вызывать иммунный дисбаланс, реакцию воспаления, восприимчивость к инфекциям, передаваемым половым путем (ИППП), и ВЗОМТ до репродуктивных потерь [5, 254, 320]. Единого мнения о влиянии микробиоты нижних отделов генитального тракта на характеристики эндометрия не представлено [341, 353]: в норме выявлена приближенность биотопов матки и влагалища по качественному составу [280], с меньшей (в 10^2 – 10^4 раз) бактериальной нагрузкой в эндометрии. Качественные различия микрофлоры полости матки и цервикального канала у 87,9% женщин не исключают возможность индивидуального микробного профиля эндометрия [49]. Отличия микробных сообществ эндоцервикса, маточных труб и перитонеальной жидкости от вагинального [337] позволяют предполагать риск восходящего инфицирования при сходстве биотопов шейки матки и влагалища [149, 234, 287]. Представлены утверждения о характерной при ХЭ микробиоте влагалища и эндометрия [51, 93, 133]. Тесную корреляцию микробных профилей подтверждает идентификация бактериальной 16S рибосомной РНК в 95,0% проб образцов влагалища, резецированной шейки матки, матки, маточных труб и яичников [284].

Представления о сложности и многоуровневости молекулярно–биологических взаимодействий в процессе имплантации возросли с внедрением технологии секвенирования генов, определением микробиоты матки, различной в норме и при гинекологических заболеваниях [49, 50, 184, 186, 288]. Единое мнение о микробном составе ядра матки фертильных и бесплодных женщин не сформировано [104]. Сообщениям о представленности лактобактерий в полости матки после органоуносящих операций в 60,0% [163] противоположны данные о лактобациллярном (>90% штаммов) и нелактобациллярном (<90% лактобактерий, >10% других бактерий) типе микробиоты [202, 225]. Данные о молекулярно–биологических условиях, определяющих способность бактерий к колонизации эндометрия и/или комменсальным/патогенным отношениям, малоизучены и не систематизированы.

Результаты оценки влияния микробного сообщества матки на эффективность реализации репродуктивного потенциала противоречивы ввиду малых выборок и различных методов оценки (разнообразие типов *Lactobacillus*, их соотношение с условно–патогенными микроорганизмами, наличие облигатных патогенов) [51]. Данные о взаимосвязи *Lactobacillus* spp. ($\geq 90\%$ или $\geq 80\%$) с увеличением вероятности имплантации, клинической беременности [103] подтверждают перспективность исследований микробиома матки для прогнозирования исходов лечения бесплодия/программ ЭКО [185, 346]. Присутствие других штаммов (*Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Prevotella*, *E. coli*, *K. pneumoniae* и т. д.) при меньшем содержании (<90%) *Lactobacillus* spp. связывают со снижением ЧНБ [202]. Имеются противоположные данные об отсутствии корреляции между репродуктивными исходами при эубиотическом и дисбиотическом типах микробиоты эндометрия. Сопоставимость удельного веса лактобактерий показана у фертильных женщин и с многократными неудачами ВРТ (соответственно 33,3% и 29,4%) [49].

Немногочисленны и противоречивы результаты исследований микробиоты при заболеваниях эндометрия, включая ПЭ, ГЭ, НГЭ [280]. Представлены данные о росте ПЭ на фоне повышенного удельного веса *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*,

Streptococcus и *Alteromonas* при дефиците *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Enterobacter* [123]. Дискутируется инициирующий фактор ХЭ: наряду с утверждением ведущей роли качественных и количественных изменений микробиома, преобладания энтерококков, стрептококков, стафилококков, *Mycoplasma spp*, *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae* [35, 314, 316] появился термин «нарушенного воспалительного состояния», раскрывающий возможности дисметаболического воспаления эндометрия [243].

Неоднозначность и противоречивость данных о конкордантности микробиоты нижних отделов генитального тракта и эндометрия [279, 288] сводится к таксономии бактерий (для *Ch. trachomatis* в эндоцервиксе и полости матки 100%) [309]. Изменение этиологической структуры ХЭ связывают с вирусной и смешанной флорой [(ВПЧ), цитомегаловирусом (ЦМВ), вирусом простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ1,2), энтеровирусом (28,9%)], резистентными штаммами [25, 31, 44, 222, 344]. Выявление в менструальной крови женщин с эндометриозом *E. coli* стало основанием для формулировки «гипотезы бактериального загрязнения» [121], однако роль воспаления, связанного с ХЭ, в генезе заболевания малоизучена.

1.6.1 Микробы и иммунные механизмы регуляции имплантации

Существование разнообразной и метаболически активной микробиоты эндометрия предсказывает важную физиологически модулирующую роль функции ее ткани–хозяина, однако представления о механизмах негативного влияния нарушения микробной экосистемы на процесс имплантации противоречивы и разрозненны [320, 348, 353]. Способность инфектов выступать в качестве источника антигенного раздражения, механизма долговременной реакции воспаления опосредуется недостаточностью факторов местной защиты [141, 148]. Сложные взаимодействия врожденной и адаптивной иммунной системы хозяина с микроорганизмами и метаболитами малоизучены [385], как и влияние иммунных характеристик на микробный статус и возможные сигнальные пути при заболеваниях эндометрия [122, 260].

Влияние состава и колебаний иммунокомпетентных клеток эндометрия на регулируемое взаимодействие системы «гормон–рецептор» объясняет гетерогенность данных о нарушении активности молекулярных медиаторов локального иммунного профиля в период «окна имплантации» при бесплодии и неудачах имплантации [329]. Активация Toll-like receptor (TLR) после проникновения возбудителя и других эндогенных факторов запускает каскад реакций, инициирующих в ядре транскрипцию генов провоспалительных цитокинов, интерферона и антимикробных пептидов [31,54, 62, 68]. Иммунный ответ может быть чрезмерным или ослабленным и способствовать излечению со значительным повреждением ткани или хронизации болезни [93]. Накоплены данные о способности вирусов к модуляции aberrантной экспрессии рецепторов, дисфункции клеток местного иммунитета и развития воспаления, в том числе, в слизистых органов малого таза [222]. Изменение рецептивности допускается при нарушении баланса между микробными агентами, их метаболитами и иммунокомпетентными клетками, однако структурно–функциональные особенности эндометрия и его иммунного профиля при персистенции инфектов малоизучены и дискутабельны [184, 235, 354]. Снижение удельного веса предполагаемо «полезных» микроорганизмов Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria и Actinobacteria связывают с нарушением модуляции децидуализации и имплантации, активацией сигнальных провоспалительных путей [235]. Имеются данные об индукции *N. gonorrhoeae* провоспалительных медиаторов и ультраструктурных изменений эндометрия [231], ассоциации CXCL13, с большим количеством родов бактерий [210].

1.6 Дискуссионные аспекты этиологии и диагностики заболеваний/нарушений состояния эндометрия

Сложности клинической диагностики заболеваний эндометрия, особенно ХЭ, обусловлены неспецифичностью симптоматики [68, 140], пред- и постменструальными мажущими выделениями (40,6%), тянущими болями в

животе (17,0%) [93], аномальными маточными кровотечениями (55,9%) [51]. Неоднородность проявлений и последствий внутриматочных синехий (нарушения менструального цикла, тазовые боли, бесплодие, привычный выкидыш) обусловлены причиной развития (инфекции, врожденные аномалии матки, прочие факторы) [333].

Спорные аспекты реальной возможности выявления сонографических маркеров нарушений состояния эндометрия обусловлены отсутствием четких критериев типов хронического воспаления, неоднозначностью данных о прогностической ценности М-эхо в период «окна имплантации», особенностях маточной перфузии [57, 81, 403]. Неадекватную васкуляризацию матки и продукцию факторов ангиогенеза полагают причиной репродуктивных потерь вследствие негативного влияния на толщину и рецептивность эндометрия [305]. Исследования гемодинамики в сосудах матки при оценке имплантационной состоятельности эндометрия считают более информативными при валидации комбинации ультразвуковых критериев (структура, толщина, объем) и доплерометрии с учетом наилучших сроков мониторинга [7, 17, 19]. В одной из работ [176] в группах с наступлением и отсутствием беременности выявлены различия параметров субэндометриального кровотока (индекс кровотока, FI) и маточной артерии (индекс резистентности, IR), в другой – на снижение перфузии матки указывало большее количество параметров [43, 81]. Мнение о минимальной для наступления беременности толщине эндометрия неоднозначно [98, 218], вероятно, ввиду измерений в различные сроки. Большинство исследователей считают «тонким» эндометрий толщиной менее 7 мм [43, 63, 193], Краснопольская К.В. и соавт. (2019) – менее 8 мм к моменту завершения фолликулярной фазы [39]. Прогностическую ценность толщины эндометрия как критерия решения об отмене цикла/криоконсервации или отказе от лечения методом ЭКО оспаривают данные мета-анализа 22 исследований [193]. Аргументом полагают недооценку факторов, влияющих на развитие «тонкого» эндометрия, отсутствие данных о структуре и/или субэндометриальном кровотоке, однократное сонографическое исследование [250].

Информативность гистероскопии как инструмента первой линии в диагностике ХЭ полагают оправданной только при последующем гистологическом исследовании образцов [246], отмечая трудности воспроизведения реальной картины на фоне методологических дефектов [141, 144]. Диагноз ХЭ основан на выявлении микрополипов, отека стромы, очаговой гиперемии или геморрагических петехий [243], однако точность гистероскопии как альтернативы патоморфологическому стандарту полагают недостаточной: в 202 случаях ПНИ частота ХЭ при гистероскопии составила 66,3%, гистологическом исследовании – 43,6% [233]. Вариабельность чувствительности и специфичности (соответственно 40,0% и 80,0%; соответственно 60,0% и 70,0%) [152] гистероскопии объясняют диагностическими навыками морфологов и гинекологов [141, 379]. Частота верификации ХЭ при гистероскопии, патоморфологическом и микробиологическом исследовании составила соответственно 66,0%, 57,5% и 45,0% [314], гистероскопии и ИГХ исследовании – соответственно 36,8% и 31,6% при ПНБ [198]. Высокая точность гистероскопии показана при диагностике ПЭ у женщин с бесплодием [209] (уровень В): все образования были выявлены, гистологически не подтверждены только в 20 образцах (чувствительность 100,0%, специфичность – 96,8%) [161]. Сообщения о связи микрополипов с эндометритом и бесплодием [187] подтверждают ценность как гистероскопии, так и патоморфологического исследования [379]. Частота выявления микрополипов при гистероскопии, согласно данным, варьирует от 2,1–11,0% [152, 187], достигая у женщин с бесплодием, ПНИ, ХЭ – 50–67,0% [272, 313].

Противоречивость патоморфологических изменений эндометрия на фоне воспаления влияет на выбор тактики лечения и, соответственно, риск неудач имплантации [171, 314, 316, 317]. «Золотой стандарт» диагностики ХЭ основан на патоморфологической идентификации в строме эндометрия плазматических клеток [219], маркером которых является экспрессия CD138+ [97]. Имеются утверждения о субъективности патоморфологического диагноза в прогнозировании репродуктивных исходов [153], неопределенности представлений о «лучшей» стратегии биопсии эндометрия [403], как и нецелесообразности рутинной биопсии

эндометрия у женщин с бесплодием в отсутствие патологии при гистероскопии [161]. Сложности верификации ХЭ связывают с потенциальным влиянием множества лабораторных факторов: типы первичных антител, условия для систем детекции, толщина, площадь и количество полей и/или срезов эндометрия, дискуссии относительно количества экспрессируемых CD138+ клеток [97, 219, 403]. Дифференциальную диагностику заболеваний эндометрия затрудняет разное соотношение в биоптате железистого и стромального компонента [191], недооценка структуры маточных желез [384]. Среди патоморфологических критериев ХЭ (лимфоцитарная инфильтрация, присутствие плазматических клеток, фиброз стромы, склеротические изменения в спиральных артериях, очаговая гиперплазия базального слоя, деформация желез) [93, 145] допускают наличие очаговых, диффузных или групповых образований, микрополипов размером 1–2 мм [145, 187, 272, 403], исчезающих после разрешения воспаления [153] или лимфоидных скоплений в функциональном слое эндометрия. Представлены клинико–патоморфологические формы ХЭ, изменяющие микроокружение эндометрия вплоть до нарушения имплантации: полипоидный и лимфофолликулярный [88]. В соответствии с аутоиммунной теорией развития ХЭ [387] перспективна оценка маркера HLA–DR, экспрессия которого указывает на степень представления генетически чужеродных антигенов или aberrантно экспрессированных аутоантигенов клетками–эффекторами иммунной системы.

Попытки оценки рецептивности эндометрия с помощью различных методов исследований (n=163) наиболее полно представлены в обширном мета–анализе 2019 г. [151]: эхографических [толщина, трехслойная структура, объем, пульсационный индекс (pulsatility index, PI) маточных артерий, IR в маточных, аркуатных, радиальных, базальных и спиральных артериях), гистероскопии (кольцевой тип расположения желез и наличие хорошо развитых сосудов), морфологических (подсчет количества пиноподий электронной микроскопией (минимум на 60 полях при $\times 2000$ увеличении)], биохимических и/или иммунологических методов исследования [(BCL6, MUC1, α –ингибин, β –гликан, люминальный интегрин $\alpha v \beta 3$, лиганд L–селектина, ароматаза P450, VEGF-A,

экспрессия матриксных металлопротеиназ и E-кадгерина, рецептор hCG–LH, LIF, колониестимулирующий фактор макрофагов, HOXA–10, endometrial receptivity assay (ERA), концентрация hDP 200 (Human decidua–associated protein 200), TNF– α , IL–18]], однако данные разрозненны и противоречивы даже внутри нозологических форм бесплодия [21].

Дискутируется вопрос причинах нарушения восприимчивости эндометрия при ПНИ: дисфункции генов рецептивности или неоптимального выбора времени переноса эмбриона клиницистом [303]. С появлением молекулярного инструмента точного прогноза рецептивности эндометрия ERA стали доступны данные о смещении «имплантационного окна» у 25% пациенток с ПНИ [190], в циклах с овариальной стимуляцией [64]. В работе Tan J. et al. (2018) смещение «окна имплантации» выявлено у 22% пациенток с неудачной имплантацией размороженных эуплоидных эмбрионов в анамнезе, эндометрий определен как пререцептивный в 88,0% [369]. В исследовании Patel J.A. et al. (2019) анализ теста ERA у 248 пациенток с ПНИ неясного генеза показал рецептивный эндометрий в 82,3%, нерецептивный – 17,7% [304].

Таким образом, противоречивость исследований, касающихся оценки рецептивности эндометрия, объясняется недостаточной систематизацией данных, гетерогенностью выборки и дизайна, сочетанием заболеваний органов малого таза, различными диагностическими тест–системами. Ввиду отсутствия универсальных и доступных маркеров рецептивности эндометрия, особенно при его истончении [17], актуально исследование всего спектра причин нарушений приобретения эндометрием «рецептивных» свойств в период ремоделирования, дифференциации клеток стромы в децидуальные.

1.8 Современные методы и перспективы лечения нарушений состояния эндометрия, ассоциированных с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения

При множестве исследований анализа влияния различных методов лечения на частоту имплантации и преодоления неудач ЭКО достаточных доказательств для разработки унифицированных рекомендаций не получено [289].

Дискутируемые аспекты ведения женщин с повторными неудачами ЭКО объясняются отсутствием единого алгоритма и включают удаление патологического субстрата эндометрия под контролем гистероскопии [37]; рассечение синехий методом адгезиолизиса [270], с последующим восстановлением рецепторного аппарата эндометрия [16, 45, 317], иммунных ресурсов и подавлением фибротических процессов [17]. Влияние рутинной полипэктомии на исходы ЭКО оспаривается (уровень В) [209], наряду с предложениями при ПЭ менее 10–20 мм сонографического мониторинга и консервативного лечения [232, 356]. Неясными остаются вопросы реального улучшения результатов программ ВРТ при проксимальной окклюзии маточных труб и после лапароскопической сальпингэктомии [150].

Вопрос целесообразности антибактериальной терапии при ХЭ дискуссионен, данные разобщены и неоднозначны [114, 138, 171, 314]. Обоснование отсутствия ее преимуществ для улучшения исходов беременности [72] диссонирует с аргументом о невозможности определения рутинными методами диагностики у 70,0% женщин микробного триггера заболевания [9]. Благоприятное влияние антибактериальных препаратов при ПЭ отмечают при выявлении плазматических клеток [188]; у женщин с ХЭ, необъяснимым бесплодием и ПНИ [171] связывают с элиминацией возбудителя и нормализацией патоморфологической картины [139], наступлением спонтанной беременности – у 11,0%, 28,3% – после программ ВРТ [50].

Данные о спонтанном наступлении беременности при ХЭ подтверждают необходимость выделения его патогенетических форм и достижения гистологической «нормы» [314] с учетом типа и интенсивности воспаления, обширности процесса фиброзирования [51]. Противоречивость и разрозненность данных об эффективности физиотерапевтических методик (низкочастотная магнитотерапия, интерференционные токи, ток надтоновой частоты, электроимпульсная терапия) [17, 26, 39, 65, 75] объясняется отсутствием четких критериев восстановления эндометрия с позиций ликвидации нарушений микроциркуляции, ишемии, оксидативного стресса и иммунного дисбаланса, асинхронной трансформации, аномальной регенерации и рецептивности [15, 42, 45,

327]. Патогенетическая значимость выбора тактики лечения, включающей физиотерапевтические методики, научно обоснована в концепции патологического структурно–функционального ремоделирования эндометрия Силантьевой Е.С. (2008) [75]. Эффективность кавитированных растворов для восстановления архитектоники измененного эндометрия доказана Мелкозеровой О.А. (2017) [48].

Обсуждается целесообразность при повторных неудачах ЭКО рутинной поддержки лютеиновой фазы МЦ в программах ВРТ [113, 215], эстроген–гестагенной терапии [29, 36, 40, 43]. Контраверсионность результатов и сложности анализа эффективности методик лечения обусловлены выбранными в исследованиях критериями излеченности: от эрадикации патогена, исчезновения гистероскопических и патоморфологических признаков до наступления беременности [19, 171]. Перспективной стратегией ведения женщин с ПНИ и ХЭ считают модулирование экспрессии факторов врожденного иммунитета [44, 54], однако критерии выбора иммулотропных препаратов в составе комплексной терапии ХЭ не унифицированы. Эффективность экзогенной цитокинотерапии при ХЭ вирусного генеза доказывает излечение в 62,8%, переход в неактивную фазу в 37,2%, уменьшение персистенции в эндометрии вируса Эпштейна–Барра (ВЭБ) практически в два раза [54]. Представления о восходящем пути инфицирования эндометрия через шейку матки [149] согласуются с предложением модификации риска при гинекологических манипуляциях путем профилактической санации влагалища [53]. Регулирование состава микробиоты матки предлагается как новая стратегия ведения женщин с бесплодием; назначение пробиотиков *L. rhamnosus* BPL005 для антагонистической колонизации обосновано констатацией негативного влияния дисбиотических состояний на микроокружение [335]. Полагают перспективной разработку алгоритмов коррекции дисбиоза с учетом представлений о составе микробиома эндометрия и путей попадания в полость матки микроорганизмов, разработку персонализированных терапевтических процедур посредством молекулярно–микробиологической оценки [325, 335].

Эффективность инновационных технологий воздействия на «тонкий» эндометрий [175, 268] [внутриматочная инфузия гранулоцитарного

колониестимулирующего фактора (G-CSF) [80, 216, 350], введение аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами (англ. – Platelet Rich Plasma) (PRP)] дискутируется [256]. Противоречивы данные о результатах использования G-CSF: от возрастания по данным рандомизированных контролируемых исследований (РКИ) частоты имплантации (18% против 7,2%) и клинической беременности (37,5% против 14,3%), чем без перфузии, до отсутствия влияния на толщину эндометрия [217, 269]. Последствия внутриматочной инфузии PRP на результативность программ ВРТ [127, 256] связывают с восстановлением поврежденных тканей и продукцией факторов роста, противовоспалительных цитокинов, антимикробных субстанций на основании роста толщины эндометрия и улучшения васкуляризации [115]. Контраверсионными считают показания к суррогатному материнству у женщин с рефрактерным «тонким» эндометрием [98].

Дискутируется способность витамина D и его добавок регулировать продукцию медиаторов эндометрия у женщин с ПНИ или рецидивирующими самопроизвольными выкидышами [404]. Описаны эффекты уменьшения количества Th1-популяций в сыворотке, макрофагов CD68+ [311], NK, возрастания Treg/Th17 по сравнению с контрольной группой, экспрессии в эндометрии VEGF и G-CSF [392]. Обработка 1,25(OH)2D3 ЛПС-активированных клеток стромы эндометрия приводила к снижению экспрессии TNF- α [395]. Другие авторы отрицают различия в составе цитокинов/хемокинов маточной жидкости и ЧНБ у женщин, получавших витамин D и плацебо [383].

Таким образом, не систематизированы, разобщены и противоречивы представления об эффективных методах преодоления повторных неудач ЭКО – от персонализированного подбора протокола стимуляции овуляции до иммуностропных препаратов, метаболической терапии, внутриматочного введения моноклеарных клеток периферической крови, G-CSF, PRP-терапии и физических методов воздействия.

РЕЗЮМЕ

Обобщение представлений о структурно–функциональных нарушениях эндометрия, ассоциированных с повторными неудачами ЭКО, и диагностируемых доступными методами (патоморфологический, ИГХ, СЭМ), показало необходимость систематизации разрозненных и противоречивых данных о/об:

- их истинной частоте в выборках с бесплодием различного генеза (неясного, трубно–перитонеального, на фоне НГЭ, ХЭ и «тонкого» эндометрия); ключевых факторах риска, их сходстве/отличиях при различных нозологических формах бесплодия; информативности методов исследования в диагностике эндометриальной дисфункции и градации ее проявлений;

- патогенетической роли в развитии эндометриальной дисфункции нарушений рецепторного профиля, локального иммуногенеза, биоценоза различных отделов генитального тракта, микробиоты эндометрия, антиоксидантной защиты; молекулярных детерминантах рецептивного и нерцептивного эндометрия; факторах иммунного микроокружения;

- характеристиках иммунного профиля, реакций в зависимости от типа микробиоты и выраженности повреждений эндометрия [по результатам патоморфологических и ИГХ исследований (рецепторного профиля)].

Данные о метаболических и иммунологических предпосылках нарушения формирования адекватного иммунного профиля эндометрия в период «окна имплантации» единичны и разрозненны вплоть до отсутствия референсных диапазонов нормальной и аномальной экспрессии GM–CSF, TNF– α , BCA1, CXCL16, IL–10, NRF2, TGF– β 1 в железистом и стромальном компартментах;

- закономерностях развития различных фенотипах эндометрия, регуляторов патофизиологических процессов, медиаторов воспаления и иммунных ответов, типов микробиоты, вовлеченных в их формирование;

- предикторах развития полипов и микрополипов эндометрия;

- выборе патогенетически обоснованных методов преодоления повторных неудач ЭКО на основании персонализированной оценки рисков с помощью прогностических моделей успешности имплантации.

ГЛАВА 2. ДИЗАЙН И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для достижения цели диссертационной работы в период 2017-2022 гг. выполнено комбинированное (про- и ретроспективное) простое сравнительное контролируемое исследование на клинической базе кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского института (МИ) РУДН (зав. кафедрой – засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, д.м.н., проф. В.Е. Радзинский) ГБУЗ «ГКБ им. В.М. Буянова» ДЗ г. Москвы (гл. врач – к.м.н. А.В. Саликов) и лечебно-диагностического отделения вспомогательных репродуктивных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» МЗ РФ (зав. отделением – д.м.н. И.И. Витязева).

Объектом исследования являлись женщины с повторными неудачами ЭКО и различными формами бесплодия, обратившиеся на базы с целью восстановления фертильности. Разработан дизайн диссертационного исследования (Рисунок 1).

Первый этап исследования (проспективный, включает три блока) предусматривал выявление предикторов морфофункциональных нарушений эндометрия, обуславливающих повторные неудачи ЭКО. ПНИ определяли, согласно клиническим рекомендациям МЗ РФ «Женское бесплодие» (2021) [37], по критериям: три неудачных попытки селективного переноса свежих или размороженных эмбрионов у женщин моложе 35 лет и две – у пациенток 35 лет и старше.

Для соблюдения критериев отбора и формирования групп использованы данные анамнеза, клинико–лабораторных и инструментальных методов предшествующих исследований.

Критерии включения в исследование: репродуктивный возраст (задан в пределах 18-40 лет), повторные неудачи ЭКО на основании документации об исходах программ (отсутствие беременности после переноса эмбриона при оценке содержания хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) или факта клинической беременности при мониторинге ХГЧ и сонографической визуализации плодного яйца на сроке не ранее пятой недели беременности),

нормальный овариальный резерв [уровень антимюллерова гормона (АМГ) – более 2,2 нг/мл], фертильная/субфертильная сперма партнера, хорошее/отличное качество эмбрионов, подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

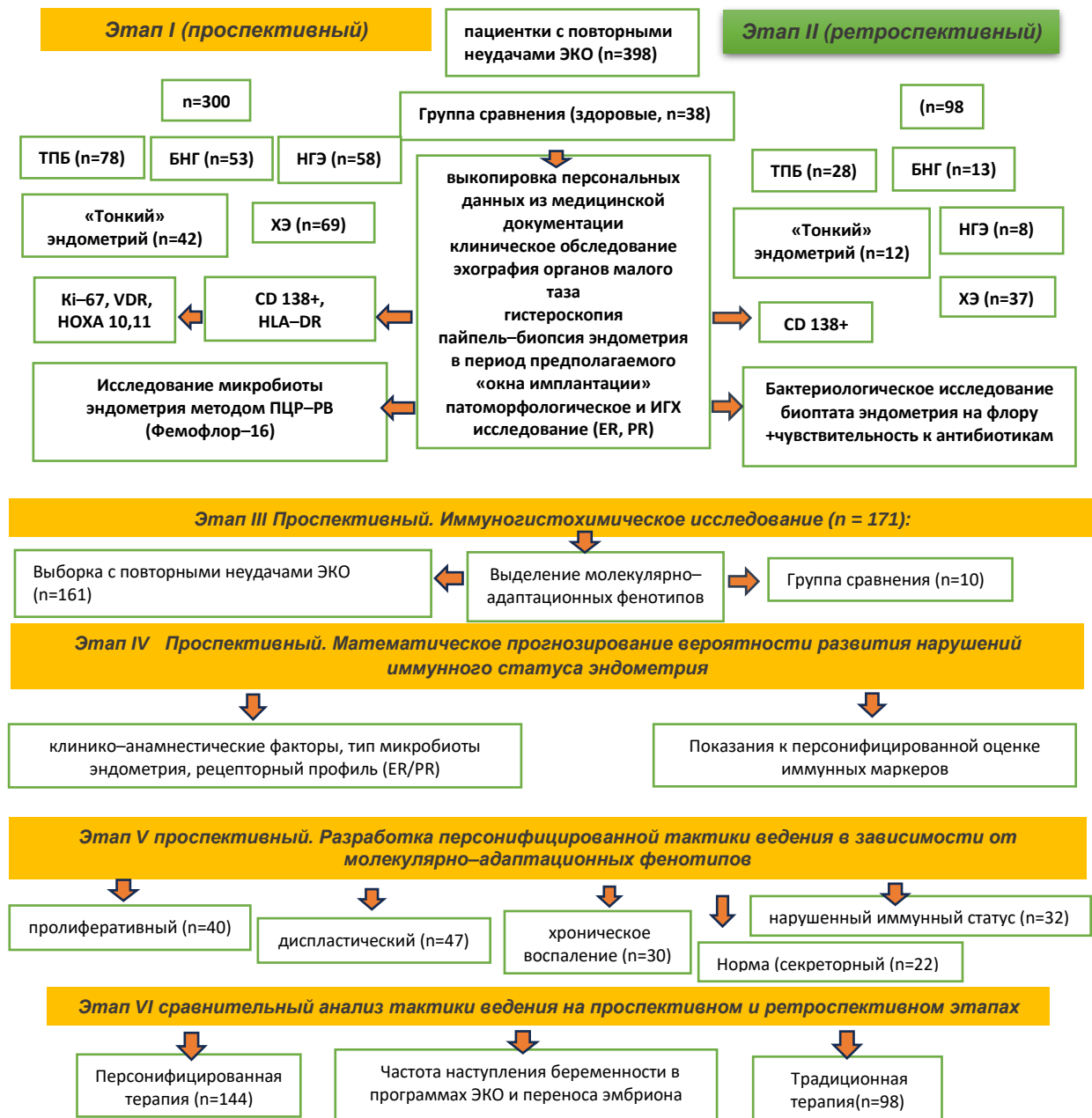


Рисунок 1 – Дизайн диссертационного исследования

Критерии исключения: низкий овариальный резерв (уровень АМГ менее 1,0 нг/мл), бесплодие, связанное с отсутствием овуляции (N97.0), с мужскими факторами (N97.4), цервикального происхождения (N97.3), женское бесплодие маточного происхождения, обусловленное врожденными аномалиями матки

(N97.2), другие патоморфологические формы НГЭ (III-IV стадия, эндометриоз маточных труб), прием менее чем за три месяца до текущего обследования антибактериальных, гормональных, иммуномодулирующих препаратов, наличие противопоказаний к реализации программ ВРТ [приложение №2 к приказам №107н от 30.08.2012 г. (действие до января 2021 г.) и №803н от 31.07.2020 г. «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению»], неполные циклы ВРТ по разным причинам.

Контингент на проспективном этапе составили 300 пациенток с повторными неудачами ЭКО, распределенные по группам:

1. БНГ (N97.9): отсутствие при комплексном исследовании органов малого таза гинекологических заболеваний (n=53);
2. ТПБ (N97.1): непроходимость одной/обеих маточных труб по заключению гистеросальпингографии, хромотубации при регулярном овуляторном менструальном цикле (МЦ), перитубарный спаечный процесс (n=78);
3. НГЭ (I-II стадия): лапароскопическая коагуляция эндометриoidных гетеротопий с интраоперационной градацией (n=58);
4. «Тонкий» эндометрий без хронического эндометрита: М-эхо в периовуляторную фазу МЦ менее 7 мм в трех циклах подряд (n=42);
5. ХЭ: морфологическая и ИГХ верификация (CD138+) (n=69).

Группу сравнения (морфологический контроль) составили 38 здоровых женщин с реализованной репродуктивной функцией, без нарушений фертильности.

Первый блок проспективного этапа исследования включал выкопировку данных из первичной медицинской документации пациенток с целью поиска клинико-anamnestических факторов риска повторных неудач ЭКО.

Второй блок – выявленные при комплексном обследовании женщин особенности эндометрия (сонография, гистероскопия, патоморфологическое исследование биоптатов) стратифицировали по типам (пролиферативный, диспластический, ассоциированный с хроническим воспалением, нормальный). У всех женщин был выполнен анализ биоптопов генитального тракта, оценено

соотношение типа микробиоты эндометрия с патоморфологическими характеристиками в период предполагаемого «окна имплантации».

Третий блок предусматривал анализ рецепторного профиля эндометрия и ИГХ экспрессии ER и PR, HOXA 10,11 и VDR.

Второй этап исследования (ретроспективный) включал анализ архивных данных и заключений лабораторно-инструментальных исследований 98 женщин для выявления клинико-анамнестических факторов риска повторных неудач ЭКО и способов их преодоления.

Третий этап исследования включал ИГХ оценку экспрессии иммунных маркеров в эндометрии женщин (всего – $n=171$) с повторными неудачами ЭКО ($n=161$) и фертильных ($n=10$, группа сравнения). Для выявления патогенетических механизмов нарушения имплантационной состоятельности эндометрия выделены молекулярно-адаптационные фенотипы: пролиферативный ($n=40$), диспластический ($n=47$), нарушенного иммунного статуса ($n=32$), хронического воспаления ($n=30$), нормальный (секреторный) ($n=22$) и предикторы их развития (данные анамнеза, лабораторных и инструментальных методов). С целью выяснения патогенетического концепта фенотипов эндометрия выполнен корреляционный анализ взаимосвязи между изученными молекулярными маркерами.

На четвертом этапе исследования массив математически рассчитанных в ходе статистического анализа признаков [данные анамнеза, лабораторных и ИГХ исследований (рецептивный профиль, кофакторы рецептивности, иммунный профиль)] использовали для разработки моделей прогноза развития нарушений иммунного профиля эндометрия (молекулярно-адаптационных фенотипов).

Пятый этап подразумевал разработку персонафицированной тактики ведения женщин с повторными неудачами ЭКО в зависимости от молекулярно-адаптационных фенотипов эндометрия.

Шестой этап исследования включал сравнительный анализ результативности традиционной (ретроспективный этап, $n=98$) и персонафицированной терапии (проспективный этап, $n=149$).

Наступление беременности констатировали после переноса свежих/размороженных эмбрионов: на основании уровня ХГЧ в периферической крови через две недели, выявления плодного яйца по результатам ультразвукового исследования (УЗИ) органов малого таза через 21 день (подтверждение клинической беременности).

2.1 Методы исследования

Обследование женщин с повторными неудачами ЭКО проводили в соответствии с приказом Минздрава РФ от 30.08.2012 № 107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению (легитимен до января 2021 г.) и № 803н от 31.07.2020 г». Настоящее исследование выполнено в соответствии с международными этическими нормами и с соблюдением этических норм Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (пересмотр 59-й Генеральной ассамблеи WMA, Сеул, Южная Корея, 2008 г.). У всех пациенток получено предварительное информированное согласие на участие в исследовании, сбор образцов крови и эндометрия. Обработка персональных данных выполнена в соответствии с Федеральным законом от 27.07.2006 № 152–ФЗ (ред. от 31.12.2017) «О персональных данных».

Все клинико–анамнестические данные о пациентках с повторными неудачами ЭКО вносили в разработанную анкету–опросник.

- данные анамнеза [характеристики и нарушения менструальной функции, методы контрацепции, паритет и исходы беременности, перенесенные заболевания (инфекционно–воспалительные, экстрагенитальные и гинекологические), нозологические формы, тип и длительность бесплодия, количество неудачных попыток ЭКО, оперативные и внутриматочные вмешательства, их осложнения, наличие и объем реабилитационного курса после репродуктивных потерь в первом триместре (неразвивающаяся беременность (НБ) и самопроизвольные выкидыши)], методы лечения, длительность;

- жалобы на текущий момент, анамнез заболевания, информацию из историй болезни, амбулаторных карт, эпикризов, ранее выполненных информативных лабораторных и инструментальных исследований.

Результаты: объективного осмотра (оценка типа телосложения, оволосения, антропометрических параметров, кожного покрова и видимых слизистых), пальпации молочных желез и регионарных лимфатических узлов. Расчет индекса массы тела (ИМТ) осуществляли по формуле Кетле (кг/рост, м^2): ИМТ $<25,0$ – нормальная масса тела; $25,0\text{--}29,9$ – избыточная; $30,0\text{--}34,9$ – ожирение I степени, $35,0\text{--}39,9$ – II степени, $>40,0$ кг/м^2 – III степени;

- гинекологического осмотра, выполняемого по стандартной методике;
- проведенных на различных этапах диссертационной работы лабораторно–инструментальных исследований. Всем пациенткам был проведен объем обследования, регламентированный в перечне обязательных для оказания медицинской помощи с использованием ВРТ.

Все пациентки перед хирургическими вмешательствами (гистероскопия + биопсия эндометрия) были осмотрены специалистами (терапевтом, анестезиологом). Партнеры пациенток с повторными неудачами ЭКО были обследованы в соответствии с действующими приказами Министерства здравоохранения Российской Федерации и отобраны в исследование на основании отсутствия отклонений спермограммы от нормативных значений.

Объем проведенных исследований в выборке представлен в Таблице 1.

Таблица 1 – Методы исследования в выборке женщин

Методы исследования	Количество	%
Клинико–статистический анализ	398	100,0
Исследование в сыворотке крови содержания 25(OH)	300	100,0
Гормональное (эстрадиол, прогестерон) на 20–22 день МЦ	300	100,0
Кольпоскопия расширенная	300	100,0
Эхография органов малого таза (на 7–10 и 20–22 дни МЦ), цветное доплеровское картирование, доплерометрия сосудов матки	300*2	100,0
Гистероскопия + биопсия эндометрия	300/98	100,0
Морфологическое исследование биоптатов эндометрия в фазу «окна имплантации» + диагностика ХЭ на 7–10 день МЦ	300	100,0
Сканирующая электронная микроскопия (ультраструктурное исследование пиноподий в период «имплантационного окна»)	144	36,2
Микробиологическое исследование:	300	100,0
мазок на флору по Граму	300	100,0
исследование инфекций, передаваемых половым путем, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)	300	100,0
бактериологический посев отделяемого цервикального канала на флору и определение чувствительности к антибиотикам	300	100,0
исследование микробиоты влагалища / эндометрия методом ПЦР в реальном времени (РВ) тест-система «Фемофлор 16»	300/144	100,0/48,0
Иммуногистохимическое исследование экспрессии маркеров в период «имплантационного окна» в железистом компартменте и/или стромальном:	171/98 (до и после лечения)	67,6/32,3
ER и PR, Ki-67	171/40	57,0/13,3
TNF- α , IL-10, TGF- β 1, NRF2, GM-CSF, CXCL16, BCA1 (хемокин 13), VDR, HOXA10, HOXA11	171/65	57,0/38,0
CD8+, CD4+, CD 138, HLA-DR	171/94	57,0/31,3

Лабораторные методы исследования включали:

- общие (включали клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, гемостазиограмма, анализы на ВИЧ, гепатиты В и С, реакцию Вассермана, группу крови и резус-фактор). Забор цельной периферической крови осуществляли в пробирки типа Vacuette объемом 2,0 или 4,0 мл [с антикоагулянтом динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) 2,0 мг/мл];

- специальные: исследование содержания в венозной крови активного метаболита 25(ОН) D на 6–8 день после овуляции хемилюминесцентным методом по стандартной методике с центрифугированием после доставки в лабораторию при 1000 об/мин в течение 10 мин.; оборудование: наборы и калибраторы «Roche Diagnostics» (Германия), анализатор Architect 2000 (США). Всем пациенткам была предписана отмена препаратов, содержащих витамин D, за трое суток до исследования. Интерпретацию анализов выполняли в соответствии с рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов и международного эндокринологического общества (дефицит витамина при концентрации <20 нг/мл; недостаток – 21–29 нг/мл, оптимальный показатель – свыше 30 нг/мл) [24];

- исследование в сыворотке крови уровня стероидных гормонов [эстрадиола (пмоль/л), прогестерона (нмоль/л)] на 20–22 день МЦ выполняли иммуноферментным методом. Анализ и интерпретацию результатов осуществляли в соответствии с рекомендациями фирм-разработчиков «DRG Diagnostics» (Германия) и «Beckman Coulter» (США).

- исследование в сыворотке крови титра антител класса М и G к ВПГ 1 и 2 типов и ЦМВ методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем (г. Н. Новгород) и расчетом коэффициента авидности для оценки стадии инфицирования.

Комплексное микробиологическое исследование включало:

- микроскопию отделяемого влагалища и цервикального канала (окраска по Граму) для оценки лейкоцитарной реакции, количества эпителиальных клеток, «ключевых клеток» и морфологии микрофлоры;

- бактериологический посев отделяемого цервикального канала и биоптатов эндометрия на флору + чувствительность к антибиотикам.

Взятие материала для определения микроорганизмов осуществляли в пробирки объемом 1,5 мл с физиологическим раствором. Транспортировка и хранение материала до начала исследования (не более 24 ч с момента забора) осуществлялись при температуре 2–8 °С.

Идентификацию микроорганизмов после культивирования (5% кровяно–дрожжевой агар; шоколадный агар; Сабуро агар) в аэробных, анаэробных и условиях сниженного содержания кислорода проводили на основании морфологических и тинкториальных свойств. Выявление инфектов в титре более 10^5 колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) было основанием для антибактериальной терапии (чувствительность определяли путем постановки не менее 10 дифференциальных дисков). Для обнаружения *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* проводили культивирование, полуколичественную оценку титра и определение чувствительности к антибиотикам с помощью набора *Mycoplasma* IST 2 (США). Титр более 10^4 КОЕ/мл считали этиологически значимым. Микробиологическое исследование материала выполняли в соответствии с приказом № 535 МЗ СССР от 22.04.1985г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко–диагностических лабораториях лечебно–профилактических учреждений».

- полимеразную цепную реакцию «в режиме реального времени» ПЦР–ВР использовали для количественной и качественной оценки с помощью тест-системы «Фемофлор–16» (ООО «НПО ДНК–Технология», РФ) микрофлоры влагалища и эндометрия.

- соскоб со слизистой задней и боковой стенок влагалища производили после удаления избытка выделений одноразовым урогенитальным зондом;

- забор биоптата эндометрия для микробиологического исследования (бактериологический посев на флору и чувствительность к антибиотикам и Фемофлор–16, ПЦР–ВР, n=144) осуществляли только после подтверждения

нормоценоза нижних отделов генитального тракта, двуполостным катетером для переноса эмбрионов после обработки шейки матки 0,05% раствором хлоргексидина и удаления шеечной слизи. Исключение вероятности контаминации материала микроорганизмами из влагалища и цервикального канала достигалось выдвижением в полости матки внутренней части катетера, после его погружали во внешнюю часть и систему удаляли. Собранный в пробирку с транспортной средой материал центрифугировали 10 мин (13.000 об/мин), далее амплификацию с детекцией материала выполняли на приборе IQ5 Multicolor Real-Time PCR Detection System фирмы BIO-RAD (США).

При оценке биоценоза влагалища в исследованных биологических образцах осуществляли количественный подсчет:

- дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) микробного материала в геном-эквивалентных единицах (ГЭ/мл); бактерий суммарно (общая бактериальная масса, ОБМ), *Lactobacillus* spp. и условно-патогенной флоры (факультативно-анаэробные, облигатно-анаэробные микроорганизмы, *Candida* spp., *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*).

Выявляли:

- абсолютный нормоценоз – доля нормофлоры в составе общей бактериальной массы (ОБМ) (*Lactobacillus* spp.) более 80,0%, *Ureaplasma* spp., *M. hominis* – менее 10^4 ГЭ/мл; условный нормоценоз – доля нормофлоры более 80,00%, количество *Ureaplasma* spp., *M. hominis* – возможно более 10^4 ГЭ/мл; анаэробный и аэробный дисбиоз – дисбаланс биоты с долей условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) к ОБМ более 20,0%, нормофлоры менее 80%; смешанный дисбиоз – при сочетании бактериальной биоты и *Candida* spp. на фоне снижения доли нормофлоры; вульвовагинальный кандидоз, бессимптомное кандидоносительство. Наличие ВПГ1,2 типа, ЦМВ оценивали с помощью комплекта реагентов TNC КОМПЛЕКС («ДНК-Технология», РФ).

- осуществляли забор материала экзо- и эндоцервикса на цитологическое исследование (Пап-тест), ПЦР-исследование на ВПЧ ВР.

Всем пациенткам проводили кольпоскопию – простую и расширенную (кольпоскоп Olympus, Япония).

Ультразвуковое исследование органов малого таза в выборке пациенток осуществляли неоднократно с помощью серии продольных и поперечных сечений на ультразвуковом аппарате «Aloka SSD – 60» (Япония) с использованием абдоминального датчика частотой 3,5 мега герц МГц и вагинального датчика частотой 5 МГц. Сроки исследований: 7–10–й и 20–22–й дни МЦ. Оценивали анатомию шейки и тела матки, яичников, характеристики эндометрия [толщина (М–эхо), эхогенность]. При выявлении ПЭ определяли размеры, количество; несоответствие толщины эндометрия фазе МЦ (превышение) было основанием для предположения ГЭ.

Признаки ХЭ: на 7–10 день МЦ: расширение полости матки за счет жидкостного содержимого, неоднородность структуры, субэндометриального слоя; асимметрия толщины передней и задней стенок М–эхо, гиперэхогенные включения в базальном слое, деформация срединной части; на 20–22 день МЦ: помимо признаков, выявляемых в первой фазе – истончение менее 7 мм, несоответствие структуры фазе.

На основании выявленных сонографических признаков выделяли типы изменений эндометрия:

- пролиферативный (ПЭ и ГЭ, неравномерная толщина эндометрия);
- диспластический (внутриматочные синехии, фиброз стромы/гиперэхогенные включения в базальном слое, «тонкий» эндометрий);
- ассоциированные с хроническим воспалением (истончение слизистой <7мм, гипозоногенный контур вокруг М–эхо; неоднородность структуры, расширение полости матки в верхней трети).

Особенности маточной перфузии [симметрия васкуляризации, параметры кровотока (PI, IR) в маточных, аркуатных, радиальных, базальных, спиральных артериях] изучали методом цветового доплеровского картирования на 20–22 дни МЦ, сравнивая с показателями фертильных женщин в исследовании Д.М. Белоусова [7].

Оценку овуляторной функции проводили на основании выявления с помощью коммерческих тест-полосок пика лютеинизирующего гормона (ЛГ) в моче, который происходит за 24–48 ч. до разрыва доминантного фолликула или по уровню прогестерона в сыворотке крови через 5–7 дней после предполагаемой овуляции (норма – >10 нмоль/мл).

Гистероскопию выполняли с целью уточнения состояния полости матки и диагностики признаков ХЭ на 7–10 день МЦ по стандартному протоколу. Оборудование: жесткие гистероскопы типа Hamou I (30°) и Hopkins II (30°) (Karl Storz GmbH & Co, Германия) с наружным диаметром 5 мм, подачей раствора с помощью помпы Hamou Endomat (Karl Storz GmbH&Co, Германия).

Оценке подлежали: рельеф стенок, слизистая (однородность, складчатость, соответствие фазе МЦ, цвет), сосудистый рисунок стенок, устья маточных труб. Характер патологических образований оценивали по гистероскопической классификации Савельевой Г.М. (2001) [19] (ГЭ и ПЭ, подслизистые миоматозные узлы, эндометриоидные очаги). Градация выявленных признаков эндометрия при гистероскопии представлена:

- пролиферативным типом:
 - при гиперплазии – «пышная» слизистая толщиной более 15 мм, свободные устья маточных труб, резко выраженный сосудистый рисунок и складчатость, в сочетании с ХЭ – ярко-красная окраска, неровная поверхность;
 - при ПЭ [очаговые разрастания различной формы, размеров (включая микрополипы – сосочковые разрастания до одного мм размером), локализации, возможен отек стромы и гиперемия слизистой];
- диспластическим (внутриматочные синехии, истончение и бледность слизистой);
- ассоциированными с ХЭ [неравномерная толщина (очаги утолщения и гипертрофии слизистой, микрополипы) и окраска (отек стромы, гиперемия, точечные кровоизлияния)].

Гистероскопия сочеталась с аспирационной биопсией эндометрия, удалением выявленных образований, разрушением внутриматочных синехий и

последующим гистологическим исследованием материала, визуальным контролем эффективности вмешательства.

Пайпель–биопсию эндометрия всем пациенткам выполняли в период предполагаемого «окна имплантации» (на 6–8–й день после овуляции, определяемой методом эхографии, пика ЛГ7+, подтверждаемого мочевыми тест–полосками; на 7–10–й день МЦ – при выявлении признаков ХЭ (n=69), ПЭ, ГЭ.

2.1.1 Патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование эндометрия

Морфологический раздел работы выполнен на базе «НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына» ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» (директор института, зав. лабораторией клинической морфологии – засл. деятель науки РФ, член–корр. РАН, д.м.н., проф. Михалева Л.М.) и патологоанатомического отделения Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 31 имени академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы».

Полученные биоптаты фиксировали 10% забуференным раствором формалина (рН=7,2; от 5 до 24 ч.), материал хранили в холодильнике при +2⁰С–+4⁰С, далее выполняли стандартную гистологическую проводку и заливку в парафиновые блоки. Гистологические срезы толщиной 4 мкм были изготовлены с использованием ротационных микроскопов Sacura (Япония) и окрашены гематоксилином и эозином. Часть гистологических срезов окрашивали по Маллори (смесь кислого фуксина, оранжевого G и анилинового синего) с целью верификации ХЭ.

Патоморфологическую оценку эндометрия, его соответствие фазе секреции по критериям Нойса (1975) проводили на светооптическом микроскопе «Leica DM4500» (Leica Microsystems, Германия), совмещенном с видеокамерой Leica DFC450HD–С и программным обеспечением Leica Application Suite (LAS, Version 4.9.0), с увеличением от x50 до x1000. Повторное патоморфологическое

исследование образцов эндометрия осуществляли после лечебно–восстановительного курса (в среднем, через 3 месяца).

ИГХ исследование эндометрия проводили в период «окна имплантации» (ЛГ7+) для оценки рецептивного статуса и иммунного профиля.

В Таблице 2 представлен перечень антител к исследуемым маркерам.

Таблица 2 – Панель антител для иммуногистохимического исследования

Антитела	Клон антител	Рабочее разведение	Фирма–изготовитель
Estrogen Receptor α	EP1	Ready to use	«DAKO», Denmark
PR Receptor	Y85	Ready to use	«Cell Marque», USA
VDR	поликлональное	1:100	«Ventana», USA
Ki–67	SP6	1:100	«Cell Marque»
HOXA10	поликлональное	1:200	«GeneTex», USA
HOXA11	поликлональное	1:250	«GeneTex», USA
CD4+	SP35	«GeneTex», USA	«Ventana», USA
CD8+	SP57	«GeneTex», USA	«Ventana», USA
CD138+	AT13/5	ready–to– use	Diagnostic Biosystems
HLA–DR(II)+	моноклональные	1:100	Novocastra, UK
II TNF– α	JM113–01	1:100	HUABIO, USA
BCA1	N3C3	1:100	HUABIO, USA
CXCL16	GT516	1:200	HUABIO, USA
IL–10	GT5111	1:100	HUABIO, USA
NRF2	–	1:100	HUABIO, USA
TGF– β I	JM24–53	1:50	HUABIO, USA
GM–CSF	–	1:200	HUABIO, USA

Были изготовлены срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали в термостате при температуре 70⁰С в течение двух часов. В качестве детекционной применяли систему «Bond Polymer Refine Detection [DS9800]» (Канада), хромогена – диаминобензидин.

Реакции проводили с помощью автоматического иммуногистостейнера «Leica Bond–MAX» (Германия) и «Ventana Bench Mark ULTRA» (Германия). Осуществляли оценку экспрессии иммунных маркеров в железистом и

стромальном компартментах эндометрия GM-CSF, TNF- α , BCA1, CXCL16, IL-10, NRF2, TGF- β 1. Согласно регламенту инструкции-производителя, к непосредственному анализу образцов эндометрия приступали после отработки реакций отрицательного контроля с нормальным мышинным иммуноглобулином (отсутствие окрашивания, в т.ч. и фонового) и положительного (позитивной реакции соответственно). Интерпретацию результатов ИГХ исследования проводили отдельно в компартментах эндометрия с учетом количества окрашенных клеток и интенсивности их окраски.

Анализ результатов ИГХ исследования в автоматическом режиме проводили с антителами (АТ) к иммунным маркерам и ER-A и PR и подсчетом Histo-score по формуле: $HS = \sum(P_i \times i)$, где P_i – процент окрашенных клеток в коричневый цвет (ядерное или мембранное) для каждой интенсивности (от 0 до 100%), i – интенсивность окрашивания со значением 0 (отсутствие), 1 – слабое (светло-коричневое), 2 – умеренное (коричневое) и 3 – сильное (темно-коричневое). Градация баллов: 0–10 – отсутствие экспрессии, 11–100 – слабая, 101–200 – умеренная, 201–300 – выраженная. ИГХ исследование с АТ к TGF- β 1 проводили в строме эндометрия полуколичественным методом путем оценки количества позитивных клеток, независимо от интенсивности окрашивания: 0 (отсутствие позитивных клеток стромы), 1+ (количество клеток до 24%), 2+ (от 25% до 49%) и 3+ (от 50%).

Анализ интенсивности окрашивания изученных структур эндометрия проводили автоматически (программа включала 10 цветовых режимов), далее на наиболее информативные объекты накладывали псевдоцветные маски. Были сделаны расчеты относительной площади структур к площади полного кадра (%). В процентном выражении представлены результаты экспрессии VDR (относительной площади клеток стромы и glanduloцитов желез), HOXA10, HOXA11 – относительной площади окрашенных клеток стромы эндометрия.

Диагноз ХЭ обоснован повышенной экспрессией CD138+, CD8+, CD4+, HLA-DR(II)+ по шкале, разработанный Толибовой Г.Х. и соавт. (2018) [82]. Оценку количественным способом путем подсчета иммунопозитивных клеток при

световой микроскопии при увеличении $\times 400$ (окуляр 10, не менее 5–7 полей зрения). Пролиферативную активность эндометрия оценивали на основании экспрессии в эпителиоцитах и клетках стромы ядерного белка Ki-67 (клон SP6, Cell Marque).

Микрофотографирование производилось с помощью светового микроскопа Leica DMLB со стандартным набором оптики (окуляры с увеличением $\times 10$) с использованием цифровой камеры Leica DFC 420 (Leica Microsystems, Германия) при увеличении $\times 400$ при помощи стандартного программного средства Leica Application Suite v. 3.7.0 (Германия).

2.1.2 Сканирующая электронная микроскопия

Биопсийный материал эндометрия для исследования ультраструктур пиноподий методом СЭМ получали на ЛГ7+ день МЦ, в некоторых случаях дважды для мониторинга темпов развития (ЛГ5+, ЛГ7+) ($n=17$). Материал помещали в контейнер Эппендорфа с фосфатным буфером 1,0 мл и транспортировали при $t\ 37.0^{\circ}\text{C}$ в лабораторию. Материал фиксировали 2,5% раствором глутарового альдегида («Ted Pella Inc.», США) на 0,1 М какодилатном буфере (pH 7,2–7,4) («Sigma», США) при 4°C в течение 2 ч. Материал дофиксировали 1% раствором осмиевой кислоты («Serva», Германия), дегидратировали в градиенте этанола (50% – 30 мин, 70% – 2 ч, 96% – 2 ч) и ацетоне (2–24 ч). Препарат высушивали в критической точке возгонки углекислоты (Critical Point Dryer HCP-2, «Hitachi»), рабочий газ CO_2 , промежуточная среда – ацетон. Биопсийный материал прикрепляли к столикам для СЭМ, напыление проводили в ионно-распылительной установке IB-3 («Eiko», Япония) сплавом золота и палладия (примерная толщина напыления 25 нм).

В образцах эндометрия оценивали: наличие пиноподий, плотность распределения [изобилующие (более 50 %), умеренные (от 20 до 50 %) и не выраженные (менее 20 %)], тип (степень развития в соответствии с фазой МЦ (созревающие, зрелые и регрессивные), морфологию (акселерация или

гипоплазия), особенности микроокружения (секреторные клетки, гранулы, реснитчатые клетки), сохранность или разобщенность межклеточных контактов. Микрофотографии получали при помощи сканирующего электронного микроскопа CamScan S-2 («Cambridge Instruments», Великобритания) при ускоряющем напряжении 20 кВ.

Ультраструктурный анализ эндометрия проводили совместно с «Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского (куратор – руководитель отдела электронной микроскопии д.м.н., профессор Брагина Е.Е.) (директор – академик РАН Скулачев В.П.).

2.2 Методы лечения и контроль излеченности

- Мониторинг состояния эндометрия проводили в двух выборках: с традиционной тактикой (ретроспективная, n=98) и персонифицированной, основанной на молекулярно-адаптационных фенотипах (проспективная, n=144).
- Объём лечебно-диагностических мероприятий в ретроспективной выборке включал: удаление патологических образований эндометрия под визуальным гистероскопическим контролем; при выявлении абсолютных патогенов или микроорганизмов в диагностически значимых титрах – антибактериальную терапию с учетом чувствительности выделенных инфектов, местные противомикробные препараты (нео-пенотран по 1 свече на ночь 10 дней); нестероидные противовоспалительные препараты (нимесулид в дозе 100 мг 1–2 раза в сутки, 7 дней перорально); коррекцию иммунологических нарушений (суппозитории бовгиалуронидаза 12 мг ежедневно в течение 10 дней ректально); нарушений биотопов генитального тракта и восстановление нормоценоза (пероральные пробиотики бактистатин по 1 капсуле 1–2 раза в сутки 14 дней или вагинальные суппозитории с пробиотиками 7–14 дней). Антифибротический эффект и восстановление маточной гемодинамики достигалось при использовании физиотерапевтических мероприятий: низкочастотной магнитотерапии.

При пролиферативном фенотипе (ГЭ, ПЭ) с целью подавления избыточной пролиферативной активности/стимуляции апоптоза использовали:

- низкодозированные монофазные комбинированные оральные контрацептивы на три месяца, гестагены [дидрогестерон в дозе 20 мг в сутки с 14 по 25 день МЦ согласно инструкции по применению или микронизированный прогестерон (200 мг вагинально по 1 капсуле 1–2 раза в день)];
- фитомолекулы с таргентным патогенетическим действием (антипролиферативный, антиангиогенный эффект) – индинолкарбинол 2 капсулы 2 раза в день 2 месяца;
- противовирусные препараты при выявлении вирусных агентов в эндоцервиксе или эндометрии (ВПЧ ВР, ВПГ2), микрополипах эндометрия – ацикловир 200–400 мг 4–5 раз в сутки; валацикловир 500 мг 2 раза в сутки, длительностью от 14 дней до 1–3 месяцев;
- препараты с антиоксидантным действием (альфа–токоферола ацетат 400 МЕ в сутки перорально месяц, альфа–липоевая кислота 60 мг в сутки);
- антибактериальная терапия при высоком титре условно–патогенных штаммов ($> 10^4$) и абсолютных патогенов (ИППП), дисбиотическом типе микробиоты эндометрия [доксциклин моногидрат 100 мг 2 раза в день и амоксициллина клавуланат 875/125 мг 2 раза в день в течение 14 дней; системные противогрибковые препараты (производные флуконазола) 150 мкг на 1,4,7 дни приема антибиотика], дисбиотическом типе микробиоты влагалища – свечи клиндамицин 100 мг 6 дней во влагалище на ночь, далее – топические пробиотики;
- системные пробиотики (лиофилизированная культура лактобактерий *Lactobacillus casei rhamnosus Doderleini* по 1 капсуле 2 раза в день 14 дней) и топические – для достижения нормоценоза влагалища, после эрадикационной терапии.

При фенотипе нарушенного иммунного статуса эндометрия необходим акцент на восстановление нарушенного молекулярного паттерна (преимущественно в отсутствие контроля излеченности ранее верифицированных

заболеваний эндометрия) и коррекцию патологического смещения «окна имплантации» на основании терапии:

- препараты с антиоксидантным действием (альфа-токоферола ацетат 400 МЕ в сутки перорально месяц, альфа-липоевая кислота 60 мг в сутки);
- специфическая или неспецифическая иммунная терапия – иммуномодулирующие препараты: инозин пранобекс 500 мг 3 раза в день два курса с перерывом в 10 дней по 10 дней; дезоксирибонуклеата натрия с железом 1,5% – 5 мл внутримышечно №10 через день; аллокин-альфа – подкожные инъекции через день №6; топическая цитокиноterapia – суппозитории Суперлимф 25 ЕД 20 дней вагинально; интерферон человеческий рекомбинантный альфа-2 500 000 МЕ 2 раза в сутки ректально 10 дней;
- перспективна внутриматочная инфузия колониестимулирующе-макрофагального фактора G-CSF (при низкой экспрессии GM-CSF в эндометрии).

При фенотипе хронического воспаления:

- антибактериальная и/или противовирусная терапия при выявлении в эндометрии патогенов [(нелактобациллярный тип микробиоты) или пирогенной реакции на иммуноагрессивное воздействие с целью воспроизведения картины продуктивного воспаления (индукторы иммунитета) при проведении схемы лечения хронических ВЗОМТ – пирогенал 10 или 25 мкг внутримышечно)];
- гестагены – дидрогестерон в дозе 20 мг в сутки перорально или микронизированный прогестерон 200 мг с 14 по 25-й день МЦ два курса;
- фитомолекулы с таргентным действием – эпигаллокатехин-3-галлат, обладающий антиоксидантной активностью, противовоспалительным, антипролиферативным, антиангиогенным и деметилирующим эффектом – 2 капсулы 2 раза в сутки – 2 мес.;
- дефиброзирующая терапия (физиолечение – низкочастотная электроимпульсная терапия, интерференц-токи, лазерная терапия);
- эстроген-гестагенные препараты (17β-эстрадиол в дозе 2–4 мг в сутки с 1-го по 28 день МЦ трансдермально или перорально и дидрогестерон в дозе 20

мг в сутки перорально, микронизированный прогестерон 200 мг с 14 до 25–го дня МЦ – два курса);

- топические и системные пробиотики для достижения нормоценоза влагалища, после эрадикационной терапии;
- физиолечение – сочетание внутриматочной и внутривенной низкоинтенсивной лазеротерапии.

При диспластическом фенотипе:

- дефибрирующая терапия (физиолечение – магнитное поле ультравысокой частоты, ультразвук в импульсном режиме, низкочастотная электроимпульсная терапия, низкочастотная магнитотерапия, токи надтональной частоты, интерференционные токи);
- метаболическая терапия [коррекция неадекватного уровня в сыворотке крови 25(ОН)D – витамин D 2000 МЕ, препараты с антиоксидантным действием (альфа–токоферола ацетат 400 МЕ в сутки перорально месяц, альфа–липоевая кислота 60 мг)];
- аутоплазму, полученную путем центрифугирования венозной крови пациентки, вводили в количестве 5 мл парацервикально или внутриматочно;
- эстроген–гестагенные препараты (17β–эстрадиол в дозе 2 мг в сутки от 1 до 28 дня МЦ трансдермально или перорально и дидрогестерон в дозе 20 мг в сутки перорально, микронизированный прогестерон 200 мг с 14 до 25–го дня МЦ);
- антибактериальная терапия при выявлении причинно значимого инфекта при ХЭ диспластического типа, нелактобациллярном типе микробиоты;
- перспективна внутриматочная инфузия моноклеаров периферической крови (при доказанном локальном иммунодефиците).

Эффективность восстановления архитектоники эндометрия после курса лечения оценивали через два месяца на основании результатов традиционных (микробиологические тесты, сонография, доплерометрия сосудов матки, гистероскопия, патоморфологическое исследование) и специфических методов исследования (оценка рецептивного и иммунного профиля).

2.3 Этапы программы ЭКО/ИКСИ и переноса эмбрионов

- обследование пациентов [мужчин (консультация андролога) и женщин];
- стимуляцию суперовуляции начинали после персонализированного подбора протокола: в коротком со 2–3го дня МЦ назначали агонисты или антагонисты гонадотропин–рилизинг гормона, препараты гонадотропинов мочевых [(менотропины: фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)+ЛГ) и рекомбинантных (рФСГ: α - и β -фоллитропины) в различных вариациях (отдельно и в комплексе, с фиксированным режимом введения)]. В длинном протоколе с 21 дня предыдущего МЦ назначали агонисты гонадотропин–рилизинг гормона (ГнРГ) (депо–форма, ежедневные инъекции);
- ультразвуковой мониторинг роста и развития фолликулов, состояния эндометрия (и гормональный – содержание эстрадиола и прогестерона);
- назначение триггера овуляции – при достижении лидирующими фолликулами размеров 17–18 мм вводили ХГЧ 10000 ЕД или рекомбинантный ХГ 6500ЕД однократно;
- трансвагинальная пункция фолликулов через 35–36 ч после введения триггера овуляции и аспирация фолликулярной жидкости под контролем УЗИ иглой 17G длиной 35 см (COOK, Австралия), присоединенной к аппаратной вакуумной системе. Фолликулярную жидкость просматривали в чашках Петри 60x15 мм под стереомикроскопом Olympus SZX10 (Япония) на теплой нагревательной поверхности в боксе IVF–Tech (Дания) при ламинарном потоке воздуха. При обнаружении ооцит–кумулюсных комплексов (ОКК) их переносили в чашки 35x15 мм (NUNC, Дания) с теплой культуральной средой 37°C на основе буфера HEPES Gamete Buffer (COOK, Австралия) для отмывки от форменных элементов крови, далее перемещали в загазованные в атмосфере с содержанием CO₂ – 6% и O₂ – 5% 4–х луночные покрытые парафиновым маслом (ORIGIO, Дания) чашки NUNC с усовершенствованной средой Квина для оплодотворения (SAGE, Дания). Чашки с ОКК помещали в трехгазовый инкубатор Galaxy 170R с 6%

содержанием CO₂ и 5% – O₂, при температуре 37°C для дальнейшего культивирования;

- инсеминация ооцитов через 2–5 часов после пункции спермой партнера классическим способом или методом ИКСИ [в случае проведения преимплантационного генетического тестирования (ПГТ)] ооцитов и культивирование гамет и эмбрионов до 3–5 суток развития;
- оценка качества эмбрионов с отбором такового лучшего качества для переноса в полость матки матери и витрификации (криоконсервации) с осмотром для подтверждения факта оплодотворения (на первые сутки – наличие двух пронуклеусов);
- с помощью неинвазивной технологии Time-lapse embryo monitoring report, вели круглосуточное наблюдение и покадровую регистрацию морфокинетического развития эмбрионов внутри трехгазового инкубатора Galaxy 170S, с герметичным цифровым инвертированным микроскопом (Primo Vision).

При нормальном развитии на 2 сутки после оплодотворения эмбрион состоит из 2–4 клеток (бластомеров), на 3-и – из 4–10, на 4 – от 10 – 16 до стадии компактизации (морулизации), к концу 4-х суток — до начала кавитации (образования первичной полости эмбриона). Фрагментацию, ключевой морфологический параметр, отрицательно влияющий на имплантационный потенциал эмбриона, оценивали на 2–3-й дни развития. Для эмбрионов 5 – 6 суток развития (бластоцист) оценку проводили по критериям Gardner D.K.:

- размер – степень расширения в цифровом эквиваленте от одной (ранняя бластоциста) до 6 (полностью вылупившаяся);
- состояние внутриклеточной массы (ВКМ) – от «А» (плотно упакованная, хорошо сформированная, без включений) до «С» (плохо выраженная с дегенеративными изменениями);
- состояние трофобластической оболочки – от «А» (однослойная, многослойная с равномерным распределением) до «С» (дегенеративно измененные клетки).

Заморозка/разморозка ооцитов, эмбрионов и бластоцист:

- витрификацию ооцитов, эмбрионов на стадии раннего дробления (2–3 сутки) и бластоцист (5–е сутки развития) осуществляли после подтверждения их удовлетворительного качества (хорошее, отличное), согласно рекомендациям производителя, при $T_{23-25^{\circ}\text{C}}$. Разморозка витрифицированных ооцитов, эмбрионов и бластоцист проводилась согласно рекомендациям производителя в четырех луночных планшетах. Под контролем стереомикроскопа открытый носитель с эмбрионами помещали в первый раствор при 37°C .
- селективный перенос эмбрионов (3–и или 5–е сутки развития) в полость матки матери выполняли в асептических условиях с помощью одноразового катетера Labotect (Германия) под ультразвуковым контролем. Перенос эмбрионов, подвергнутых криоконсервации, осуществляли после размораживания – в естественном МЦ, модифицированном, с применением эстроген–гестагенной терапии.
- посттрансферную поддержку проводили с момента аспирации фолликулов и после переноса эмбрионов в полость матки [препараты дидрогестерона перорально и/или вагинально 14 дней (микронизированный прогестерон 600 мг в сутки), эстрадиола валерат и низкомолекулярные гепарины];
- диагностика биохимической и клинической беременности (выявление плодного яйца на 21 день после переноса, определение сердцебиения в сроке 5 нед.).

2.4 Статистическая обработка массива полученных данных

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов прикладных программ «Microsoft Excel» (2007), «Statistica for Windows 6.0» (StatSoft, США), пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 26 (IBM, США). Оценку соответствия выборки нормальному распределению проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова (>50) и Шапиро–Уилка (<50). Использовали методы описательной статистики, параметрические (критерий Стьюдента) и непараметрические (критерий Манна–Уитни) методы анализа количественных данных. Значимость различий количественных признаков в

независимых группах определяли, используя однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), с помощью непараметрического критерия Краскела–Уоллиса. Сравнение качественных признаков при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполняли с помощью точного критерия Фишера, либо критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йетса на численность. Различия показателей считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. В случае анализа числа групп более двух применяли поправку Бонферрони для множественного сравнения. Методом корреляционного анализа рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Пирсона R (при нормальном законе распределения) или Спирмена (отличном от нормального), с интерпретацией результатов в соответствии со шкалой Чеддока: $r=0,3-0,5$ – умеренная, $r=0,5-0,7$ – заметная, $r=0,7-0,9$ – высокая.

Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии значимых различий или факторных влияний) принимали равным «0,05». Выполнен анализ характеристик эхографии и гистероскопии: чувствительность (Sensitivity, Se), специфичность (Specifity, Sp), предсказательная ценность положительного и отрицательного результата, диагностическая точность. Построение прогностической модели формирования определенного фенотипа эндометрия выполняли при помощи бинарной логистической регрессии по формуле:

- $p = \frac{1}{1+e^{-z}}$, $z = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + \dots + a_nx_n$, где p – вероятность развития определенного фенотипа эндометрия, $x_1 \dots x_n$ – значения предикторов, измеренные в номинальной, порядковой или количественной шкале, $a_1 \dots a_n$ – коэффициенты регрессии.

Отбор независимых переменных проводили методом пошаговой прямой селекции, в качестве критерия исключения применяли статистику Вальда.

Достоверность модели оценивали с помощью критерия χ^2 .

С помощью линейного дискриминантного анализа определены ИГХ маркеры с высокой диагностической точностью, в отношении которых вычислены дискриминантные функции (бета–коэффициенты, уровень значимости p ; достоверными считались различия при $p < 0,05$). Расчеты осуществлялись по формуле линейного уравнения:

Группа = $a + b_1 * x_1 + b_2 * x_2 + \dots + b_m * x_m$, где a является константой, $b_1 \dots b_m$ – коэффициентами регрессии.

Критерии, рассчитываемые для каждой прогностической модели: чувствительность (доля правильно предсказанных случаев наличия изучаемых рисков, истинно–положительная частота) и специфичность (доля правильно предсказанных случаев их отсутствия, истинно–отрицательная частота).

Значимые пороговые величины («cut–off») с наибольшим сочетанием чувствительности и специфичности модели выясняли методом ROC–анализа. Для каждого значимого порогового значения оценивали ОШ и относительный риск (ОР) события с ДИ, равным 95%.

Качество прогностической модели определял показатель Area Under Curve, площадь под кривой (AUC): 0,9–1,0 – «отличное», 0,8–0,9 – «очень хорошее», 0,7–0,8 – «хорошее», 0,6–0,7 – «среднее» и «<0,6» – неудовлетворительное.

ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН

Возраст большинства женщин с повторными неудачами ЭКО варьировал в пределах 20 – 40 лет (Таблица 3).

Таблица 3 – Возраст женщин, лет

Группы		N	20–29	30–34	35–40	Средний возраст
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	14	22	17 ³	32,9±0,5
	%		26,4	41,5	32,1	
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	28	31	19	33,0±0,3
	%		35,9	39,7	24,4	
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	17	33	8 ^{4,5}	32,6±0,3
	%		29,3	56,9	13,8	
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	8	17	17	32,2±0,4
	%		19,0	40,5	40,5	
Хронический эндометрит	абс.	69	16	29	24	32,6±0,5
	%		23,2	42,0	34,8	
			p>0,05	p>0,05	p _{1–3} =0,02 χ ₂ =5,3 p _{1–4} =0,003 χ ₂ =9,2 p _{1–5} =0,007 χ ₂ =7,4	p>0,05

Возрастную категорию 20–29 лет составили 24,4% женщин, 30–34 года – 44,1%. В выборке 35–40 лет преобладали респондентки с БНГ, «тонким» эндометрием и ХЭ в сравнении с НГЭ (p<0,05).

Средний возраст женщин в группах достоверно не отличался (32,6±0,4 года), преобладала возрастная категория старше 30 лет (73,2%).

Антропометрические данные пациенток, независимо от генеза бесплодия, были сопоставимы: ИМТ 90,0% из них соответствовал норме, средний показатель составил 23,0±0,7 кг/м².

Характеристики менструального цикла женщин с повторными неудачами ЭКО представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Параметры менструального цикла ($M \pm SD$)

Группы	N	Средний возраст менархе, лет (I)	Средняя продолжительность менструации, дни (II)	Средняя продолжительность менструального цикла, дни (III)	p (I)	p (II)	p (III)
Бесплодие неясного генеза	53	12,2 $\pm$ 1,1	5,5 $\pm$ 0,2	28,5 $\pm$ 0,3	p ₁₋₂ =0,13 p ₁₋₃ =0,11 p ₁₋₄ =0,54 p ₁₋₅ =0,17	p ₁₋₂ =0,07 p ₁₋₃ =0,09 p ₁₋₄ =0,14 p ₁₋₅ =0,17	p ₁₋₂ =0,54 p ₁₋₃ =0,71 p ₁₋₄ =0,44 p ₁₋₅ =0,52
Трубно– перитонеальное бесплодие	78	12,4 $\pm$ 0,9	5,4 $\pm$ 0,2	28,2 $\pm$ 0,4	p ₂₋₃ =0,07 p ₂₋₄ =0,12 p ₂₋₅ =0,09	p ₂₋₃ =0,09 p ₂₋₄ =0,12 p ₂₋₅ =0,13	p ₂₋₃ =0,39 p ₂₋₄ =0,42 p ₂₋₅ =0,13
Наружный генитальный эндометриоз	58	12,2 $\pm$ 0,8	5,5 $\pm$ 0,3	27,2 $\pm$ 0,5	p ₃₋₄ =0,12 p ₃₋₅ =0,09	p ₃₋₄ =0,16 p ₃₋₅ =0,6	p ₃₋₄ =0,46 p ₃₋₅ =0,62
«Тонкий» эндометрий	42	12,5 $\pm$ 1,7	4,6 $\pm$ 0,2	27,3 $\pm$ 0,4	p ₄₋₅ =0,13	p ₄₋₅ =0,08	p ₄₋₅ =0,3
Хронический эндометрит	69	12,3 $\pm$ 1,2	5,6 $\pm$ 0,2	28,2 $\pm$ 0,5	-	-	-

Возраст менархе, длительность МЦ в группах достоверно не отличались и соответствовали диапазону нормы полового развития. Длительность менструального кровотечения в группе с «тонким» эндометрием оказалась несколько ниже, чем в остальных группах, однако достоверных различий не было ($p > 0,05$). Регулярный ритм менструаций в течение первого года после менархе установился у 63,3% женщин.

Градация возраста начала половой жизни в выборке женщин с повторными неудачами ЭКО и бесплодием различного генеза (диапазон от 16 до 26 лет) представлена в Таблице 5.

Коитархе в 16–18 лет указали 8,6% женщин, в 18–23 года – большинство (80,7%), в 24 года и старше – 10,7%.

Таблица 5 – Возраст начала половой жизни, лет

Группы		N	16–18	19–23	24 и старше	Средний возраст, M±SD	p (16-18 лет)	p (19-23)	p (24 и старше)
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	3	42	8	17,9±0,3	p ₁₋₂ =0,97	p ₁₋₂ =0,28	p ₁₋₂ =0,97
	%		5,7	79,2	15,1		p ₁₋₃ =0,64 p ₁₋₄ =0,25 p ₁₋₅ =0,49	p ₁₋₃ =0,45 p ₁₋₄ =0,1 p ₁₋₅ =0,93	p ₁₋₃ =0,64 p ₁₋₄ =0,25 p ₁₋₅ =0,49
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	9	62	7	17,4±1,0	p ₂₋₃ =0,63	p ₂₋₃ =0,8	p ₂₋₃ =0,63
	%		11,5	79,5	9,0		p ₂₋₄ =0,24 p ₂₋₅ =0,42	p ₂₋₄ =0,4 p ₂₋₅ =0,3	p ₂₋₄ =0,24 p ₂₋₅ =0,42
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	4	48	6	17,6±0,9	p ₃₋₄ =0,46	p ₃₋₄ =0,31	p ₃₋₄ =0,46
	%		6,9	82,8	10,3		p ₃₋₅ =0,23	p ₃₋₅ =0,48	p ₃₋₅ =0,23
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	3	37	2	16,0±0,4	p ₄₋₅ =0,07	p ₄₋₅ =0,1	p ₄₋₅ =0,07
	%		7,1	88,1	4,8				
Хронический эндометрит	абс.	69	8	51	10	16,0±0,5	-	-	-
	%		11,6	73,9	14,5				

Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено (для среднего возраста) (p>0,05)

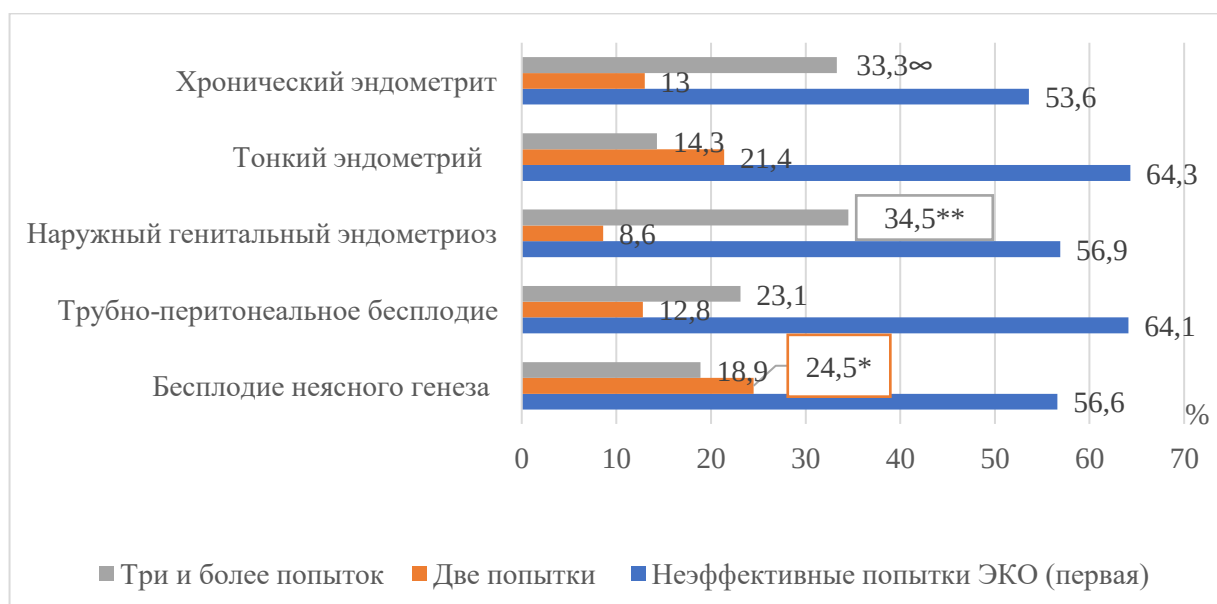
Средний возраст сексуального дебюта в группах достоверно не отличался. Особенности менструаций женщин изучаемой выборки представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Характеристика менструаций

Группы		N	Скудные	Умеренные	Обильные	Нерегулярные	Перименструальные выделения	Межменструальные выделения
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	3 ⁴	45 ⁵	5	3	2	1
	%		5,7	84,9	9,4	5,7	3,8	1,9
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	8	54	16	7	7	6
	%		10,3	69,2	20,5	9,0	9,0	7,7
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	4	40	13	4	3	4
	%		6,9	69,0	22,4	6,9	5,2	6,9
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	9	30	3	1	3	2
	%		21,4	71,4	7,1	2,4	7,1	4,8
Хронический эндометрит	абс.	69	11	44	14	8	5	5
	%		15,9	63,8	20,3	11,6	7,2	7,2
			p1-4=0,022 χ2=5,2	p1-5=0,01 χ2=6,8	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

В группе с «тонким» эндометрием скудные менструальные выделения отмечены каждой пятой женщиной – практически в четыре раза чаще, чем с БНГ ($p=0,022$, $\chi^2=5,2$). Достоверным отличием женщин с БНГ был умеренный объем менструальной кровопотери – в 1,3 раза чаще в сравнении с группой ХЭ ($p=0,01$, $\chi^2=6,8$). Обильные менструации в течение одного–двух дней указали 15,9% всех женщин. Нарушения менструальной функции женщин с неудачными попытками ЭКО проявлялись в нерегулярности (7,1%), пери– (6,5%) и межменструальных выделениях (5,7%).

Анализ кратности неэффективных попыток ЭКО женщин выборки представлен на Рисунке 2.

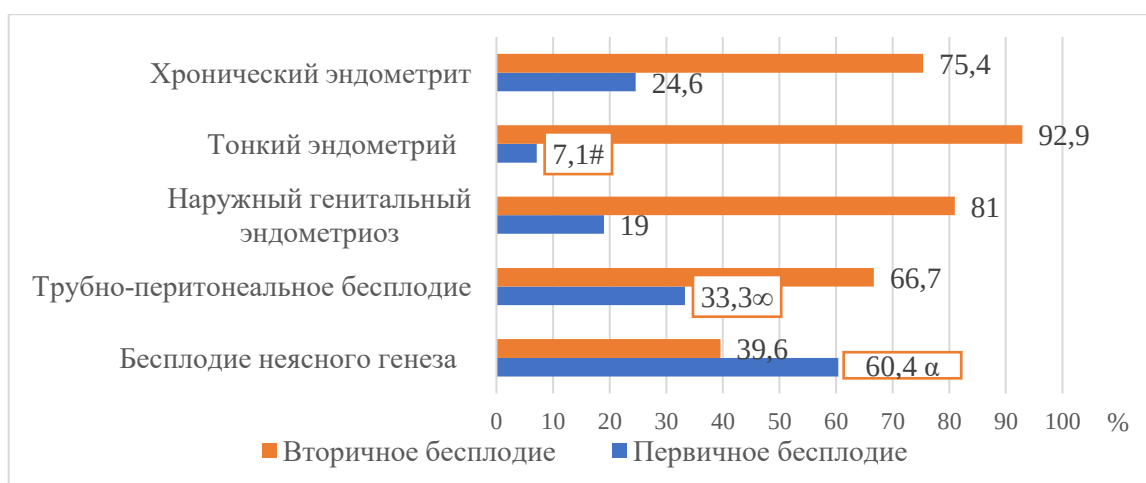


Примечание – статистически значимые различия между группами ($p<0,05$): для двух попыток: *БНГ vs НГЭ – $p=0,02$; для трех попыток: ** – НГЭ vs «тонкий» эндометрий, $p=0,02$; ∞ – «тонкий» эндометрий vs ХЭ, $p=0,03$

Рисунок 2 – Количество неэффективных попыток ЭКО

Кратность неэффективных попыток ЭКО в выборке была представлена: единственной – у 59,1% женщин, двумя – при БНГ втрое чаще, чем с НГЭ (24,5% против 8,6%, $p=0,02$, $\chi^2=5,2$), тремя – при НГЭ и ХЭ в 2,4 раза, чем с «тонким» эндометрием (33,9% против 14,3%, $p<0,05$). Максимальное количество попыток ЭКО в группах составило 9.

На Рисунке 3 представлены данные о типах бесплодия в выборке женщин.



Примечание – 1 – БНГ, 2 – ТПБ, 3 – НГЭ, 4 – «тонкий» эндометрий, 5 – ХЭ; различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$):

α – от всех групп, ∞ – от группы с «тонким» эндометрием, # – от группы с ХЭ ($p_{1-2}=0,003$; $\chi^2=9,3$; $p_{1-3}<0,001$; $\chi^2=20,0$; $p_{1-4}<0,001$; $\chi^2=28,5$; $p_{1-5}<0,001$; $\chi^2=15,9$; $p_{2-4}=0,002$; $\chi^2=10,2$; $p_{4-5}=0,02$; $\chi^2=5,4$)

Рисунок 3 – Типы бесплодия

В группе с БНГ достоверно чаще, чем в остальных встречалось первичное бесплодие ($p < 0,05$), с «тонким» эндометрием – вторичное, в 1,3 раза чаще, чем с ХЭ и ТПБ ($p < 0,05$).

Результаты градации длительности бесплодия представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Сроки продолжительности бесплодия

Группы		N	До двух лет	Два–три года	4–5 лет	>5 лет
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	25	23	5	0
	%		47,2	43,4	9,4	0,0
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	28 ⁴	23	9	18
	%		35,9	29,5	11,5	23,1
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	23 ⁴	19	6	10
	%		39,7	32,8	10,3	17,2
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	28 ⁵	10	4	0
	%		66,7	23,8	9,5	0,0
Хронический эндометрит	абс.	69	26	17	9	17
	%		37,7	24,6	13,0	24,6
			p ₂₋₄ =0,002 χ ² =10,3 p ₃₋₄ =0,008 χ ² =7,1 p ₃₋₅ =0,004 χ ² =8,7	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Женщин с «тонким» эндометрием достоверно отличала меньшая длительность бесплодия к моменту обращения к специалистам – менее двух лет в сравнении с показателями групп с ТПБ, НГЭ и ХЭ – в два раза (37,8%) ($p < 0,05$). Отсутствие желанной беременности более двух–трех лет отмечено у 30,8% женщин, в течение четырех–пяти лет – 10,7%, более пяти – 21,6%.

Изучение контрацептивного поведения женщин с повторными неудачами ЭКО показало тенденцию выбора низкоэффективных средств предохранения от наступления беременности или отказ от таковых (Таблица 8).

Таблица 8 – Используемые средства контрацепции

Группы		N	Комбинированные оральные контрацептивы	Прерванный половой акт	Барьерный	Не предохранялись	Внутриматочная контрацепция
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	4	16	8	22 ⁵	3
	%		7,5	30,2	15,1	41,5	5,7
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	9	37 ³	9 ⁵	18 ⁴	5
	%		11,5	47,4	11,5	23,1	6,4
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	9	15	11	20	3
	%		15,5	25,9	19,0	34,5	5,2
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	5	13	3 ⁵	20 ⁵	1
	%		11,9	31,0	7,1	47,6	2,4
Хронический эндометрит	абс.	69	10	21	18	14	6
	%		14,5	30,4	26,1	20,3	8,7
			$p > 0,05$	$p_{2-3} = 0,011$ $\chi^2 = 6,5$	$p_{2-5} = 0,024$ $\chi^2 = 5,1$ $p_{4-5} = 0,014$ $\chi^2 = 6,1$	$p_{1-5} = 0,011$ $\chi^2 = 6,4$ $p_{2-4} = 0,006$ $\chi^2 = 7,5$ $p_{4-5} = 0,003$ $\chi^2 = 9,1$	$p > 0,05$

Комбинированные оральные контрацептивы с целью предохранения от нежелательной беременности и одновременно с лечебной целью использовали 12,2% женщин, внутриматочный девайс – 5,7%. В группе с ТПБ практически половина женщин прибегали к прерванному половому акту ($p = 0,024$, $\chi^2 = 5,1$), что

достоверно чаще – в полтора раза, чем с НГЭ ($p=0,014$, $\chi^2=6,1$). Барьерный метод контрацепции женщины с ХЭ предпочитали втрое чаще, чем с ТПБ и «тонким» эндометрием ($p<0,05$). В группе с БНГ и «тонким» эндометрием достоверно чаще, чем с ТПБ и ХЭ преобладал отказ от средств контрацепции ($p<0,05$).

Данные репродуктивного анамнеза обследованных женщин отражены в Таблице 9.

Таблица 9 – Характеристика репродуктивной функции

Группы		N	Неразвивающаяся беременность	Аборты артифициальные	Самопроизвольные выкидыши	Внематочная беременность	Самопроизвольные роды	Кесарево сечение
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	3	10 ^{2,3,4,5}	2 ⁵	0	15	3
	%		5,7	18,9	3,8	0,0	28,3	5,7
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	7	42	6 ⁵	6	23 ⁵	5
	%		9,0	53,8	7,7	7,7	29,5	6,4
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	4	28	8	0	17	3
	%		6,9	48,3	13,8	0,0	29,3	5,2
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	4	23	3 ⁵	0	13	3
	%		9,5	54,8	7,1	0,0	31,0	7,1
Хронический эндометрит	абс.	69	8	30	19	3	33	5
	%		11,6	43,5	27,5	4,3	47,8	7,2
			p>0,05	p ₁₋₂ <0,001 χ ² =8,8 p ₁₋₃ <0,001 χ ² =10,6 p ₁₋₄ <0,001 χ ² =13,3 p ₁₋₅ <0,001 χ ² =8,2	p ₁₋₅ <0,001, χ ² =11,9 p ₂₋₅ <0,001, χ ² =10,2 p ₄₋₅ <0,001, χ ² =6,8	p>0,05	p ₂₋₃ =0,03 χ ² =5,2	p>0,05

НБ в анамнезе указали 8,5% женщин, трубную – 6,0% с ТПБ и ХЭ. В группе с ХЭ достоверно чаще, чем в остальных отмечали самопроизвольные выкидыши – в пять раз ($p<0,05$), самопроизвольные роды – в полтора раза, чем с ТПБ ($p<0,05$).

В группе с ХЭ частота искусственных аборт до 12 нед. была достоверно выше, чем с БНГ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 8,2$). Родоразрешение методом кесарева сечения выполнено у 6,3% женщин. Анализ структуры аборт (n=133) показал доминанту однократного прерывания беременности (71,4%); два эпизода отмечено у 24,8%, три – 3,7%.

Данные о хронических соматических заболеваниях обследованных пациенток представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – Экстрагенитальная заболеваемость

Группы		N	Болезни органов дыхания (МКБ–10: X)	Болезни органов пищеварения (МКБ–10: XI)	Болезни мочевыделительной системы (МКБ–10: XIV)	Болезни системы кровообращения (МКБ–10: IX)	Болезни эндокринной системы (МКБ–10: IV)	Частые острые респираторные вирусные инфекции (J20 - J22)	Хронический тонзиллит (J35.0)	Железодefицитная анемия (D50)
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	9	9 ⁵	8 ^{2,5}	3	15	13 ³	7	8
	%		17,0	17,0	15,1	5,7	28,3	24,5	13,2	15,1
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	9	20	29	5	13	9	14	21
	%		11,5	25,6	37,2	6,4	16,7	11,5	17,9	26,9
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	11	13	13	4	7	5	7	15
	%		19,0	22,4	22,4	6,9	12,1	8,6	12,1	25,9
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	5	8 ⁵	9	2	6	4	3	8
	%		11,9	19,0	21,4	4,8	14,3	9,5	7,1	19,0
Хронический эндометрит	абс.	69	12	28	24	5	13	10	14	10
	%		17,4	40,6	34,8	7,2	18,8	14,5	20,3	14,5
			$p > 0,05$	$p_{1-5} = 0,005$, $\chi^2 = 7,9$ $p_{4-5} = 0,019$, $\chi^2 = 5,5$	$p_{1-2} = 0,006$, $\chi^2 = 7,6$ $p_{1-5} = 0,015$, $\chi^2 = 6,0$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p_{1-3} = 0,024$, $\chi^2 = 5,1$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Болезни органов дыхания (пневмония, бронхит) встречались у 18,3% женщин с бесплодием различного генеза, органов кровообращения (артериальная гипертензия) – 6,2%, анемия – каждой пятой.

Заболевания щитовидной железы (аутоиммунный тиреоидит, диффузный и узловой нетоксический зоб) имели 16,2% женщин, хронический тонзиллит – 14,1%. В группе с ХЭ пациентки достоверно чаще, чем с БНГ и «тонким» эндометрием указывали на болезни органов пищеварительной системы – в два раза ($p < 0,05$). Женщин с ХЭ и ТПБ отличала значимо большая частота болезней мочеполовой системы (хронический цистит, мочекаменная болезнь, хронический пиелонефрит) – практически в два раза ($p < 0,05$). В группе с БНГ достоверно преобладали частые острые респираторные вирусные инфекции (более трех раз в год) – в три раза, чем с НГЭ ($p = 0,024$, $\chi^2 = 5,1$). Анемии, преимущественно железодефицитная (ЖДА), выявлены в анамнезе каждой пятой женщины.

Данные о перенесенных заболеваниях органов репродуктивной системы отражены в Таблице 11.

В группе с ХЭ и ТПБ выявлена достоверно большая, чем в остальных частота хронического сальпингоофорита – в 2,3 раза ($p < 0,05$). ХЭ, ранее морфологически верифицированный, отмечен в анамнезе трети женщин с НГЭ, каждой пятой с ТПБ, реже всего – БНГ ($p = 0,002$, $\chi^2 = 9,9$). Большинство женщин (70,9%) указали на факт морфологической диагностики ХЭ после репродуктивных потерь (78 из 110 с ХЭ), однако эффективность его лечения не представляется возможным оценить в связи с контрольным патоморфологическим исследованием образцов эндометрия только у 45,4%.

В группе с ХЭ значимо чаще выявляли доброкачественные заболевания шейки матки (эктропионы, лейкоплакии, их сочетание с хроническим цервицитом) – в два раза, чем с «тонким» эндометрием и БНГ ($p < 0,05$).

В анамнезе женщин с ХЭ и НГЭ достоверно чаще, чем с ТПБ отмечены доброкачественные опухоли яичников (функциональные кисты, дермоидные опухоли) – практически в четыре раза ($p < 0,05$).

Таблица 11 – Гинекологическая заболеваемость

Группы		N	Хронический сальпингофорит (N71)	Хронический эндометрит (N71)	Доброкачественные заболевания шейки матки (N86, N87)	Доброкачественные опухоли яичников (D27)	Гиперплазия эндометрия без атипии (N85.0)
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	11 ^{2,5}	5 ³	17 ⁵	7	6 ³
	%		20,8	9,4	32,1	13,2	11,3
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	44 ^{3,4}	16	29	3 ^{3,5}	5 ^{3,5}
	%		56,4	20,5	37,2	3,8	6,4
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	20 ⁵	20	20	8	22 ⁴
	%		34,5	34,5	34,5	13,8	37,9
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	7 ⁵	0	11 ⁵	4	2 ⁵
	%		16,7	0,0	26,2	9,5	4,8
Хронический эндометрит	абс.	69	39	69	37	10	16
	%		56,5	100,0	53,6	14,5	23,2
			p1-2<0,001 χ2=16,5 p1-5<0,001 χ2=15,8 p2-3=0,01, χ2=6,4 p2-4 <0,001 χ2=17,6 p3-5=0,01 χ2=6,1 p4-5<0,001 χ2=17,0	p1-3=0,002 χ2=9,9 p2-3<0,001 χ2=15,4	p1-5=0,02, χ2=5,6 p4-5<0,001 χ2=8,0	p2-3=0,036 χ2=4,4 p2-5=0,02 χ2=5,1	p1-3<0,001 χ2=10,4 p2-3<0,001 χ2=20,8 p2-5<0,001 χ2=8,4 p3-4<0,001 χ2=14,7 p4-5=0,01 χ2=6,5

Гиперплазия эндометрия без атипии была выявлена у трети женщин с НГЭ, что в пять раз чаще, чем при БНГ, ТПБ и «тонком» эндометрии ($p<0,05$).

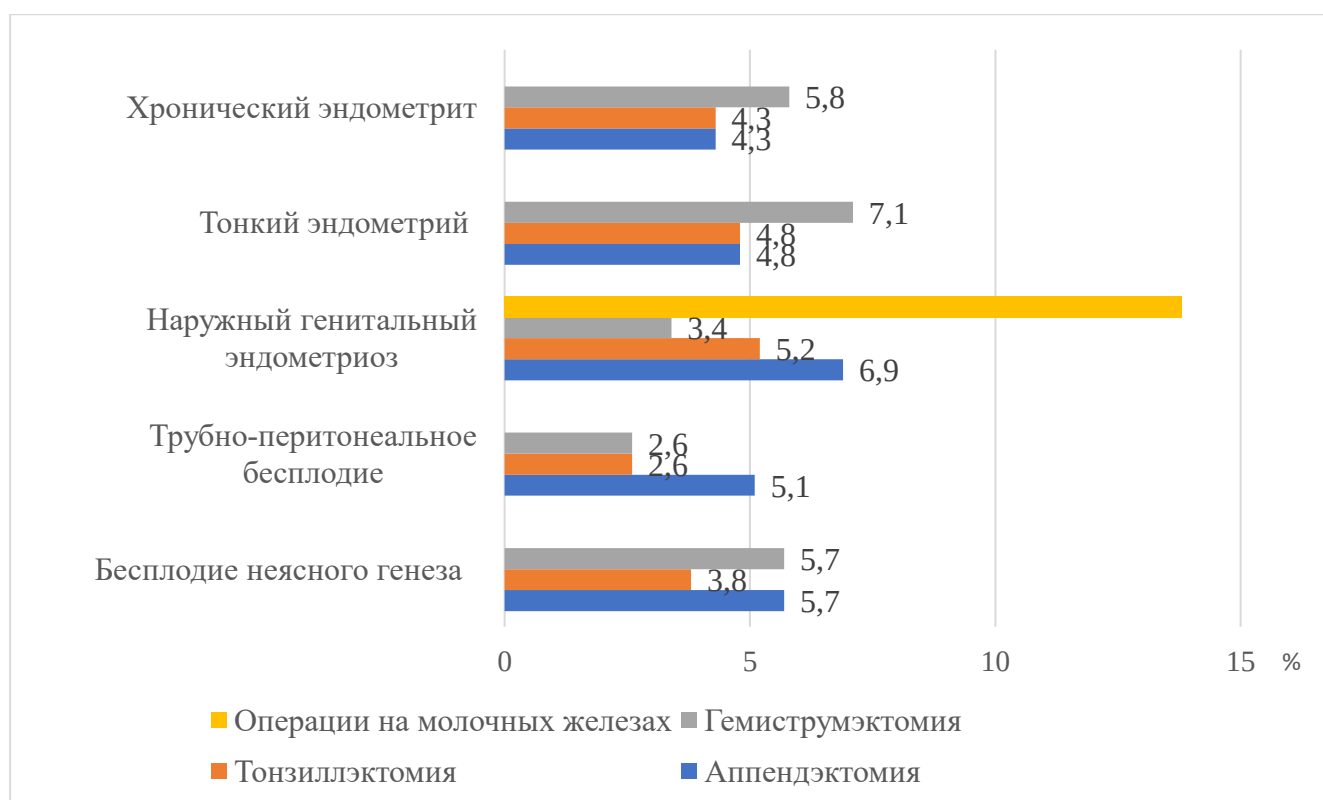
Данные о хирургических вмешательствах на органах малого таза женщин с повторными неудачами ЭКО и бесплодием различного генеза приведены в Таблице 12.

Таблица 12 – Перенесенные гинекологические операции

Группы		N	Резекция яичника	Туботомия с сохранением трубы	Тубэктомия односторонняя	Лапароскопический адгезиолизис	Пластика маточных труб
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	2	0	0	0	0
	%		3,8	0,0	0,0	0,0	0,0
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	2	14	54	0	10
	%		2,6	17,9	69,2	0,0	12,8
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	3	0	9	12	0
	%		5,2	0,0	15,5	20,7	0,0
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	2	0	0	3	0
	%		4,8	0,0	0,0	7,1	0,0
Хронический эндометрит	абс.	69	3	0	0	0	0
	%		4,3	0,0	0,0	0,0	0,0
			p>0,05	p>0,05	p ₂₋₃ =0,00, χ ² =38,6	p>0,05	p>0,05

При анализе хирургических вмешательств достоверных межгрупповых различий по виду доступа или объема не выявлено. Резекцию яичника (по поводу кист и доброкачественных опухолей) ранее перенесли 4,1% женщин, туботомию с сохранением маточной трубы – 17,9% с ТПБ, тубэктомия одностороннюю – в 4,5 раза чаще в группе с ТПБ, чем с НГЭ ($p=0,00$, $\chi^2=38,6$). Лапароскопический адгезиолизис проведен у 13,9% женщин с НГЭ и «тонким» эндометрием, пластика маточных труб – 12,8% в группе с ТПБ. Удаление сактосальпинкса отмечено в анамнезе 15,4% женщин. Иссечение эндометриоидных очагов выполнено у 32,8% женщин с НГЭ, вдвое чаще – коагуляция гетеротопий (67,2%) в области брюшины, крестцово–маточных связок, ретроцервикальной области.

Спектр разносистемных хирургических вмешательств в выборке женщин приведен на Рисунке 4.



Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 4 – Частота оперативных вмешательств

Аппендэктомию перенесли 5,4% женщин, тонзиллэктомию – 4,1%, гемиструмэктомию – 4,9%, вмешательства на молочных железах по поводу фиброаденомы и узловой мастопатии (доброкачественной дисплазии молочных желез) – 13,8%.

В Таблице 13 представлены данные о заболеваниях шейки матки, лечебно–диагностических вмешательствах, результатах ПЦР–исследования на ВПЧ ВР.

В группе с ХЭ частота эктропиона шейки матки значимо превосходила показатель женщин с «тонким» эндометрием – в пять раз ($p = 0,008$, $\chi^2 = 7,3$), лейкоплакии, предраковых заболеваний – была сопоставима. Достоверными отличиями женщин с ХЭ оказались: персистенция в эндоцервиксе ВПЧ ВР – в три раза чаще, чем с «тонким» эндометрием ($p = 0,02$, $\chi^2 = 5,8$), хронический цервицит – в 2,4 раза, чем в остальных группах ($p < 0,05$), хирургические вмешательства на шейке матки, преимущественно радиоволновым методом – практически в два раза, чем с «тонким» эндометрием ($p = 0,049$, $\chi^2 = 4,3$).

Таблица 13 – Перенесенные заболевания и вмешательства на шейке матки

Группы		N	Эктропион шейки матки	Носительство ВПЧ высокого онкогенного риска	Low-grade intraepithelial lesion	High grade squamous intraepithelial lesions	Лейкоплакия шейки матки	Вмешательства на шейке матки	Хронический цервицит
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	6	7 ³	4	1	6	17	7 ⁵
	%		11,3	13,2	7,5	1,9	11,3	32,1	13,2
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	9	13	2	3	6	20	16 ⁵
	%		11,5	16,7	2,6	3,8	7,7	25,6	20,5
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	6	19 ⁴	4	0	11	15	9 ⁵
	%		10,3	32,8	6,9	0,0	19,0	25,9	15,5
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	2 ⁵	4 ⁵	1	0	5	7 ⁵	7 ⁵
	%		4,8	9,5	2,4	0,0	11,9	16,7	16,7
Хронический эндометрит	абс.	69	17	20	4	1	12	24	27
	%		24,6	29,0	5,8	1,4	17,4	40,6	39,1
			p4-5=0,008 χ2=7,3	p1-3=0,03 χ2=5,9 p3-4=0,008 χ2=7,4 p4-5=0,02 χ2=5,8	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p4-5=0,049 χ2=4,3	p1-5<0,001 χ2=10,0 p2-5=0,02 χ2=6,1 p3-5<0,001 χ2=8,6 p4-5=0,02 χ2=6,2

В группе с НГЭ значимо чаще выявляли ВПЧ ВР или косвенные кольпоскопические признаки папилломавирусной инфекции – практически в три раза, чем с БНГ и «тонким» эндометрием ($p<0,05$). Повторные лечебные манипуляции на шейке матки отмечены у шести женщин с НГЭ, одной – с «тонким» эндометрием, шести – с ХЭ в связи с рецидивом заболевания.

Анализ принадлежности женщин с повторными неудачами ЭКО и бесплодием различного генеза к группе с высоким инфекционно–воспалительным риском представлен в Таблице 14.

Таблица 14 – Анамнестические факторы, определяющие высокий инфекционно–воспалительный потенциал

Группы		N	Рецидивирующие инфекции мочевыводящих путей	Железодефицитна я анемия	Рецидив полипа эндометрия	Инфекции, передаваемые половым путем	Рецидивирующие вагиниты	Рецидивирующие вагинозы	Эктопия шейки матки при персистенции ВПЧ ВР более трех лет
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	3 ⁵	6	4	12 ²	7 ^{2,5}	21	4
	%		5,7	11,3	7,5	22,6	13,2	39,6	7,5
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	7	19	3	38 ^{3,4}	34 ^{3,4}	21	6 ⁵
	%		9,0	24,4	3,8	48,7	43,6	26,9	7,7
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	9 ⁴	9	2	11 ⁵	11 ⁵	17	6
	%		15,5	15,5	3,4	19,0	19,0	29,3	10,3
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	1 ⁵	4	1	8 ⁵	8 ⁵	13	0
	%		2,4	9,5	2,4	19,0	19,0	31,0	0,0
Хронический эндометрит	абс.	69	14	13	5	28	34	24	15
	%		20,3	18,8	7,2	40,6	49,3	34,8	21,7
			p1-2<0,001, χ2=16,5 p1-5<0,001, χ2=15,8 p2-3=0,01, χ2=6,4 p2-4<0,001, χ2=17,6 p3-5=0,01, χ2=6,1 p4-5<0,001, χ2=17,0	p>0,05	p>0,05	p1-2<0,001, χ2=13,5 p2-3<0,001, χ2=7,4 p3-4<0,001, χ2=9,1 p2-4<0,001, χ2=7,2 p1-5=0,02, χ2=5,5	p1-2=0,00 χ2=13,5 p1-5=0,00 χ2=17,5 p2-3=0,007 χ2=7,3 p2-4=0,001 χ2=17,6 p3-5=0,00, χ2=12,6 p4-5=0,002, χ2=10,1	p>0,05	p2-5=0,02, χ2=5,9

Женщин с ХЭ достоверно отличал больший показатель рецидивирующих инфекций мочевыводящих путей – в пять раз, чем с БНГ и ТПБ ($p<0,05$). Рецидивы ПЭ выявлены у 4,9% женщин. Достоверным отличием женщин с ТПБ оказалась большая, чем при НГЭ, БНГ и «тонком» эндометрии частота ИППП ($p<0,05$). В группе с ХЭ показатель был аналогичен таковому при ТПБ и статистически значимо больше, чем с НГЭ и «тонким» эндометрием ($p<0,05$). В группе с ТПБ и ХЭ достоверно преобладали рецидивирующие вагиниты, в 2,7 раза чаще, чем с НГЭ, «тонким» эндометрием и БНГ ($p<0,05$). Рецидивирующие вагинозы были выявлены у 32,3% женщин выборки. Заболевания шейки матки на фоне персистенции ВПЧ ВР в высоких титрах и более трех лет без обоснованного хирургического лечения в анамнезе женщин с ХЭ фигурировали статистически значимо чаще, чем при ТПБ ($p=0,02$, $\chi^2=5,2$).

Данные о состоянии маточных труб по результатам выполненных до текущего этапа исследований (гистеросальпингографии, ГСГ) в группе с ТПБ представлены на Рисунке 5.

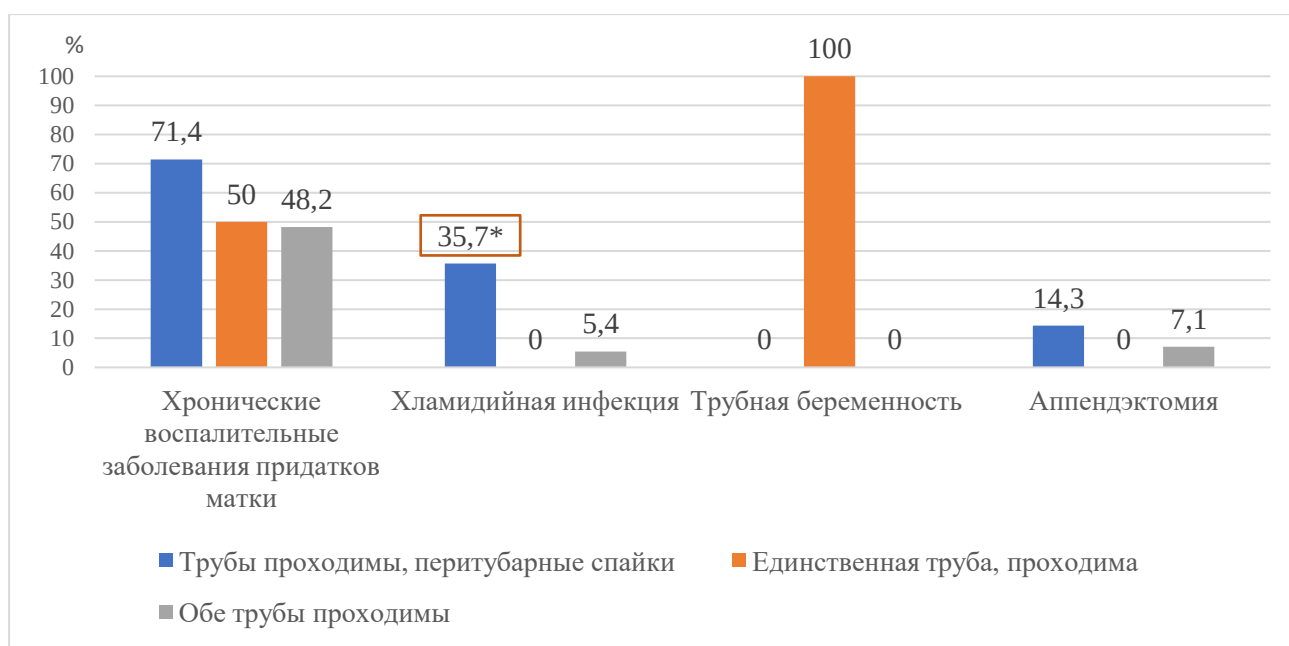


Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p>0,05$)

Рисунок 5 – Состояние маточных труб по данным гистеросальпингографии при ТПБ

Результаты ГСГ показали преобладание проходимости маточных труб более чем у двух третей женщин, единственной трубы – 10,3%, наличие перитубарных спаек – 17,9%.

Анамнестические факторы риска ТПБ представлены на Рисунке 6.



Примечание – различия с группой с проходимыми маточными трубами статистически значимы ($p < 0,05$) *

Рисунок 6 – Анамнестические факторы риска заболеваний маточных труб в группе женщин с ТПБ

Женщин с перитубарными спайками в отличие от выборки с проходимыми трубами отличала достоверно большая частота перенесенной хламидийной инфекции ($p = 0,002$, $\chi^2 = 10,1$), тогда как в отношении показателей хронических воспалительных заболеваний органов малого таза значимых межгрупповых различий не выявлено.

Анализ применяемых вариантов лечения до текущего обращения (на прегравидарном этапе, до вступления в программы ЭКО или с целью коррекции выявленных гормональных нарушений) в выборке женщин с повторными неудачами ЭКО и бесплодием различного генеза (по данным опроса и представленной документации) приведен в Таблице 15.

Таблица 15 – Варианты лечения женщин выборки до текущего обращения

Группы		N	Эстроген-гестагенные препараты	Гестагены	Реабилитационный курс/физиотерапия	Аутоплазма	Противовоспалительная терапия	Неоднократные курсы антибиотиков	Комбинированные оральные контрацептивы	Реабилитационный курс
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	11 ⁴	18 ³	12 ^{2,3,5}	4	6 ^{2,5}	5 ⁵	10	12 ^{4,5}
	%		20,8	34,0	22,6	7,5	11,3	9,4	18,9	22,6
Трубно-перитонеальное бесплодие	абс.	78	13 ⁴	37 ⁴	35 ³	4	28 ^{3,4,5}	18 ^{3,4}	8 ³	9 ^{4,5}
	%		16,7	47,4	44,9	5,1	35,9	23,1	10,3	11,5
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	5 ⁴	37 ⁴	4 ^{4,5}	2 ⁵	4 ⁵	5 ⁵	22 ⁵	12 ^{4,5}
	%		8,6	63,8	6,9	3,4	6,9	8,6	37,9	20,7
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	24 ⁵	8 ⁵	12	4	4 ⁵	3 ⁵	9	29
	%		57,1	19,0	28,6	9,5	9,5	7,1	21,4	69,0
Хронический эндометрит	абс.	69	15	37	29	11	53	23	12	39
	%		21,7	53,6	42,0	15,9	76,8	33,3	17,4	56,5
			p ₁₋₄ <0,001, χ ² =13,3 p ₂₋₄ <0,001, χ ² =20,9 p ₃₋₄ <0,001, χ ² =27,8 p ₄₋₅ <0,001, χ ² =14,3	p ₁₋₃ =0,002, χ ² =9,8 p ₂₋₄ =0,003, χ ² =9,3 p ₃₋₄ <0,001, χ ² =19,7 p ₄₋₅ <0,001, χ ² =12,9	p ₁₋₂ =0,01, χ ² =6,7 p ₁₋₃ =0,019, χ ² =5,5 p ₁₋₅ =0,025, χ ² =5,0 p ₂₋₃ <0,001, χ ² =23,4 p ₃₋₄ =0,004, χ ² =8,5 p ₃₋₅ <0,001, χ ² =20,2	p ₃₋₅ =0,025, χ ² =5,0	p ₁₋₂ =0,002 χ ² =9,9 p ₁₋₅ <0,001, χ ² =51,4 p ₂₋₃ <0,001, χ ² =15,5 p ₂₋₄ =0,002, χ ² =9,7 p ₂₋₅ <0,001, χ ² =24,7 p ₃₋₅ <0,001, χ ² =62,2 p ₄₋₅ <0,001, χ ² =47,3	p ₁₋₅ <0,001 χ ² =26,0 p ₂₋₃ =0,027, χ ² =4,9 p ₂₋₄ =0,029, χ ² =4,8 p ₃₋₅ <0,001, χ ² =17,9 p ₄₋₅ <0,001, χ ² =11,6	p ₂₋₃ <0,001 χ ² =14,8 p ₃₋₅ =0,01, χ ² =6,7	p ₁₋₄ <0,001 χ ² =20,5 p ₁₋₅ <0,001, χ ² =14,1 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =41,7 p ₂₋₅ <0,001, χ ² =33,6 p ₃₋₄ =0,002 χ ² =10,4 p ₃₋₅ <0,001, χ ² =23,5

Женщин с «тонким» эндометрием отличала достоверно большая частота назначений натуральных эстроген–гестагенных препаратов – в 2,5 раза, чем с ХЭ и БНГ ($p<0,05$), в 4,5 раза – с ТПБ и НГЭ ($p<0,05$). В группе с НГЭ преобладал выбор в пользу гестагенов – практически в два раза, чем с «тонким» эндометрием ($p<0,001$, $\chi^2=19,7$), в два – БНГ ($p=0,002$, $\chi^2=9,8$). При ХЭ частота использования гормональных препаратов достоверно превышала показатель в группе с «тонким» эндометрием ($p<0,001$; $\chi^2=12,9$).

Женщин с ТПБ и ХЭ отличала значимо большая частота курса физиолечения в сравнении с БНГ – соответственно в два и полтора раза ($p<0,05$), неоднократно – с НГЭ ($p<0,05$).

Достоверным отличием женщин с ХЭ оказалось более частое назначение аутоплазмы (парацервикально и внутриматочно) – в пять раз, чем с НГЭ ($p=0,02$, $\chi^2=5,0$), противовоспалительного курса – в два раза, чем с ТПБ ($p<0,001$, $\chi^2=24,7$), практически в семь раз, чем в остальных группах ($p<0,05$). Треть женщин с ХЭ указывали на неоднократные курсы антибиотиков, что значимо чаще, чем при БНГ – в 3,5 раза ($p<0,001$, $\chi^2=26,0$), при наименьших показателях в остальных группах ($p<0,05$).

Практически трети женщинам с НГЭ рекомендовали использование комбинированных оральных контрацептивов с лечебной целью – в три раза чаще, чем при ТПБ ($p<0,001$, $\chi^2=14,8$) и в два – ХЭ ($p=0,01$, $\chi^2=6,7$).

В группе с ХЭ и «тонким» эндометрием достоверно чаще, чем в остальных при обращении к специалистам рекомендовали комплекс лечебно–реабилитационных мер, в том числе после репродуктивных потерь и неэффективных попыток ЭКО (62,7% против 18,3%, $p<0,05$).

Жалобы женщин с повторными неудачами ЭКО и бесплодием различного генеза представлены в Таблице 16.

Чувство дискомфорта или болезненные ощущения во время полового акта оказались свойственны 10,5% всех женщин, боли внизу живота – 7,6%, срединные менструальные выделения – 10,2%, дисменорея – 14,2%.

Таблица 16 – Основные жалобы женщин с повторными неудачами ЭКО

Группы		N	Диспареуния	Патологическая секреция из половых путей	Боли в нижней части живота	Срединные менструальные выделения	Дисменорея
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	4	6 ⁵	3	3	5
	%		7,5	11,3	5,7	5,7	9,4
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	10	20	7	7	18
	%		12,8	25,6	9,0	9,0	23,1
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	10	7 ⁵	4	4	10
	%		17,2	12,1	6,9	6,9	17,2
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	3	6 ⁵	2	5	4
	%		7,1	14,3	4,8	11,9	9,5
Хронический эндометрит	абс.	69	7	29	8	12	8
	%		10,1	42,0	11,6	17,4	11,6
			p>0,05	p1-5<0,001, χ2=13,8 p3-5<0,001, χ2=13,9 p4-5 =0,003, χ2=9,3	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Женщины с ХЭ достоверно чаще отмечали патологическую секрецию из половых путей (выделения воспалительного характера) – в три раза, чем с НГЭ, «тонким» эндометрием и БНГ ($p<0,05$).

В Таблице 17 представлены факторы, фигурировавшие в анамнезе женщин с повторными неудачами ЭКО и бесплодием различного генеза в обеих выборках (про– и ретроспективной) с наибольшей частотой в отличие от контрольной группы.

Таблица 17 – Клинические факторы риска в про– и ретроспективной выборках женщин с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения

Группы		N	Рецидивирующие вагиниты	Хронический сальпингофорит	Множественные внутрибрюшные вмешательства	Инфекции, передаваемые половым путем	Доброкачественные заболевания шейки матки	Вмешательства на шейке матки	Носительство ВПЧ ВР	Рецидивирующие вагинозы
Проспективная выборка	абс.	300	94 ²	121 ²	67 ²	97 ²	107 ²	83 ²	63 ²	93 ²
	%		31,3	40,3	22,3	32,3	35,7	27,7	21,0	31,0
Контрольная группа	абс.	38	5 ³	6 ³	3 ³	5 ³	5 ³	4 ³	2 ³	5 ³
	%		13,2	15,8	7,9	13,2	13,2	10,5	5,3	13,2
Ретроспективная	абс.	98	35	43	26	35	37	29	25	36
	%		35,7	43,9	26,5	35,7	37,8	29,6	25,5	36,7
			p ₁₋₂ =0,001 χ ² =15,0 p ₂₋₃ =0,01 χ ² =6,7	p ₁₋₂ =0,001 χ ² =19,1 p ₂₋₃ =0,001 χ ² =19,1	p ₁₋₂ =0,04 χ ² =4,3 p ₂₋₃ =0,01 χ ² =6,0	p ₁₋₂ =0,001 χ ² =16,3 p ₂₋₃ =0,01 χ ² =6,7	p ₁₋₂ =0,006 χ ² =7,7 p ₂₋₃ =0,006 χ ² =7,8	p ₁₋₂ =0,02 χ ² =5,2 p ₂₋₃ =0,02 χ ² =5,4	p ₁₋₂ =0,02 χ ² =5,4 p ₂₋₃ =0,008 χ ² =7,0	p ₁₋₂ =0,02 χ ² =5,2 p ₂₋₃ =0,008 χ ² =7,2
ОШ; 95% ДИ			2,4 (0,9–6,0)	3,6 (1,5–8,8)	2,4 (0,8–7,1)	2,1 (0,9–4,9)	3,7 (1,4–9,6)	3,2 (1,1–9,4)	2,2 (0,8–6,6)	2,0 (0,8–4,7)

Сравнительный анализ позволил выявить основные факторы риска, формирующие повышенный инфекционно–воспалительный потенциал женщин про– и ретроспективной выборки: рецидивирующие вагиниты (ОШ = 2,4; 95% ДИ: 0,9 – 6,0), хронический сальпингоофорит (ОШ = 3,6; 95% ДИ: 1,5 – 8,8), неоднократные внутриматочные вмешательства (ОШ = 2,4; 95% ДИ: 0,8 – 7,1), инфекции, передаваемые половым путем (ОШ = 2,1; 95% ДИ: 0,9 – 4,9), доброкачественные заболевания шейки матки (ОШ = 3,7; 95% ДИ: 1,4 – 9,6), вмешательства на шейке матки (ОШ = 3,2; 95% ДИ: 1,1 – 9,4), носительство ВПЧ ВР (ОШ = 2,2; 95% ДИ: 0,8 – 6,6), рецидивирующие вагинозы (ОШ = 2,0; 95% ДИ: 0,8 – 4,7).

РЕЗЮМЕ

Таким образом, сравнительный анализ показал преимущественную сопоставимость женщин всех групп по анализируемым клинко–анамнестическим факторам. Достоверным отличием групп с БНГ, ТПБ, «тонким» эндометрием был отказ от контрацепции или приверженность низкоэффективным методам:

- отказ: в группе БНГ – в два раза чаще, чем с ТПБ и ХЭ (41,5% против 21,7%) ($p < 0,05$); в группе с «тонким» эндометрием – в два раза чаще, чем с ТПБ и ХЭ (47,6% против 21,7%) ($p < 0,05$); применение ППА: при ТПБ – в полтора раза чаще, чем с НГЭ (47,4% против 25,9%) ($p = 0,014$).

Достоверным отличием женщин с ТПБ, ХЭ и НГЭ было наличие метаболического дисбаланса и снижение адаптационного потенциала на фоне высокой частоты заболеваний:

- соматических: в группе с ТПБ: мочеполовой системы – в два раза, чем с БНГ (37,2% против 15,1%) ($p < 0,05$); с ХЭ – органов пищеварительной системы – в два раза, чем с БНГ и «тонким» эндометрием (40,6% против 18,0%) ($p < 0,05$);

- инфекционно–воспалительных заболеваний органов малого таза:

- ✓ в группе с ТПБ: хронический сальпингоофорит – практически в два раза, чем в остальных группах, кроме ХЭ (56,4% против 24,0%, $p < 0,05$); ХЭ – у каждой пятой (20,5%); рецидивирующие вагиниты – в 2,5 раза, чем с НГЭ,

«тонким» эндометрием и БНГ (43,6% против 17,1%) ($p<0,05$); ИППП – в два раза, чем с НГЭ, БНГ и «тонким» эндометрием (48,7% против 20,2%) ($p<0,05$);

✓ в группе с ХЭ: доброкачественные заболевания шейки матки – практически в два раза, чем с «тонким» эндометрием и БНГ (53,6% против 29,1%) ($p<0,05$); хронический сальпингоофорит – в 2,3 раза, чем с БНГ, НГЭ и «тонким» эндометрием (56,5% против 24,0%) ($p<0,05$); хронический цервицит – практически в два раза, чем в остальных группах (39,1% против 16,5%) ($p<0,05$); вмешательства на шейке матки – в два раза, чем с «тонким» эндометрием (40,6% против 16,7%) ($p<0,05$); принадлежность к группе с высоким инфекционным риском за счет ИППП – в два раза, чем с БНГ и «тонким» эндометрием (40,6% против 19,0%) ($p<0,05$);

✓ в группе с НГЭ: косвенные признаки ВПЧ – в три раза (32,8% против 11,3% при БНГ и «тонком» эндометрии) ($p<0,05$); достоверное преобладание в анамнезе ГЭ без атипии – в пять раз чаще, чем при БНГ, ТПБ и «тонком» эндометрии (37,9% против 7,5%) ($p<0,05$).

Выявлены статистически значимые отличия в выборе предшествующей обращению лечебной тактики, преобладание в группах:

✓ с ТПБ: курса физиолечения – в два раза, чем с БНГ (44,9% против 22,6%) ($p<0,05$) и многократно, чем с НГЭ (6,9%) ($p<0,05$);

✓ с «тонким» эндометрием: терапии эстроген–гестагенными препаратами (57,1%) – в 2,5 раза, чем с ХЭ и БНГ (21,2%) ($p<0,05$), в 4,5 раза – с ТПБ и НГЭ (12,6%) ($p<0,05$);

✓ с ХЭ: противовоспалительного курса – в два раза, чем с ТПБ (76,8% против 35,9%) ($p<0,05$); гестагенов – в три раза, чем с «тонким» эндометрием (53,6% против 19,0%) ($p<0,05$); физиолечения – в два раза, чем с БНГ (42,0% против 22,6%) ($p<0,05$); комплексной реабилитации – в три раза, чем с БНГ, ТПБ и НГЭ (56,5% против 18,3%) ($p<0,05$);

✓ с НГЭ: терапии гестагенами – в полтора раза, чем с ТПБ ($p<0,05$), в два – БНГ ($p<0,05$) и гормональными контрацептивами – в три раза чаще, чем при ТПБ ($p<0,05$).

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ ЖЕНЩИН С ПОВТОРНЫМИ НЕУДАЧАМИ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

В выборке женщин с повторными неудачами ЭКО на фоне различных форм бесплодия (БНГ, ТПБ, на фоне НГЭ, «тонкого» эндометрия, ХЭ) выполнено комплексное исследование эндометрия, включающее сонографию, гистероскопию с прицельным забором биоптатов и удалением патологически измененной ткани для патоморфологического и ИГХ исследования. После сонографии и гистероскопии варианты нарушений состояния эндометрия группировали с выделением типов: пролиферативный, диспластический, хроническое воспаление, норма. Выполнен анализ: эффективности методов диагностики эндометриальных повреждений; клинических факторов риска, ассоциированных с визуальными диспластическим и пролиферативным типами; морфологических особенностей эндометрия (соответствие фазе МЦ); влияния на состояние эндометрия (полноценное морфологическое ремоделирование в период «окна имплантации») в группах с бесплодием различного генеза:

- гормонального гомеостаза и витамина D;
- характеристик биотопов генитального тракта (вагинального, отделяемого цервикального канала, эндометрия); влияния микроценоза нижних отделов на тип микробиоты эндометрия;
- соотношения патоморфологических характеристик эндометрия и типа микробиоты (лакто– и нелактобациллярного).

4.1 Сонографическое исследование эндометрия

Результаты сравнительного анализа сонографических маркеров характеристик эндометрия (структуры и толщины), отражающих реактивность на эндо– и экзогенные факторы, представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Сонографические маркеры различных типов нарушения состояния эндометрия

Группы		N	Пролиферативный		Ассоциированные с хроническим воспалением			Диспластический			Нормальная сонографическая картина
			Полипы эндометрия	Гиперплазия эндометрия (неравномерная толщина М–эхо)	Неоднородность М–эхо	Расширение полости матки в верхней трети	Истончение слизистой, гипоехогенный контур вокруг М–эхо	Внутриматочные синехии	Фиброз стромы/ гиперэхогенные включения в базальном слое	Истончение М–эхо, несоответствие фазе МЦ	
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	3	4	3 ^{2,5}	0	2	1	2 ⁴	16 ^{2, 5}	22 ⁵
	%		5,7	7,5	5,7	0,0	3,8	1,9	3,8	30,2	41,5
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	7	3	21 ⁵	4	3	0	2 ⁴	5	33 ⁵
	%		9,0	3,8	26,9	5,1	3,8	0,0	2,6	6,4	42,3
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	2	2	7 ⁵	1	2	0	2 ⁴	8	34 ⁵
	%		3,4	3,4	12,1	1,7	3,4	0,0	3,4	13,8	58,6
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	0	0	0	0	0	3	20	42 ⁵	0
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,1	47,6	100,0	0,0
Хронический эндометрит	абс.	69	3	7	40	5	6	0	0	4	4
	%		4,3	10,1	58,0	7,2	8,7	0,0	0,0	5,8	5,8
				p>0,05	p _{1–2} =0,003 χ ² =9,5 p _{1–5} <0,001 χ ² =35,9 p _{2–5} <0,001 χ ² =14,5 p _{3–5} <0,001 χ ² =28,4	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p _{1–4} <0,001 χ ² =45,4 p _{2–4} <0,001 χ ² =37,0 p _{3–4} <0,001 χ ² =27,6	p _{1–2} <0,001 χ ² =13,2 p _{1–5} <0,001 χ ² =13,0	p _{1–5} <0,001 χ ² =22,7 p _{2–5} <0,001 χ ² =25,9 p _{3–5} <0,001 χ ² =41,9

Сонографическую основу пролиферативного типа составляли ПЭ и ГЭ, без достоверных межгрупповых различий. Анализ ассоциированных с ХЭ признаков показал расширение полости матки в верхней трети за счет анэхогенного содержимого в 4,7% (при ТПБ, НГЭ, ХЭ). Вариант диспластического типа хронического воспаления (истончение эндометрия менее 7 мм, несоответствие толщины фазе МЦ на фоне повышения эхогенности в I фазе, гиперэхогенные включения в наружном контуре М-эхо, отсутствие четких контуров зоны стыка листков на фоне гипозэхогенного контура вокруг М-эхо) встречался сопоставимо часто при различных формах бесплодия.

В группе с ХЭ достоверно чаще отмечали неоднородность структуры, нечеткость наружного контура М-эхо, повышенную эхогенность линии стыка листков эндометрия – в два раза, чем с ТПБ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 14,5$), в 6,5 раз – с НГЭ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 28,4$) и БНГ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 35,9$).

Основу диспластического типа составлял фиброз стромы – практически у половины женщин с «тонким» эндометрием, что достоверно чаще, чем в остальных группах (БНГ, ТПБ, НГЭ), где случаи были единичны (3,3%) ($p < 0,05$). Истончение эндометрия в одноименной группе встречалось достоверно чаще в сравнении с остальными (ТПБ, НГЭ и ХЭ) (8,7%) – в пять раз ($p < 0,05$). Внутриматочные синехии выявляли только у женщин с БНГ и «тонким» эндометрием (4,5%).

Нормальную сонографическую картину при ХЭ определяли в восемь раз реже, чем в остальных группах ($p < 0,05$).

Результаты суммирования признаков изменений эндометрия в группах с бесплодием различного генеза в сонографические типы представлены в Таблице 19.

Суммирование сонографических стигм показало наличие пролиферативного типа (ПЭ/ГЭ) у 11,8% женщин. Ассоциированные с ХЭ признаки встречались у большинства женщин одноименной группы, в два раза чаще, чем при ТПБ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 40,5$), в 5,5 раз – БНГ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 50,1$) и НГЭ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 5,7$).

Таблица 19 – Типы нарушения состояния эндометрия по результатам сонографии

Группы		N	Пролиферативный	Ассоциированные с хроническим эндометритом признаки	Диспластический	Нормальная картина
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	7	5 ^{2,5}	19 ^{2,5}	22 ⁵
	%		13,2	9,4	35,8	41,5
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	10	28 ^{3,5}	7	33 ⁵
	%		12,8	35,9	9,0	42,3
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	4	10 ⁵	10 ⁴	34 ⁵
	%		6,9	17,2	17,2	58,6
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	0	0	42 ⁵	0
	%		0,0	0,0	100,0	0,0
Хронический эндометрит	абс.	69	10	51	4	4
	%		14,5	73,9	5,8	5,8
			p>0,05	p ₁₋₂ <0,001 χ ² =11,7 p ₁₋₅ <0,001 χ ² =50,1 p ₂₋₃ =0,017 χ ² =21,2 p ₂₋₅ <0,001 χ ² =40,5 p ₃₋₅ <0,001 χ ² =5,7	p ₁₋₂ <0,001 χ ² =14,3 p ₁₋₅ <0,001 χ ² =17,7	p ₁₋₅ <0,001 χ ² =22,8 p ₂₋₅ <0,001 χ ² =25,9 p ₃₋₅ <0,001 χ ² =41,9

Вариант диспластического типа ожидаемо доминировал у женщин с «тонким» эндометрием, при БНГ встречался практически в пять раз чаще, чем с ТПБ ($p=0,00$, $\chi^2=14,3$) и ХЭ ($p=0,00$, $\chi^2=17,7$). Нормальная сонографическая картина в группе с ХЭ отмечена достоверно реже, чем в остальных – в восемь раз (47,5%) ($p<0,05$).

4.2 Гистероскопическое исследование эндометрия

Выявленные при гистероскопии особенности эндометрия, позволяющие унифицировать доминантную архитектуру в различные визуальные типы (пролиферативный, диспластический тип и хроническое воспаление, норма), представлены в Таблице 20.

Частота визуальных проявлений ГЭ и ПЭ в группах была сопоставима, за исключением женщин с «тонким» эндометрием, в 23,2% – отмечена на фоне стигм воспаления. Микрополипы и неравномерная толщина слизистой у женщин с БНГ, ТПБ и НГЭ встречались без значимых межгрупповых различий.

Основу диспластического типа эндометрия составляли внутриматочные синехии (у 7,8% женщин с БНГ и «тонким» эндометрием) и параметры, трактуемые как истончение и бледность [у половины женщин с «тонким» эндометрием, практически в три раза реже – с БНГ ($p=0,01$, $\chi^2=11,8$) и 6,2% – в остальных группах].

Микрополипы на фоне хронического воспаления (отек стромы, гиперемия) в группе с ХЭ в сравнении с остальными отмечали достоверно чаще – практически в пять раз (31,9% против 6,6%) ($p<0,05$).

Истончение эндометрия вкупе с проявлениями хронического воспаления выявлено у четверти женщин с ХЭ и ТПБ, в пять раз реже – с НГЭ и БНГ (27,2% против 5,4%) ($p<0,05$). Неравномерную толщину слизистой матки на фоне воспаления в группах выявляли с сопоставимой частотой.

Таблица 20 – Гистероскопические маркеры типов нарушения состояния эндометрия

Группы		N	Пролиферативный			Диспластический		Признаки воспаления (отек стромы, гиперемия)			Нормальная гистероскопическая картина
			Полипы эндометрия	Гиперплазия эндометрия	Неравномерная толщина слизистой	Внутриматочные синехии	Истончение и бледность слизистой	Микрополипы	Неравномерная толщина слизистой	Истончение эндометрия	
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	10	6	2	2	10 ^{3,4}	2 ⁵	0	3 ^{2,5}	18
	%		18,9	11,3	3,8	3,8	18,9	3,8	0,0	5,7	34,0
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	15	4	4	0	5 ^{3,4}	7 ⁵	2	21 ³	20
	%		19,2	5,1	5,1	0,0	6,4	9,0	2,6	26,9	25,6
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	14	2	4	0	2	4 ⁵	5	3 ⁵	24
	%		24,1	3,4	6,8	0,0	3,4	6,9	8,6	5,2	41,4
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	0	0	0	5	22 ⁵	0	0	0	15
	%		0,0	0,0	0,0	11,9	52,4	0,0	0,0	0,0	35,7
на фоне воспаления											
Хронический эндометрит	абс.	69	8	8	0	0	6	22	6	19	0
	%		11,6	11,6	0,0	0,0	8,7	31,9	8,7	27,5	0,0
			p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p ₁₋₃ =0,01, χ^2 =6,8 p ₁₋₄ =0,01, χ^2 =11,8 p ₂₋₄ <0,001, χ^2 =33,1 p ₃₋₄ <0,001, χ^2 =31,9 p ₄₋₅ <0,001, χ^2 =26,4	p ₁₋₅ <0,001 χ^2 = 14,9 p ₂₋₅ <0,001 χ^2 = 12,1 p ₃₋₅ <0,001 χ^2 = 12,1	p>0,05	p ₁₋₂ <0,001, χ^2 =9,5 p ₁₋₅ <0,001, χ^2 =9,7 p ₂₋₃ <0,001, χ^2 =10,8 p ₃₋₅ <0,001, χ^2 =11,0	p>0,05

Визуальные признаки «нормального» эндометрия отмечали у 34,2% всех обследованных женщин.

В Таблице 21 представлены результаты суммирования однотипных гистероскопических признаков при исследовании эндометрия женщин с различным генезом бесплодия.

Таблица 21 – Типы изменений эндометрия по результатам гистероскопии

Группы		N	Пролиферативный	Диспластический	Хроническое воспаление	Норма
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	18	12 ^{2,3,4}	5 ²	18
	%		34,0	22,6	9,4	34,0
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	23	5 ⁴	30	20
	%		29,5	6,4	38,5	25,6
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	20	2 ⁴	12	24
	%		34,5	3,4	20,7	24,1
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	0	27	0	15
	%		0,0	64,3	0,0	35,7
Хронический эндометрит	абс.	69	0	0	69	0
	%		0,0	0,0	100,0	0,0
			p> 0,05	p ₁₋₂ =0,008 χ ² =7,4 p ₁₋₃ =0,003 χ ² =9,3 p ₁₋₄ <0,001 χ ² =16,8 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =46,8 p ₃₋₄ <0,001 χ ² =43,8	p ₁₋₂ <0,001 χ ² =13,6	p>0,05

Пролиферативный тип эндометрия выявлен у 32,7% женщин с бесплодием различного генеза, отсутствие визуальных изменений его структуры и толщины – 29,8%. Диспластический тип достоверно чаще определяли в группе с «тонким» эндометрием – в три раза, чем при БНГ (p=0,00, $\chi^2=16,8$), неоднократно – ТПБ и НГЭ (p<0,05). Признаки хронического воспаления эндометрия при гистероскопии

подтверждали у всех женщин одноименной группы, каждой пятой – с НГЭ, при ТПБ – в четыре раза чаще, чем БНГ ($p=0,00$, $\chi^2=13,6$).

Сравнительный анализ клинико–анамнестических факторов при различных типах эндометриальных реакций по данным гистероскопии представлен в Таблице 22.

Таблица 22 – Факторы, сочетанные с визуально различными типами нарушений состояния эндометрия

Группы			N	Неоднократные внутриматочные вмешательства	Ациклические кровянистые выделения	Трудности визуализации базальных, спиральных, аркуатных артерий матки
Бесплодие неясного генеза	Диспластический	абс.	12	9 ²	0	11 ²
		%		75,0	0,0	91,7
	Пролиферативный	абс.	18	1	2	2
		%		5,6	11,1	11,1
Трубно– перитонеальное бесплодие	Диспластический	абс.	5	5	1	4 ⁴
		%		100,0	20,0	80,0
	Пролиферативный	абс.	23	0	14	4
		%		0,0	60,9	17,4
Наружный генитальный эндометриоз	Диспластический	абс.	2	2	1	2
		%		100,0	50,0	100,0
	Пролиферативный	абс.	20	3	10	3
		%		15,0	50,0	15,0
«Тонкий эндометрий»	Диспластический	абс.	27	21	2	25
		%		77,8	7,4	92,6
	Пролиферативный	абс.	0	0	0	0
		%		0,0	0,0	0,0
Хронический эндометрит	Диспластический	абс.	6	6 ¹⁰	1	5 ¹⁰
		%		100,0	16,7	83,3
	Пролиферативный	абс.	16	2	5	3
		%		12,5	31,2	18,8
				p ₁₋₂ <0,001 χ ² =15,6	p>0,05	p ₁₋₂ <0,001 χ ² =19,0 p ₃₋₄ =0,01 χ ² =7,9 p ₉₋₁₀ =0,01 χ ² =17,3

Предпосылками визуального диспластического типа выступали неоднократные внутриматочные вмешательства: в анамнезе всех женщин с ТПБ, НГЭ, ХЭ и 77,8% – с «тонким» эндометрием. Представляется значимым роль этого фактора как предиктора сложности визуализации базальных, спиральных, аркуатных артерий матки: практически у всех женщин с «тонким» эндометрием, в группе с БНГ – в восемь раз чаще ($p=0,00$, $\chi^2=19,0$), в остальных – в 5,5 раз в сравнении с пролиферативным типом (14,9%) ($p<0,05$). Частота ациклических кровянистых выделений в группах достоверно не отличалась.

4.3 Патоморфологическое исследование эндометрия

Результаты исследования эндометрия, забор которого осуществляли на 7 день после подтверждения овуляции (в период «имплантационного окна») представлены в Таблице 23.

Варианты морфологического несоответствия эндометрия фазе «имплантационного окна» были представлены поздней стадией фазы пролиферации, ранней стадией фазы секреции, гипопластически–диспластическим типом, неполноценной секреторной трансформацией стромы с железами пролиферативного типа, с диссоциированным развитием желез.

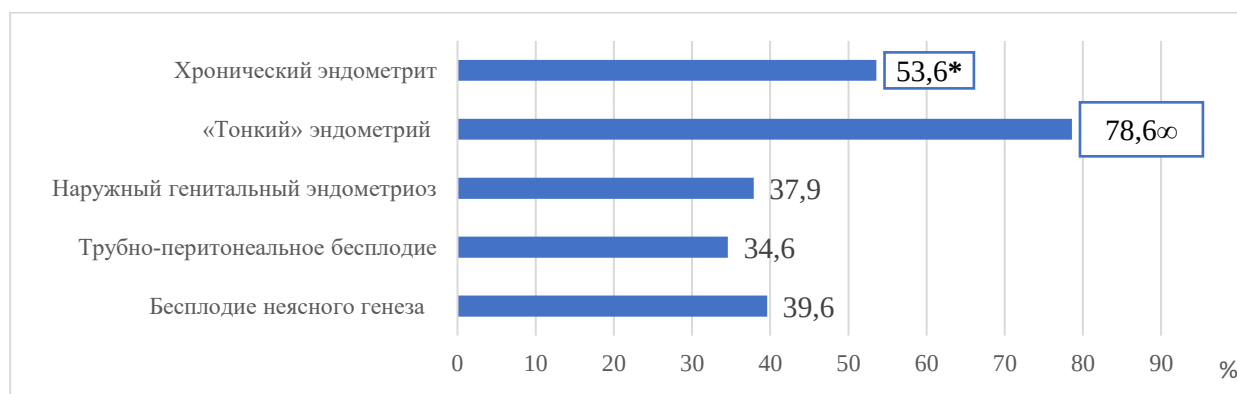
Признаки, соответствующие поздней стадии фазы пролиферации, были выявлены у 8,2% женщин, неполноценности секреторной трансформации стромы с железами пролиферативного типа – 11,1%, ранней стадии фазы секреции – 9,4% в группе с БНГ. В группах с БНГ, ТПБ и НГЭ хронометрическое соответствие структуры эндометрия средней стадии фазы секреции определено у 62,6% женщин, что достоверно чаще, чем с ХЭ – в полтора раза ($p<0,05$) и «тонким» эндометрием – в три раза ($p<0,05$). В группе с «тонким» эндометрием в период «окна имплантации» статистически значимо чаще, чем в остальных – в 5,4 раза выявляли гипопластически–диспластический тип, с асинхронностью созревания и нарушением распределения желез, очагами уплотнения стромы ($p<0,05$).

Таблица 23 – Морфологическое исследование биоптатов эндометрия в период «окна имплантации»

Группы		N	Поздняя стадия фазы пролиферации	Неполноценная секреторная трансформация стромы с железами пролиферативного типа	Средняя стадия фазы секреции	Неполноценная секреторная трансформация стромы с диссоциированным развитием желез	Гипопластически–диспластический тип эндометрия	Ранняя стадия фазы секреции
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	4	5	32 ⁴	0	7 ^{2,4}	5
	%		7,5	9,4	60,4	0,0	13,2	9,4
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	10	9	51 ^{4,5}	6	2 ^{4,5}	0
	%		12,8	11,5	65,4	7,7	2,6	0,0
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	3	8	36 ⁴	4	7 ⁴	0
	%		5,2	13,8	62,1	6,9	12,1	0,0
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	0	2	9 ⁵	3	28 ⁵	0
	%		0,0	4,8	21,4	7,1	66,7	0,0
Хронический эндометрит	абс.	69	5	11	32	6	15	0
	%		7,2	15,9	46,4	8,7	21,7	0,0
			p>0,05	p>0,05	p ₁₋₄ <0,001 χ ² =14,5 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =21,1 p ₂₋₅ =0,02 χ ² =5,4 p ₃₋₄ <0,001 χ ² =16,3 p ₄₋₅ <0,001 χ ² =6,9	p>0,05	p ₁₋₂ =0,02, χ ² =5,6 p ₁₋₄ <0,001, χ ² =28,8 p ₂₋₄ <0,001, χ ² =59,8 p ₂₋₅ <0,001 χ ² =13,2 p ₃₋₄ <0,001 χ ² =31,9 p ₄₋₅ <0,001 χ ² =22,2	p>0,05

При ХЭ подобные заключения встречались втрое реже ($p < 0,001$, $\chi^2 = 22,2$), в группах с БНГ и НГЭ – практически в пять раз ($p < 0,05$), в единичных случаях – ТПБ.

Данные о соответствии морфологических параметров эндометрия секреторной фазе МЦ женщин с бесплодием различного генеза представлены на Рисунке 7.



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): ∞ – от всех групп, * – от группы с ТПБ $p_{1-4} < 0,001$, $\chi^2 = 14,5$; $p_{2-4} < 0,001$, $\chi^2 = 21,1$; $p_{2-4} = 0,03$, $\chi^2 = 5,4$; $p_{3-4} = 0,00$, $\chi^2 = 16,3$; $p_{4-5} = 0,009$, $\chi^2 = 6,9$

Рисунок 7 – Частота несоответствия морфологических признаков эндометрия средней стадии фазы секреции

В группе с «тонким» эндометрием выявлена достоверно большая частота дисхронизма эндометрия – в два раза, чем с БНГ, ТПБ и НГЭ ($p < 0,05$), в полтора раза – при ХЭ ($p < 0,05$).

В Таблице 24 описаны гистологические стигмы хронического воспаления в образцах эндометрия женщин с бесплодием различного генеза. Морфологическая верификация ХЭ имела место у 68,1% женщин, значимо реже, чем с НГЭ – в три раза ($p < 0,001$), практически в два раза – с ТПБ ($p < 0,001$), в разы – с БНГ ($p < 0,001$).

Степень выраженности воспалительного процесса (диффузная инфильтрация стромы и просвета желез лимфоцитами, нейтрофилами, плазматическими клетками и их очаговыми скоплениями; фибропластическая трансформация клеток стромы с различным объемом скоплений фибробластов и фиброза стромы, склероза сосудов) различалась.

Таблица 24 – Морфологические особенности эндометрия при хроническом воспалении

Группы		N	Диффузная лимфоцитарная инфильтрация стромы и клеток эндометрия, очаговые лимфоидные скопления (фолликулы), очаговый фиброз стромы	Диффузная лимфоцитарная инфильтрация стромы и клеток эндометрия, микрополипы	Очаговая воспалительная инфильтрация стромы, гипопластически–диспластический тип	Всего хронический эндометрит	Хронический эндометрит +полип эндометрия	Хронический эндометрит+ гиперплазия эндометрия
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	0	2 ⁴	3 ^{2,4}	5 ^{2,4}	0	0
	%		0,0	3,8	5,7	9,4	0,0	0,0
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	2	7 ⁴	21 ³	30 ⁴	2	1 ⁴
	%		2,6	9,0	26,9	38,5	2,6	1,3
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	5	4 ⁴	3 ⁴	12 ⁴	2	1 ⁴
	%		8,6	6,9	5,2	20,7	3,4	1,7
Хронический эндометрит	абс.	69	3	22	22	47	8	8
	%		4,3	31,9	31,9	68,1	11,6	11,6
			p>0,05	p1–4<0,001 χ ² =14,9 p2–4<0,001 χ ² =12,1 p3–4<0,001 χ ² =12,1	p1–2<0,001 χ ² =9,5 p2–4<0,001 χ ² =12,6 p2–3<0,001 χ ² =10,8 p3–4<0,001 χ ² =14,2	p1–2<0,001 χ ² =17,4 p1–4<0,001 χ ² =42,0 p2–4<0,001 χ ² =12,9 p3–4<0,001 χ ² =28,5	p>0,05	p2–4=0,01 χ ² =6,8 p3–4=0,04 χ ² =4,7

Констатация полной патоморфологической картины ХЭ [у трети женщин с ХЭ и 6,6% в остальных группах ($p < 0,05$)] базировалась на выявлении диффузной полиморфноклеточной воспалительной инфильтрации, преимущественно, плазмócитами и лимфоцитами, и ворсинчатых и микрососочковых разрастаний поверхностного эпителия размером до одного мм, фибропластических изменений стромы, склероза сосудов.

ИГХ верификация ХЭ состоялась на основании повышенной экспрессии в цитоплазме и ядрах желез и стромы эндометрия маркеров: [CD138+ (более 20 клеток в поле зрения), CD4+ (более 20–25 клеток в поле зрения), CD8+ (более 20–30 клеток в поле зрения)] [82].

При неполной морфологической форме ХЭ (5,3%) выявлена лимфогистиоцитарная инфильтрация стромы эндометрия в виде хаотичного распределения скоплений множественных лимфоидных фолликулов в периваскулярных и перигландулярных зонах, очаговый фиброз стромы. Отличием ИГХ профиля данного типа хронического воспаления (лимфофолликулярного) являлась повышенная экспрессия в строме эндометрия в дополнение к вышеперечисленным маркера HLA–DR (больше 10 клеток в поле зрения), определяемого достоверно чаще, чем при другой описательной картине воспаления ($p < 0,05$).

К неполной морфологической форме ХЭ также относили гипопластически–диспластический тип воспаления – в образцах эндометрия трети женщин с ХЭ и ТПБ, достоверно реже (5,4%) – с БНГ и НГЭ ($p < 0,05$). Морфогенез этого варианта заключался в очаговой воспалительной инфильтрации и выраженной фибропластической трансформации стромы, наличии плотных «муфт» фибробластов вокруг желез со скоплением в просвете отдельных лимфоцитов. Инфильтрация стенок сосудов и сужение просвета приводили к нарушению микроциркуляции и гипоксии. Изменения экстрацеллюлярного матрикса, ангиогенеза и клеточного микроокружения дополняли дистрофические изменения покровных эпителиоцитов и клеток желез, стромы эндометрия.

При ИГХ исследовании в образцах с плотными лимфоидными скоплениями экспрессию CD138+ выявляли только у двух третей женщин.

В Таблице 25 представлены результаты морфологических исследований биоптатов эндометрия, кроме образцов с хроническим воспалением. Морфологически нормальный эндометрий выявлен в 36,7% образцов, удельный вес ПЭ (железистый, железисто-фиброзный) в выборке составил 12,7%, ГЭ без атипии (простая железистая) – 3,6%.

Таблица 25 – Морфологические диагнозы при исследовании образцов эндометрия без хронического воспаления

Группы		N	Отсутствие патологии	Полип эндометрия	Гиперплазия эндометрия	Очаговый фиброз стромы
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	27	10	6	5 ⁴
	%		50,9	18,8	11,3	9,4
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	26	14	3	5 ⁴
	%		33,3	18,0	3,8	6,4
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	23	14	2	7 ⁴
	%		39,7	24,1	3,4	12,1
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	12	0	0	30
	%		28,6	0,0	0,0	71,4
Хронический эндометрит	абс.	69	22	0	0	0
	%		31,9	0,0	0,0	0,0
			p>0,05	p>0,05	p>0,05	p ₁₋₄ <0,001 χ^2 =38,7 p ₂₋₄ <0,001 χ^2 =55,9 p ₃₋₄ <0,001 χ^2 =36,8

В группе с «тонким» эндометрием достоверно чаще, чем в других (9,3%) (p<0,05) отмечали очаговую фибропластическую трансформацию стромы с нарушением архитектоники, клубки фиброзированных сосудов, перигландулярное утолщение базальных мембран.

4.3.1 Эффективность оценки эндометрия при эхографии и гистероскопии в сравнении с патоморфологическим исследованием

В Таблице 26 приведены данные о встречаемости нормального эндометрия в выборке женщин с повторными неудачами ЭКО различными методами.

Таблица 26 – Частота выявления нормального эндометрия

Группы		N	Сонография	Гистероскопия	Морфология
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	22 ⁵	18	27
	%		41,5	34,0	50,9
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	33 ⁵	20	26
	%		42,3	25,6	33,3
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	34 ⁵	24	23
	%		58,6	41,4	39,7
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	0	15	12
	%		0,0	35,7	28,6
Хронический эндометрит	абс.	69	4	0	22
	%		5,8	0,0	31,9
			p ₁₋₅ <0,001, χ ² =22,8 p ₂₋₅ <0,001, χ ² =25,9 p ₃₋₅ <0,001, χ ² =41,9	p>0,05	p>0,05

В группах с НГЭ, БНГ и ТПБ достоверно чаще (47,5%), чем с ХЭ выявляли картину сонографической нормы ($p < 0,001$). Визуальная картина нормального эндометрия определена у 34,2% женщин. Количество заключений о морфологической норме превосходило аналогичное результатов инструментальных исследований в группах с БНГ и ХЭ, у женщин с «тонким» эндометрием – совпадали с данными гистероскопии в отличие от остальных групп.

Результаты сравнения эффективности сонографического и патоморфологического выявления эндометриальных повреждений (пролиферативный и диспластический типы, хроническое воспаление) и нормального варианта приведены в Таблице 27.

Таблица 27 – Сравнительный анализ эффективности сонографического и патоморфологического исследований эндометрия

Группы		N	Пролиферативный тип		Ассоциированные с хроническим эндометритом признаки		Диспластический тип	Отсутствие изменений	
			Гипо–		Гипо–	Гипер–	Гипер–	Гипо–	Гипер–
			– диагностика				– диагностика		
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	9	0	0	0	14 ^{2,3,5}	5 ^{4,5}	0
	%		17,0	0,0	0,0	0,0	26,4	9,4	0,0
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	7	0	2	0	2 ⁴	0	7
	%		9,0	0,0	2,6	0,0	2,6	0,0	9,0
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	12	0	2	0	3 ⁴	0	11
	%		20,7	0,0	3,4	0,0	5,2	0,0	19,0
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	0	0	0	0	14 ⁵	12	0
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	33,3	28,6	0,0
Хронический эндометрит	абс.	69	0	10	0	4	4	18	0
	%		0,0	14,5	0,0	5,8	5,8	26,1	0,0
			p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p ₁₋₂ =0,002 χ ² =16,7 p ₁₋₃ =0,003 χ ² =9,6 p ₁₋₅ =0,002 χ ² =10,1 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =22,4 p ₃₋₄ <0,001 χ ² =13,7 p ₄₋₅ <0,001 χ ² =14,6	p ₁₋₄ =0,03 χ ² =5,8 p ₁₋₅ =0,01 χ ² =7,5	p>0,05

Частота гиподиагностики пролиферативного типа при сонографической оценке эндометрия в группах (БНГ, ТПБ, НГЭ) достоверно не отличалась (15,6%), ложноположительные случаи – определены в группе с ХЭ (14,5%).

Эпизоды гипердиагностики «тонкого» эндометрия выявлены у трети женщин. В группах с ТПБ, НГЭ и ХЭ ложноинформативные заключения встречались достоверно реже – в семь раз ($p < 0,05$), при БНГ – у четверти женщин ($p < 0,05$).

Ошибочные заключения об отсутствии изменений эндометрия выявляли сопоставимо часто при «тонком» эндометрии и ХЭ [27,3% против 9,4% при БНГ ($p < 0,05$)], гипердиагностика нормальной морфологической картины – в 14,0% в группах с ТПБ и НГЭ. Наименьшая частота ошибочных заключений была сделана в пользу ХЭ.

Результаты анализа соответствия гистероскопических заключений морфологическим (неизмененный эндометрий, пролиферативный и диспластический типы, ХЭ) представлены в Таблице 28.

Частота различных оценок состояния эндометрия в группах не имела достоверных различий, за исключением хронического воспаления, ложно диагностируемого при гистероскопии в 31,9%.

В группах в БНГ, ТПБ, НГЭ частота визуальной констатации хронического воспаления соответствовала морфологической.

Таблица 28 – Сравнительный анализ результатов морфологического исследования и гистероскопии при диагностике различных типов нарушений состояния эндометрия

Группы			N	Норма	Пролиферативный	Хронический эндометрит	Диспластический
Бесплодие неясного генеза	гистероскопия	абс.	53	18	18	5	12
		%		34,0	34,0	9,4	22,6
	морфология	абс.	53	27	16	5	5
		%		50,9	30,2	9,4	9,4
Трубно– перитонеальное бесплодие	гистероскопия	абс.	78	20	23	30	5
		%		25,6	29,5	38,5	6,4
	морфология	абс.	78	26	17	30	5
		%		33,3	21,8	38,5	6,4
Наружный генитальный эндометриоз	гистероскопия	абс.	58	24	20	12	2
		%		41,4	34,5	20,7	3,4
	морфология	абс.	58	23	16	12	7
		%		39,7	27,6	20,7	12,1
«Тонкий» эндометрий	гистероскопия	абс.	42	15	0	0	27
		%		35,7	0,0	0,0	64,3
	морфология	абс.	42	12	0	0	30
		%		28,6	0,0	0,0	71,4
Хронический эндометрит	гистероскопия	абс.	69	0	0	69	0
		%		0,0	0,0	100,0	0,0
	морфология	абс.	69	22	0	47	0
		%		31,9	0,0	68,1	0,0

Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Практически у трети женщин с ХЭ не выявлена ИГХ экспрессия маркеров хронического воспаления.

Анализ частоты ложной верификации типов эндометриальных реакций в группах женщин с различными формами бесплодия и повторными неудачами ЭКО по результатам гистероскопической визуализации представлен в Таблице 29.

Следует отметить меньшее количество не соответствующих истинной морфологической картине гистероскопических заключений в отличие от результатов сонографии.

Случаи гипердиагностики изменений эндометрия пролиферативного типа встречались у 6,1% женщин с ТПБ, БНГ и НГЭ.

Частота ложноотрицательных случаев диспластического типа имела место в 5,5% при НГЭ и в группе с «тонким» эндометрием. Ложное заключение о диспластическом типе эндометрия было сделано у 13,2% женщин с БНГ.

Обращает внимание факт гипердиагностики хронического воспаления в одноименной группе практически у трети женщин.

В группе с ТПБ недостоверные (морфологически неподтвержденные) заключения об отсутствии визуальных изменений встречались в четыре раза реже, чем при ХЭ ($p=0,00$, $\chi^2=13,9$).

Таблица 29 – Сравнительный анализ эффективности методов диагностики (гистероскопии и патоморфологического) различных типов нарушения состояния эндометрия

Группы		N	Пролиферативный	Диспластический		Ассоциированные с хроническим эндометритом признаки	Отсутствие изменений эндометрия	
				Гипер–	Гипо–		Гипер–	Гипер–
			– диагностика					
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	2	0	7	0	9	0
	%		3,8	0,0	13,2	0,0	17,0	0,0
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	6	0	0	0	6 ⁵	0
	%		7,7	0,0	0,0	0,0	7,7	0,0
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	4	5	0	0	0	1
	%		6,9	8,6	0,0	0,0	0,0	1,7
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	0	3	0	0	0	3
	%		0,0	7,1	0,0	0,0	0,0	7,1
Хронический эндометрит	абс.	69	0	0	0	22	22	0
	%		0,0	0,0	0,0	31,9	31,9	0,0
			p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p ₂₋₅ <0,001 χ ² =13,9	p>0,05

Гипердиагностика гистероскопической «нормы» выявлена в 4,4%.

Результаты сравнительного анализа эффективности методов оценки состояния эндометрия представлены в Таблице 30.

Таблица 30 – Характеристики информативности методов диагностики

	Чувствительность	Специфичность	Прогностическая ценность положительного результата	Прогностическая ценность отрицательного результата	Диагностическая эффективность теста
Визуальная норма					
Сонография	76,0%	84,0%	86,0%	27,0%	79,0%
Гистероскопия	75,0%	95,0%	96,0%	32,0%	82,0%
Пролиферативный тип					
Сонография	64,0%	76,0%	83,0%	47,0%	68,0%
Гистероскопия	100,0%	84,0%	80,0%	0,0%	90,0%
Диспластический тип					
Сонография	100,0%	69,0%	56,0%	0,0%	78,0%
Гистероскопия	85,0%	87,0%	87,0%	15,0%	86,0%
Хроническое воспаление					
Сонография	96,0%	96,0%	96,0%	4,0%	96,0%
Гистероскопия	100,0%	84,0%	81,0%	0,0%	90,0%

Определены большие диагностические возможности гистероскопии в констатации визуальных характеристик «нормы», пролиферативного и диспластического типа эндометрия.

В диагностике хронического воспаления большую чувствительность имела гистероскопия, диспластического – сонография.

4.4. Метаболические и гормональные особенности гомео–статуса женщин с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения

Существенных отклонений при оценке параметров гомеостаза женщин с бесплодием различного генеза (клинический и биохимический анализ, гемостазиограмма) от нормативных не выявлено.

Сравнительный анализ сывороточного уровня витамина D в группах обследованных женщин представлен в Таблице 31.

Таблица 31 – Содержание 25(OH)D в сыворотке крови (нг/мл)

Группы		N	Норма	Недостаток	Дефицит
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	7	20	26
	%		13,2	37,7	49,1
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	78	15	27 ⁴	36
	%		19,2	34,6	46,2
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	10	24	24
	%		17,2	41,4	41,4
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	5	24	13
	%		11,9	57,1	31,0
Хронический эндометрит	абс.	69	18	29	22
	%		26,1	42,0	31,9
			p>0,05	p ₂₋₄ =0,018 χ ² =5,6	p>0,05

Уровень 25(OH)D в периферической крови, соответствующий нормативным значениям, имели 17,5% всех женщин, дефицит – 40,3%. В группе с «тонким» эндометрием недостаток витамина D выявляли достоверно чаще, чем с ТПБ (p=0,018, $\chi^2=5,6$).

Данные о концентрации половых стероидных гормонов в среднюю стадию фазы секреции представлены в Таблице 32.

Таблица 32 – Содержание в сыворотке крови эстрадиола и прогестерона

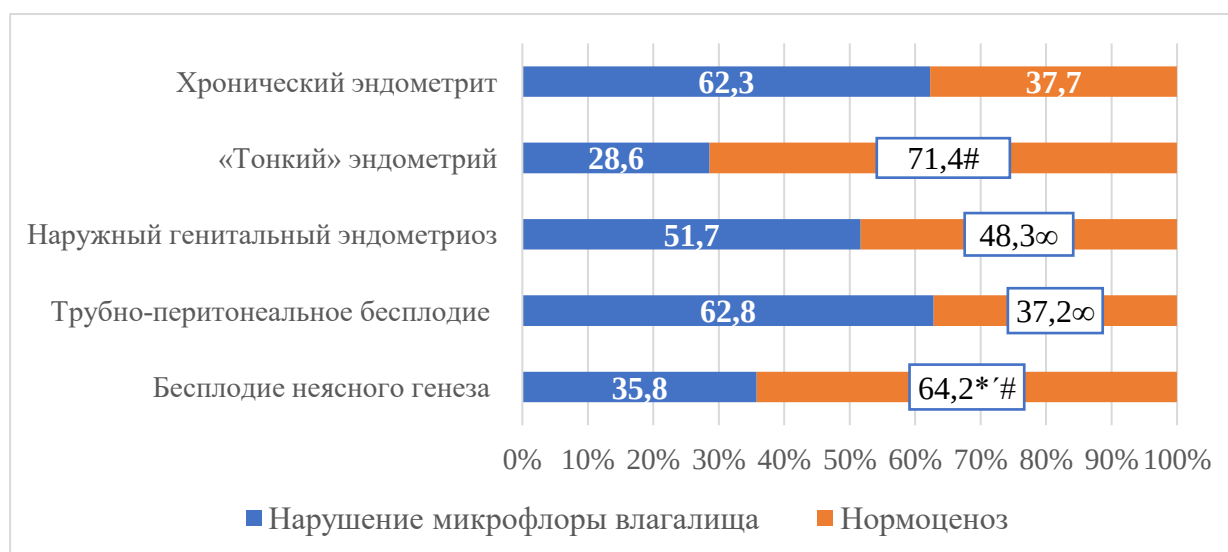
Группы	N	Эстрадиол, пмоль/л	Прогестерон, нмоль/л
Бесплодие неясного генеза	53	459,4±40,5	45,2± 4,7
Трубно–перитонеальное бесплодие	78	460,8±57,4	39,8±4,4
Наружный генитальный эндометриоз	58	447,7±38,7	42,5±4,7
«Тонкий» эндометрий	42	470,6±42,5	39,2±3,7
Хронический эндометрит	69	468,0±67,5	40,8±5,6

Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено (p>0,05)

Показатели половых стероидных гормонов женщин всех групп в среднюю стадию фазы секреции достоверно не отличались и соответствовали пределам референтных значений.

4.5. Микробиологическое исследование биоценоза нижних отделов генитального тракта и эндометрия

Сравнительный анализ особенностей биоценоза влагалища женщин с бесплодием различного генеза представлен на Рисунке 8.



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): * – от группы с ТПБ, ** – НГЭ, ∞ – «тонким» эндометрием, # – ХЭ

(p_{1-2} (БНГ против группы с ТПБ) = 0,00, $\chi^2 = 9,2$)

p_{1-5} (БНГ против ХЭ) = 0,004, $\chi^2 = 8,4$

p_{2-4} (ТПБ против группы с «тонким» эндометрием) $< 0,001$, $\chi^2 = 12,8$

$p_{3-4} = 0,02$ (НГЭ против с «тонким» эндометрием), $\chi^2 = 5,4$

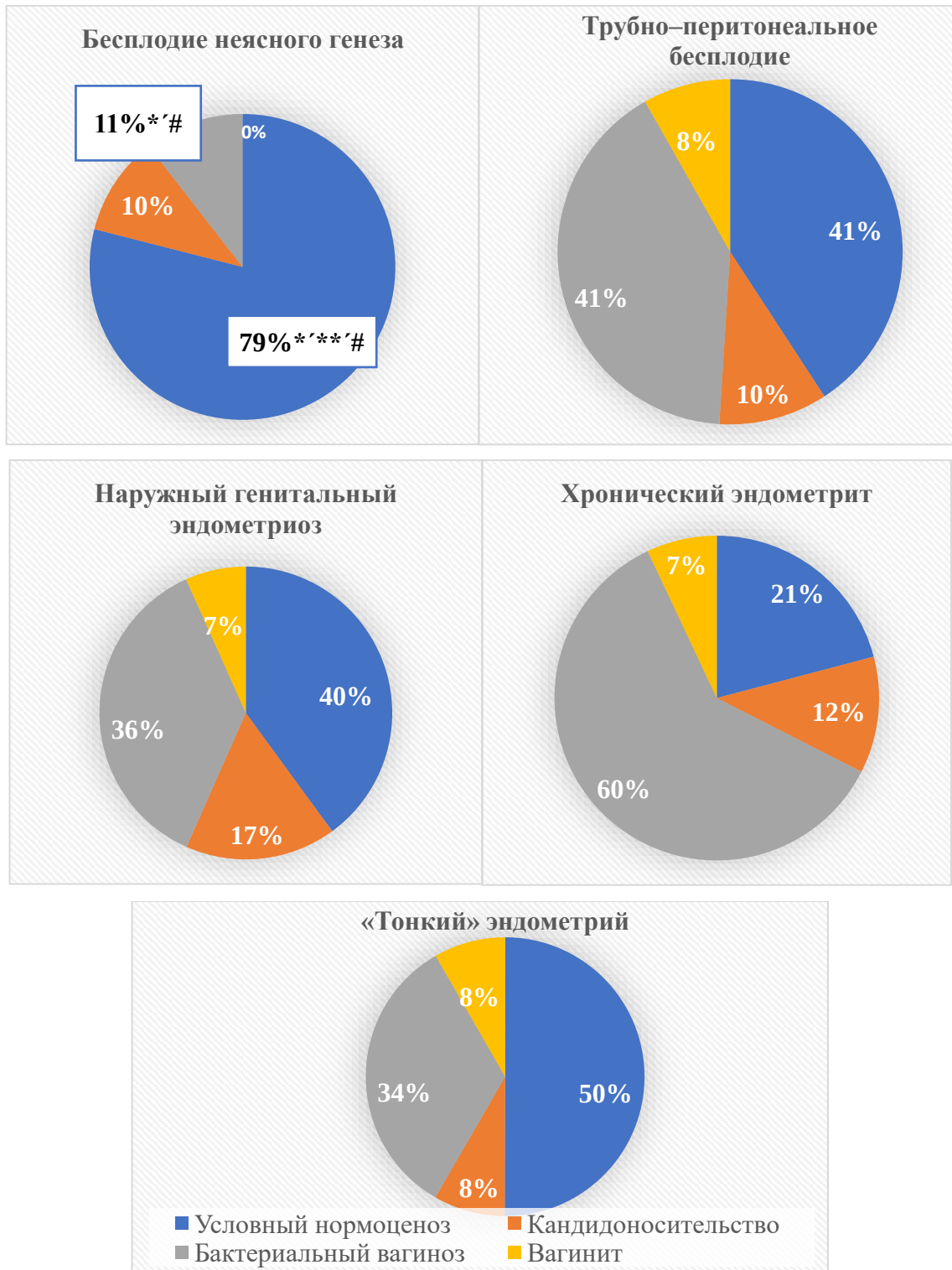
p_{4-5} (в группе с «тонким» эндометрием против группы с ХЭ) $< 0,001$, $\chi^2 = 11,9$)

Рисунок 8 – Характеристики вагинального биотопа (бактериоскопия)

Достоверными отличиями женщин с ХЭ и ТПБ оказались нарушения вагинальной микробиоты – в два раза чаще, чем с БНГ и «тонким» эндометрием ($p < 0,05$). Для детализации состава биоценоза влагалища использовали метод ПЦР–РВ с тест–системой «Фемофлор–16».

Анализ вагинального биотопа женщин с бесплодием различного генеза (Рисунок 9) показал преобладание картины «условного нормоценоза» с БНГ – практически в два раза, чем с ТПБ, НГЭ ($p < 0,05$), четыре – ХЭ ($p < 0,05$). Частота в

образцах биоматериала *Candida* spp. в титре 10^3 ГЭ/мл на фоне доминанты лактобациллярных штаммов в группах была сопоставима (11,5%). Достоверным отличием женщин с ХЭ была значительная частота инфектов, ассоциированных с БВ, в шесть раз в отличие от БНГ ($p < 0,05$).



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): *– от группы с ТПБ, **– НГЭ, ∞– «тонким» эндометрием», # – ХЭ

Рисунок 9 – Характеристики микробиоты влагалища

Признаки вагинита обнаружены у 7,5% женщин.

Картина состава вагинального биотопа женщин с «условным нормоценозом» представлена на Рисунке 10.

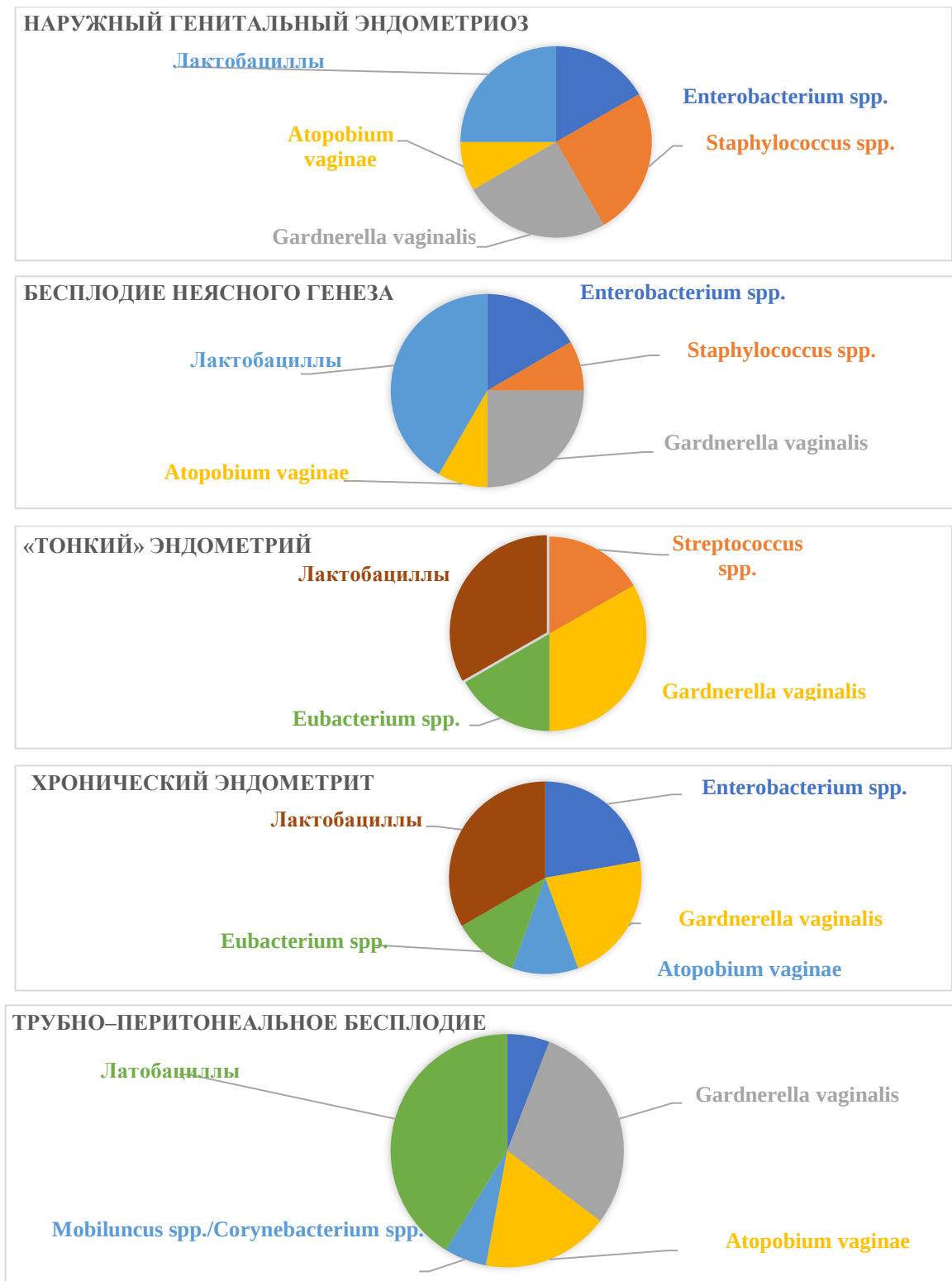


Рисунок 10 – Спектр микроорганизмов при условном нормоценозе влагалища

Медиана ОБМ в группах женщин с «условным нормоценозом» влагалища колебалась от 7,1 до 7,25 ГЭ/образец.

Удельный вес выявляемых микроорганизмов был невысоким, медиана абсолютного количества варьировала от 2,84 до 3,88 ГЭ/образец.

Суммарная доля анаэробов с преобладанием *G. vaginalis* превышала показатель аэробов (*Enterobacterium* spp.).

Медиана суммарной доли факультативно–анаэробных микроорганизмов колебалась от 0,01 до 0,11%, облигатно–анаэробных микроорганизмов – в пределах 0,47–1,29%.

Грибы рода *Candida* spp., микоплазмы и уреоплазмы в исследованных образцах вагинального отделяемого не выявляли.

Среди женщин с картиной БВ по результатам анализа состава микробиоты влагалища (Таблица 33) статистически значимо больший показатель представителей аэробной флоры *Staphylococcus* spp. определен в группе с «тонким» эндометрием – практически в семь раз в сравнении с ТПБ ($p=0,02$, $\chi^2=8,5$).

Содержание ДНК анаэробных представителей в группах значимо не отличалось, *Mycoplasma* spp. – оказалось достоверно выше при ХЭ – практически в пять раз в сравнении с НГЭ ($p=0,03$, $\chi^2=5,5$).

Частота выявления в группах дрожжеподобных грибов рода *Candida* spp. и микробных микстов была сопоставима.

Таблица 33 – Спектр микроорганизмов в вагинальном содержимом женщин с картиной бактериального вагиноза (диагностика при использовании тест–системы Фемофлор–16, метод ПЦР–РВ)

Группы		N	Enterobacterium spp.	Streptococcus spp.	Staphylococcus spp.	Gardnerella vaginalis	Atopobium vaginae	Eubacterium spp.	Peptostreptococcus spp.	Mobiluncus spp./ Corynebacterium spp.	Mycoplasma spp	Ureaplasma urealyticum/ parvum	Candida spp.	Микробные миксты
			аэробы			анаэробы					условные патогены		грибы	
Бесплодие неясного генеза	абс.	2	1	0	0	2	2	0	2	0	2	1	1	2
	%		50,0	0,0	0,0	100,0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	50,0	50,0	100,0
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	20	3	2 ⁴	2	11	9	0	0	4	6	5	4	12
	%		15,0	10,0	10,0	55,0	45,0	0,0	0,0	20,0	30,0	25,0	20,0	60,0
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	11	2	2	0	0	3	1	0	3	1 ⁵	3	4	3
	%		18,2	18,2	0,0	0,0	27,3	9,1	0,0	27,3	9,1	27,3	36,4	27,3
«Тонкий» эндометрий	абс.	4	0	3	0	4	0	2	0	0	2	0	1	2
	%		0,0	75,0	0,0	100,0	0,0	50,0	0,0	0,0	50,0	0,0	25,0	50,0
Хронический эндометрит	абс.	26	4	5	7	18	7	2	3	4	13	9	11	16
	%		15,4	19,2	26,9	69,2	26,9	7,7	11,5	15,4	50,0	34,6	42,3	61,5
			p>0,05	p1–2= 0,02 χ2=8,5	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p3–5=0,03 χ2=5,5	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Представляют интерес микробиологические характеристики различных отделов генитального тракта женщин в зависимости от состояния биотопа влагалища.

В Таблице 34 приведены результаты комплексного исследования биотопов при нарушении микробиоты влагалища обследованных женщин (ПЦР–диагностика и бактериологическое исследование эндоцервикса, ПЦР–РВ и бактериологическое исследование образцов эндометрия).

Таблица 34 – Особенности контаминации отделяемого цервикального канала и эндометрия при нарушении микробиоты влагалища

Группы		N	в цервикальном канале			в эндометрии	
			Отсутствие инфектов	Условно— патогенные штаммы в значимом титре	Инфекции, передаваемые половым путем	Отсутствие инфектов	Нарушение микробиоты
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	9	6 ^{2,5}	4	12 ⁴	7 ⁵
	%		17,0	11,3	7,5	22,6	13,2
Трубно— перитонеальное бесплодие	абс.	78	14	25 ⁴	10	30 ⁴	19
	%		17,9	32,1	12,8	38,5	24,4
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	8	16 ⁴	6	15 ⁴	15
	%		13,8	27,6	10,3	25,9	25,9
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	6	4 ⁵	2	2 ⁵	10
	%		14,3	9,5	4,8	4,8	23,8
Хронический эндометрит	абс.	69	13	23	7	19	24
	%		18,8	33,3	10,1	27,5	34,8
			p>0,05	p ₁₋₂ =0,007 χ ² =7,5 p ₁₋₅ <0,01 χ ² =13,8 p ₂₋₄ =0,006 χ ² =7,5 p ₃₋₄ <0,001 χ ² =35,7 p ₄₋₅ =0,005 χ ² =8,0	p>0,05	p ₁₋₄ =0,02 χ ² =6,0 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =15,8 p ₃₋₄ =0,006 χ ² =7,7 p ₄₋₅ =0,002 χ ² =8,8	p ₁₋₅ =0,007 χ ² =7,4

Показатели ИППП у женщин с бесплодием значимо не отличались. В группах с ХЭ и ТПБ в три раза чаще, чем с БНГ и «тонким» эндометрием ($p<0,05$) отмечали контаминацию цервикального канала условно–патогенными штаммами в высоких диагностических титрах. Женщин с ХЭ отличала достоверно большая частота нарушений микробиоты эндометрия – в 2,6 раза, чем с БНГ ($p=0,007$, $\chi^2=7,4$).

В выборке с нарушением вагинальной микробиоты стерильные посевы цервикального отделяемого выявлены у 16,4% женщин, биоптатов эндометрия – 4,8% с «тонким» эндометрием и четверти – остальных групп ($p<0,05$).

Особенности контаминации генитального тракта женщин с нормоценозом влагалища представлены в Таблице 35.

Таблица 35 – Особенности контаминации цервикального отделяемого и эндометрия при нормоценозе влагалища

Группы		N	в цервикальном канале			в эндометрии	
			Отсутствие инфектов	Условно– патогенные штаммы в значимом титре	Инфекции, передаваемые половым путем	Отсутствие инфектов	Нарушение микробиоты
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	26 ^{2,3,5}	4	4	0	0
	%		49,1	7,5	7,5	0,0	0,0
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	78	20 ⁴	5	4	18 ⁴	11
	%		25,6	6,4	5,1	23,1	14,1
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	16 ⁴	5	7	23 ⁵	5
	%		27,6	8,6	12,1	39,7	8,6
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	23 ⁵	4	3	24 ⁵	6
	%		54,8	9,5	7,1	57,1	14,3
Хронический эндометрит	абс.	69	14	4	8	12	14
	%		20,3	5,8	11,6	17,4	20,3
			p1–2=0,006 χ2=7,5 p1–3=0,02 χ2=5,4 p1–5<0,001 χ2=11,2 p2–4=0,002 χ2=10,0 p3–4=0,006 χ2=7,5 p4–5<0,001 χ2=13,9	p>0,05	p>0,05	p2– 4<0,001 χ2=13,9 p3– 5<0,001 χ2=7,8 p4– 5<0,001 χ2=18,8	p>0,05

Достоверным отличием в группах с «тонким» эндометрием и БНГ оказалось преобладание стерильных посевов отделяемого цервикального канала (51,9% против 24,5%, $p < 0,05$) в сравнении с остальными группами.

В выборке женщин с нормоценозом влагалища частота ИППП, микробной контаминации отделяемого цервикального канала и нарушений микробиоты эндометрия достоверных межгрупповых различий не было. Отсутствие патогенных инфектов (лактобациллярный тип микробиоты эндометрия) выявлен более чем у половины женщин с «тонким» эндометрием, достоверно реже – в 2,5 раза, чем в группе с ТПБ ($p < 0,001$), при НГЭ – в два раза чаще, чем при ХЭ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 7,8$).

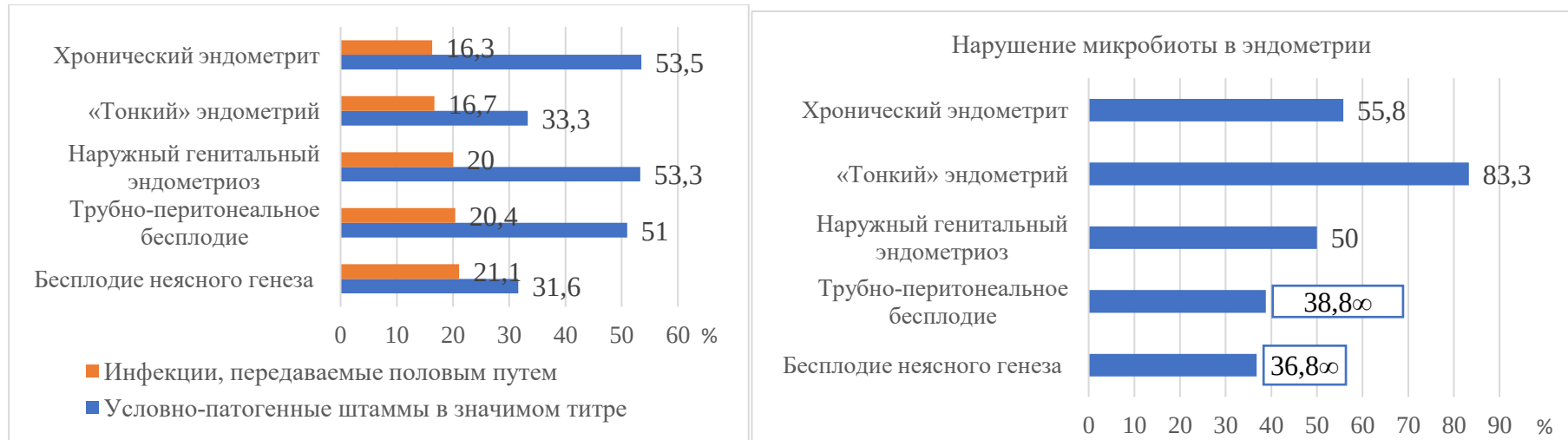
Структура вариантов контаминации биотопа эндоцервикса и эндометрия при различной микробиоте влагалища (нарушении и нормоценозе суммарно) представлена на Рисунках 11–12.

При нарушении микроценоза влагалища нелактобациллярный профиль эндометрия в группе с «тонким» эндометрием выявляли достоверно чаще – практически в два раза, чем при БНГ ($p = 0,01$, $\chi^2 = 6,4$) и ТПБ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 7,6$).

Достоверных отличий в частоте инфицирования отделяемого цервикального канала условно–патогенными микроорганизмами в значимых диагностических титрах ($> 10^5$) в группах не выявлено.

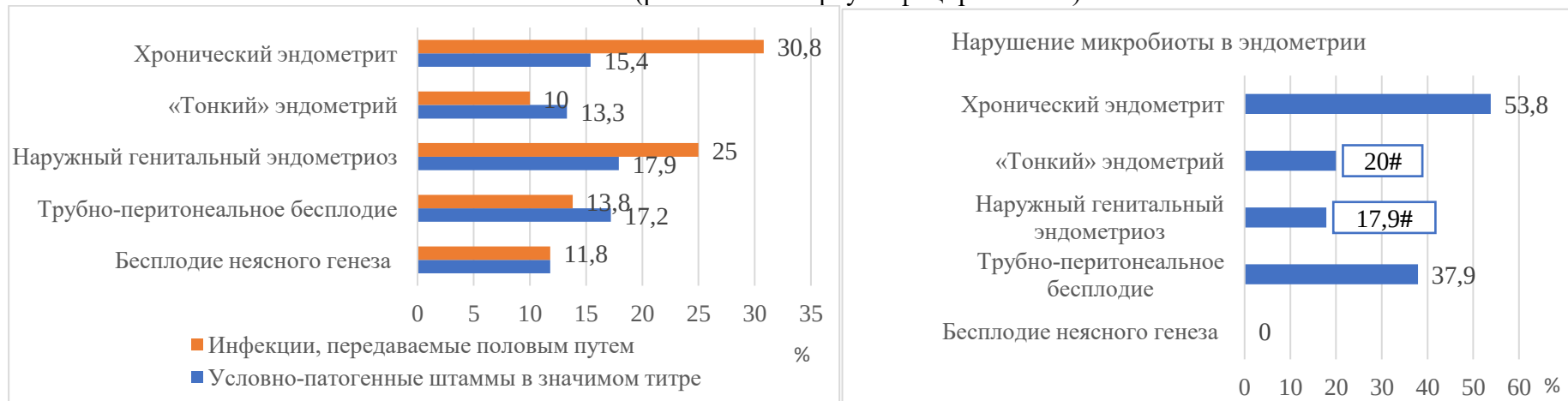
Показатели абсолютных патогенов при ПЦР–диагностике (хламидийная инфекция) и условно-патогенных в титрах более 10^4 (уреа–/микоплазменная инфекция) в группах статистически значимо не отличались.

Анализ биотопов отделов генитального тракта женщин с нормоценозом влагалища показал отсутствие инфектов в отделяемом цервикального канала в 66,6%, контаминацию – 15,1%.



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): ∞ – от группы с «тонким» эндометрием

Рисунок 11 – Характеристики биотопов отделяемого цервикального канала и эндометрия при нарушении микробиоты влагалища (расчет на выборку инфицированных)



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): # – от группы с ХЭ

Рисунок 12 – Характеристики биотопов отделяемого цервикального канала и эндометрия при нормоценозе влагалища (расчет на выборку инфицированных)

Достоверным отличием женщин с «тонким» эндометрием оказалась наибольшая частота нарушений микробиоты эндометрия в сравнении с аналогичной в группе с БНГ ($p=0,01$, $\chi^2=6,4$) и ТПБ ($p<0,001$, $\chi^2=7,6$).

Характеристики локусов генитального тракта женщин с нормоценозом и нарушением микробиоты влагалища представлены в Таблице 36.

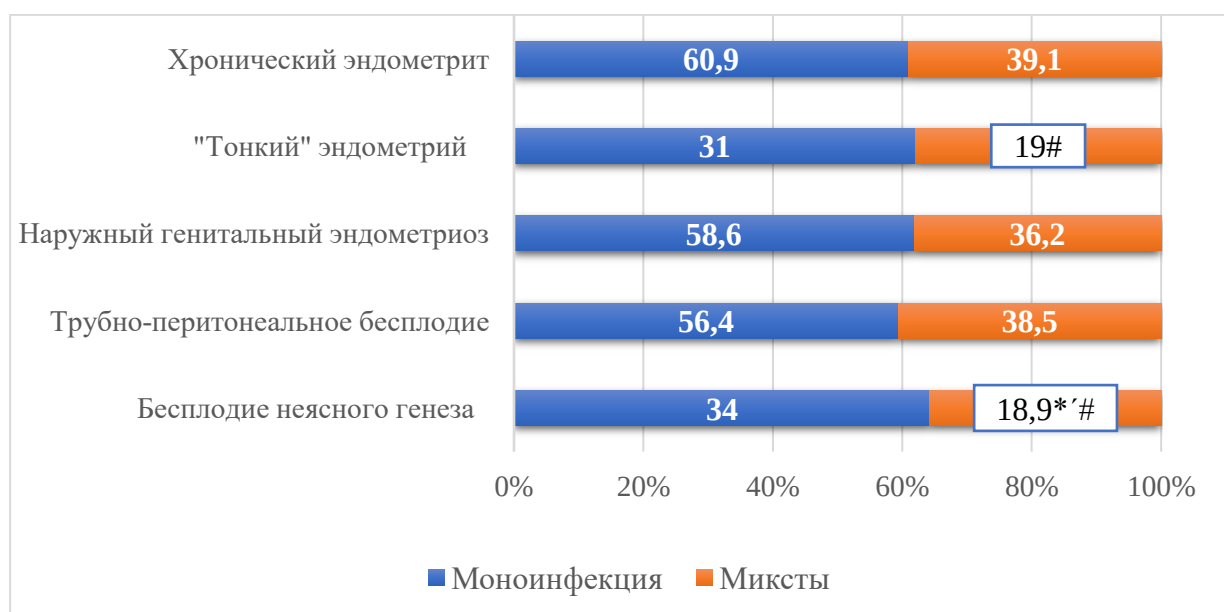
Таблица 36 – Нарушения вагинального, цервикального и эндометриального микробиоценоза суммарно

Группы		N	Отсутствие инфектов	Условно-патогенные штаммы	Инфекции, передаваемые половым путем	Нарушение микробиоты в эндометрии	Всего случаев микробной контаминации цервикального отделяемого
Бесплодие неясного генеза	абс.	53	35 ^{2,3,5}	10 ^{2,5}	8	7 ^{2,3,4,5}	18 ^{2,3,5}
	%		66,0	18,9	15,1	13,2	34,0
Трубно-перитонеальное бесплодие	абс.	78	34 ⁴	30	14	30	44 ⁴
	%		43,6	38,5	17,9	38,5	56,4
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	58	24 ⁴	21	13	20 ⁵	34 ⁴
	%		41,4	36,2	22,4	34,5	58,6
«Тонкий» эндометрий	абс.	42	29 ⁵	8 ⁵	5	16	13 ⁵
	%		69,0	19,0	11,9	38,1	31,0
Хронический эндометрит	абс.	69	27	27	15	38	42
	%		39,1	39,1	21,7	55,1	60,9
			$p_{1-2}=0,012$ $\chi^2=6,3$ $p_{1-3}<0,001$ $\chi^2=20,4$ $p_{1-5}<0,001$ $\chi^2=19,1$ $p_{2-4}=0,008$ $\chi^2=7,0$ $p_{3-4}=0,007$ $\chi^2=7,4$ $p_{4-5}=0,003$ $\chi^2=9,3$	$p_{1-2}=0,02$ $\chi^2=5,7$ $p_{1-5}=0,02$ $\chi^2=5,8$ $p_{4-5}=0,03$ $\chi^2=4,8$	$p>0,05$	$p_{1-2}<0,001$ $\chi^2=9,9$ $p_{1-3}=0,01$ $\chi^2=6,8$ $p_{1-4}=0,007$ $\chi^2=7,9$ $p_{1-5}<0,001$ $\chi^2=22,6$ $p_{3-5}=0,03$ $\chi^2=5,4$	$p_{1-2}=0,01$ $\chi^2=6,4$ $p_{1-3}=0,01$ $\chi^2=6,8$ $p_{1-5}<0,001$ $\chi^2=8,7$ $p_{2-4}=0,01$ $\chi^2=7,1$ $p_{3-4}=0,008$ $\chi^2=7,5$ $p_{4-5}<0,001$ $\chi^2=9,3$

В группе с «тонким» эндометрием значимо чаще, чем в остальных (41,3%, $p<0,05$) выявляли интактные посевы отделяемого цервикального канала.

Женщин с ХЭ отличала достоверно более высокая частота нарушений биотопов генитального тракта: цервикального канала – в два раза, чем с «тонким» эндометрием и БНГ (18,9%, $p < 0,05$), эндометрия – в полтора раза, чем с НГЭ ($p = 0,03$, $\chi^2 = 5,4$) и в четыре – БНГ ($p = 0,00$, $\chi^2 = 22,6$). Частота контаминации отделяемого цервикального канала (ИППП и условно–патогенными штаммами) при ХЭ, как и с НГЭ и ТПБ оказалась достоверно выше, чем с «тонким» эндометрием и БНГ – практически в два раза ($p < 0,05$).

Спектр микрофлоры в отделяемом цервикального канала женщин с бесплодием различного генеза представлен на Рисунке 13.



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): * – от группы с ТПБ, # – с «тонким» эндометрием $p_{1-2} = 0,02$ (БНГ vs ТПБ), $\chi^2 = 5,7$; p_{1-5} (БНГ vs ХЭ) = 0,02; $\chi^2 = 5,8$; p_{4-5} («тонкий» эндометрий vs ХЭ) = 0,03, $\chi^2 = 4,8$

Рисунок 13 – Спектр микробных характеристик при контаминации цервикального отделяемого

В группах с ХЭ и ТПБ достоверно чаще, чем с «тонким» эндометрием и БНГ выявляли микст–инфекцию – практически в два раза ($p < 0,05$). Монокультуры микроорганизмов в отделяемом цервикального канала определяли без достоверных межгрупповых отличий. Данные о контаминации эндометрия при различном микробиоценозе (интактный, инфицирование) отделяемого цервикального канала обследованных женщин представлены на Рисунках 14–15.

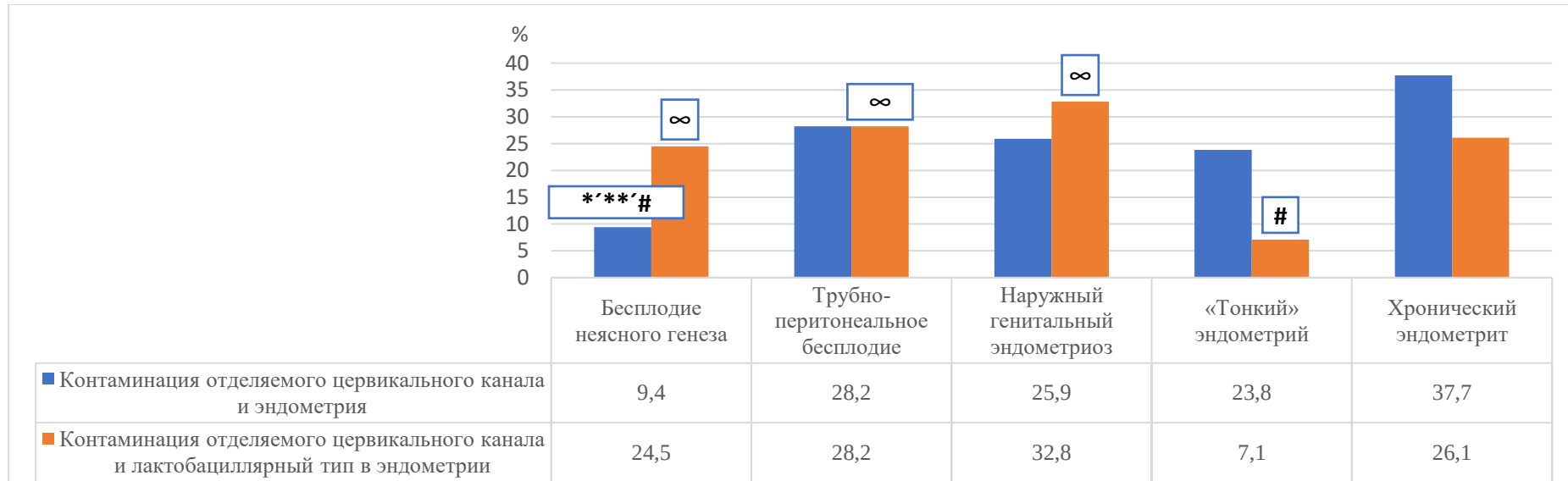
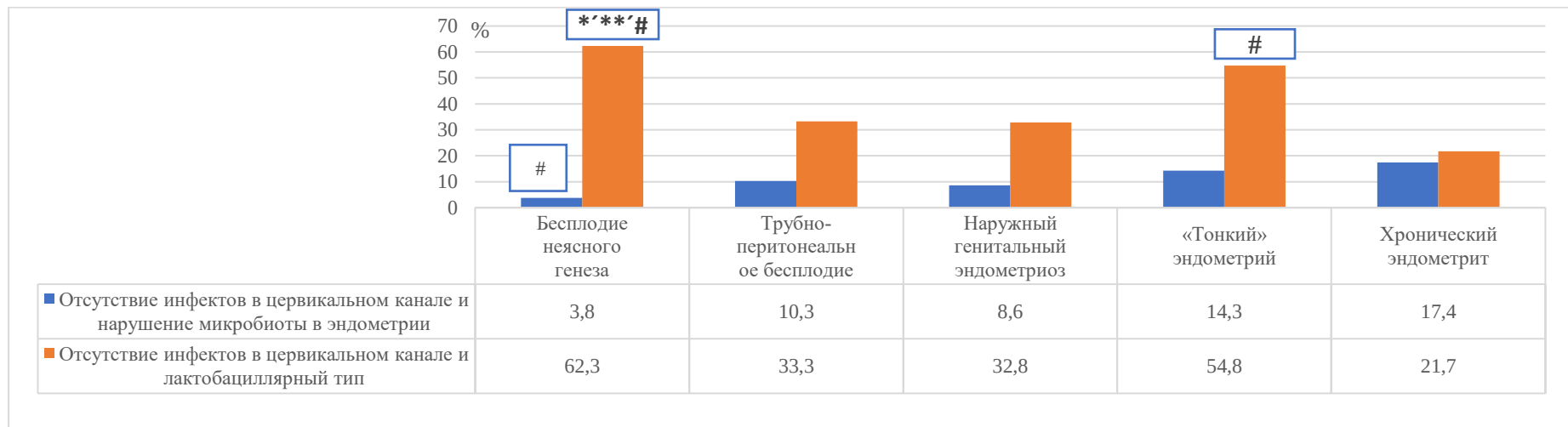


Рисунок 14 – Особенности микробиоты эндометрия при микробной контаминации цервикального канала



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): * – от группы с ТПБ, ** – НГЭ, ∞ – «тонким» эндометрием, # – ХЭ

Рисунок 15 – Особенности микробиоты эндометрия при интактном содержимом цервикального канала

Достоверным отличием женщин с ХЭ оказалось одновременное инфицирование эндометрия и содержимого цервикального канала – в четыре раза, чем с БНГ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 12,6$).

В группах с ТПБ, НГЭ и «тонким» эндометрием контаминация нескольких биотопов выявлена у четверти женщин, что в 2,8 раза чаще, чем с БНГ ($p < 0,05$). При стерильном отделяемом эндоцервикса вариант интактного эндометрия отмечен у половины женщин с «тонким» эндометрием – в 2,5 раза чаще, чем с ХЭ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 12,6$), при БНГ – в два раза, чем с ТПБ и НГЭ ($p < 0,05$).

Нарушение биотопа эндометрия в отсутствие контаминации цервикального содержимого достоверно чаще определяли в группе с ХЭ, чем с БНГ ($p = 0,00$, $\chi^2 = 9,2$).

Характеристики отделяемого цервикального канала по результатам комплексного микробиологического исследования приведены в Таблице 37.

При сравнении результатов бактериологического посева отделяемого цервикального канала и ПЦР–диагностики на ИППП значимых межгрупповых различий не выявлено. Микробные ассоциации [уреа-/микоплазменная инфекция, ВПЧ ВР, ВПГ2 с условно–патогенными штаммами в значимых диагностических титрах (*Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*)] при различных типах бесплодия обнаруживали без достоверных межгрупповых отличий.

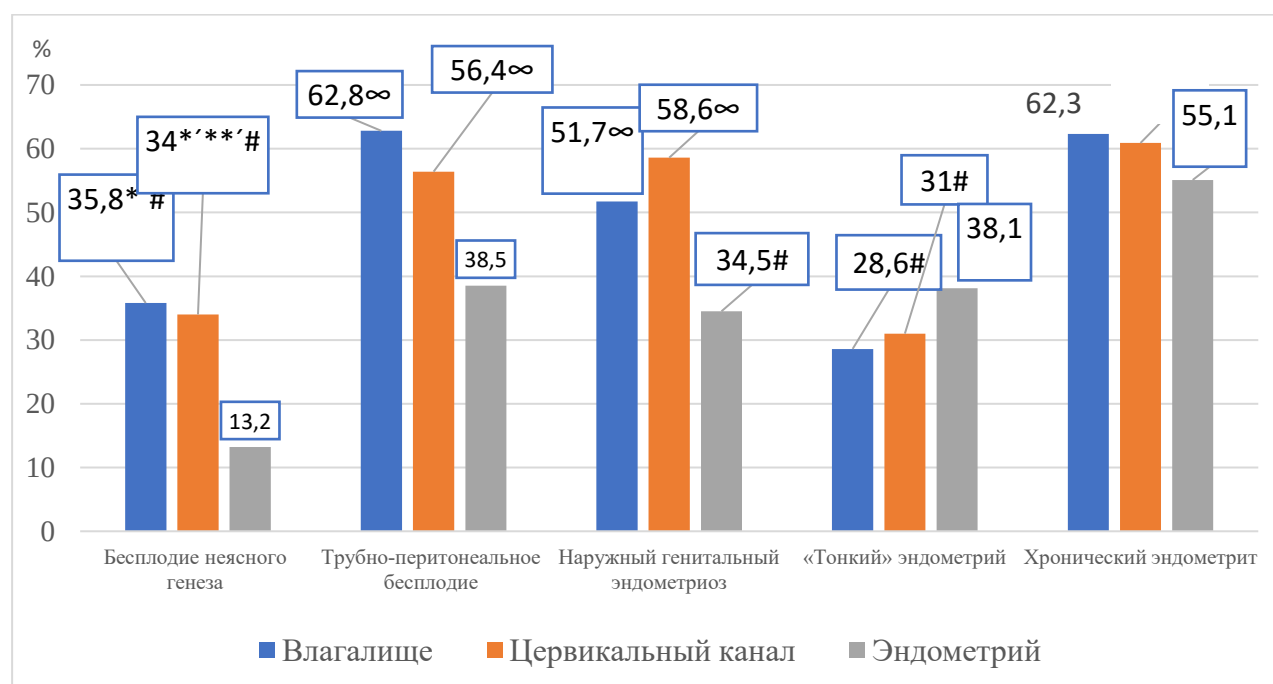
В группе с ХЭ достоверно чаще, чем с БНГ ($p = 0,004$, $\chi^2 = 8,6$) отмечено инфицирование отделяемого цервикального канала условно–патогенными инфектами в титре более 10^5 в сочетании с ВПЧ ВР. Частота выявления *Gardnerella vaginalis* и ВПЧ ВР в группах была сопоставима. Женщин с БНГ отличала достоверно большая в сравнении с показателями в группах с НГЭ и ХЭ частота контаминации цервикального отделяемого ВПГ2 и *Ureaplasma urealyticum/parvum*/*Mycoplasma hominis* – практически в 7–8 раз ($p < 0,05$).

Таблица 37 – Особенности микробного состава отделяемого цервикального канала (по результатам ПЦР–диагностики и бактериологического исследования на флору и чувствительность к антибиотикам)

Группы		N	Сочетание с условно– патогенными штаммами				Моноинфекты				Всего			
			Mycoplasma hominis/Ureaplasma urealyticum/parvum	Gardnerella vaginalis	HPV	Herpes virus simplex I–II	Mycoplasma hominis/Ureaplasma urealyticum/parvum	Gardnerella vaginalis	HPV	Herpes virus simplex I–II	Mycoplasma hominis/Ureaplasma urealyticum/parvum	Gardnerella vaginalis	HPV	Herpes virus simplex I–II
Бесплодие неясного генеза	абс.	18	1	1	1 ⁵	0	5 ^{3,5}	3	4	5 ^{3,5}	6 ^{2,3,5}	4	9	5 ⁵
	%		5,6	5,6	5,6	0,0	27,8	16,7	22,2	27,8	33,3	22,2	50,0	27,8
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	44	1	3	7	5	0	0	3	0	1	3	10	5
	%		2,3	6,8	15,9	11,4	0,0	0,0	6,8	0,0	2,3	6,8	22,7	11,4
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	34	1	2	4	2	1	2	5	1	2	4	9	3
	%		2,9	5,9	11,8	5,9	2,9	5,9	14,7	2,9	5,9	11,8	26,5	8,8
«Тонкий эндометрий»	абс.	13	0	0	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0
	%		0,0	0,0	15,4	0,0	15,4	15,4	0,0	0,0	15,4	15,4	15,4	0,0
Хронический эндометрит	абс.	42	0	7	13	0	2	2	5	2	2	10	18	2
	%		0,0	16,7	31,0	0,0	4,8	4,8	11,9	4,8	4,8	23,8	42,9	4,8
			p>0,05	p> 0,05	p _{1–5} =0,004 χ ² =8,6	p> 0,05	p _{1–3} =0,004 χ ² =8,6 p _{1–5} =0,004 χ ² =8,6	p> 0,05	p> 0,05	p _{1–3} =0,004 χ ² =8,6 p _{1–5} =0,004 χ ² =8,6	p _{1–2} =0,012 χ ² =6,3 p _{1–3} =0,004 χ ² =8,6 p _{1–5} =0,004 χ ² =8,6	p>0,05	p>0,05	p _{1–5} =0,004 χ ² =8,6

В группе с БНГ частота ИППП и микробных микстов оказалась статистически значимо выше, чем в остальных: уреа-/ микоплазменная инфекция – в сравнении с ТПБ, НГЭ и ХЭ ($p < 0,05$), генитальный герпес – с ХЭ ($p = 0,004$, $\chi^2 = 8,6$).

Данные о частоте нарушений биотопов генитального тракта женщин с повторными неудачами ЭКО представлены на Рисунке 16.



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): * – от группы с ТПБ (2), ** – НГЭ (3), ∞ – «тонким» эндометрием (4), # – ХЭ (5)

для вагинальной микробиоты: $p_{1-2} = 0,003$ $\chi^2 = 9,1$; $p_{1-5} = 0,004$ $\chi^2 = 8,4$; $p_{2-4} < 0,001$ $\chi^2 = 12,8$; $p_{3-4} = 0,021$ $\chi^2 = 5,3$; $p_{4-5} < 0,001$ $\chi^2 = 11,8$

для отделяемого цервикального канала: $p_{1-2} = 0,012$ $\chi^2 = 6,3$; $p_{1-3} = 0,01$ $\chi^2 = 6,7$; $p_{1-5} = 0,004$ $\chi^2 = 8,6$; $p_{2-4} = 0,008$ $\chi^2 = 7,0$; $p_{3-4} = 0,007$ $\chi^2 = 7,4$; $p_{4-5} = 0,003$ $\chi^2 = 9,3$

для эндометрия: $p_{1-2} = 0,002$ $\chi^2 = 9,9$; $p_{1-3} = 0,025$, $\chi^2 = 5,0$; $p_{1-5} < 0,001$ $\chi^2 = 22,5$; $p_{1-4} = 0,005$ $\chi^2 = 7,9$; $p_{3-5} = 0,007$ $\chi^2 = 7,3$

Рисунок 16 – Контаминация биотопов генитального тракта

Анализ состояния биотопов органов репродуктивного тракта показал: в группе женщин с ХЭ нарушение вагинальной микробиоты встречалось достоверно чаще, чем с БНГ ($p = 0,004$, $\chi^2 = 8,4$) и «тонким» эндометрием – в два раза ($p < 0,001$, $\chi^2 = 11,8$), эндоцервикса – практически с аналогичной частотой – в два раза ($p < 0,05$),

эндометрия – в 1,8 раза, чем с НГЭ ($p=0,007$, $\chi^2=7,3$) и в четыре – БНГ ($p<0,001$, $\chi^2=22,5$).

В группах с ТПБ и ХЭ частота контаминации биотопов генитального тракта достоверно не отличалась. Результаты бактериологического исследования образцов эндометрия женщин с повторными неудачами ЭКО и бесплодием различного генеза представлены в Таблице 38.

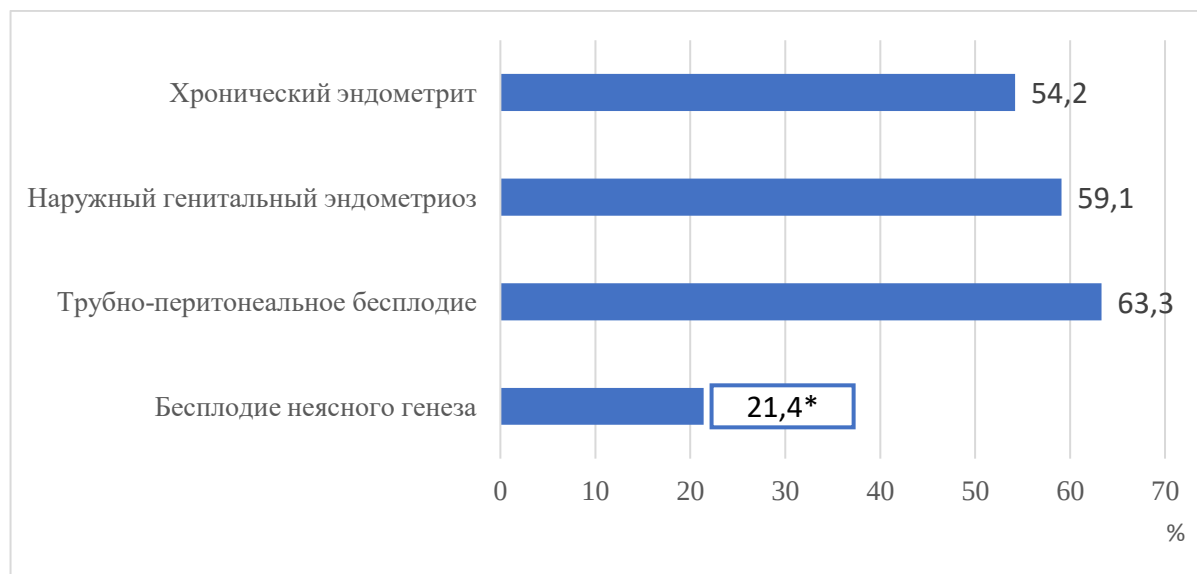
Таблица 38 – Бактериологическое исследование биоптатов эндометрия (выборка $n=144$)

Группы		N	Enterococcus faecalis	Escherichia coli	Klebsiella pneumoniae	Staphylococcus aureus	Peptostreptococcus spp.	Streptococcus agalactiae
Бесплодие неясного генеза	абс.	28	2	1 ^{2,3,4}	0	1	0	2
	%		7,1	3,6	0,0	3,6	0,0	7,1
Трубно–перитонеальное бесплодие	абс.	30	4	8	4	2	1	0
	%		13,3	26,7	13,3	6,7	3,3	0,0
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	22	3	7	2	0	0	1
	%		13,6	31,8	9,1	0,0	0,0	4,5
Хронический эндометрит	абс.	48	5	10	6	2	1	2
	%		10,4	20,8	12,5	4,2	2,1	4,2
			p>0,05	p ₁₋₂ =0,03 χ ² =5,9 p ₁₋₃ =0,01 χ ² =7,3 p ₁₋₂ =0,047 χ ² =4,3	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Частота контаминации эндометрия обследованных женщин ($n=144$, произвольная выборка) условно–патогенными микроорганизмами, преимущественно в низких диагностических титрах была сопоставима.

Достоверные межгрупповые отличия выявлены в отношении выявляемости *Escherichia coli* – в эндометрии женщин с ТПБ, НГЭ и ХЭ достоверно чаще, чем при БНГ ($p<0,05$). Микробный состав в образцах эндометрия в группах с ТПБ и ХЭ был представлен *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* в титре $<10^4$.

Итоги суммирования данных о контаминации образцов эндометрия по результатам бактериологического исследования представлены на Рисунке 17.



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): * – от всех групп

Рисунок 17 – Микробиологическое исследование биоптатов эндометрия

Обращает внимание достоверно меньшее присутствие в эндометрии женщин с БНГ инфектов в сравнении с остальными – практически в три раза: в группе с ТПБ ($p = 0,00$, $\chi^2 = 10,4$), с НГЭ ($p = 0,009$, $\chi^2 = 7,4$), ХЭ ($p = 0,008$, $\chi^2 = 7,8$).

Анализ качественных и количественных характеристик микробиоты эндометрия методом ПЦР–РВ в группах с бесплодием различного генеза ($n = 144$) проводили одномоментно с бактериологическим исследованием (Таблица 39).

При сравнительном анализе частоты выявления в образцах эндометрия ДНК различных микроорганизмов достоверных межгрупповых различий не выявлено.

Выделены типы микробиоты: лакто– и нелактобациллярный (смешанный профиль – титр лактобацилл $< 10^4$ и условно–патогенные штаммы; дисбиотический – отсутствие лактобацилл, условно–патогенные штаммы в высоком титре).

Таблица 39 – Характеристики микробиоты эндометрия методом ПЦР–РВ (Фемофлор–16) (расчет на 144 образца)

Группы		N	Дисбиотический профиль						Смешанный профиль						Миксты при дисбиотическом профиле	Лактобациллы (10^5 – 10^7)
			Mobiluncus spp./ Atopobium vaginae	Eubacterium spp./ Gardnerella vaginalis	Ureaplasma spp.	Gardnerella vaginalis	Streptococcus spp.	Atopobium vaginae/ Enterobacteriaceae	Gardnerella vaginalis	Enterobacteriaceae	Atopobium vaginae	Staphylococcus spp./ Streptococcus spp.	Gardnerella vaginalis/ Mobiluncus spp.	Eubacterium spp./ Gardnerella vaginalis		
Бесплодие неясного генеза	абс.	28	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	21
	%		0,0	0,0	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,7	10,7	0,0	75,0
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	30	1	2	2	0	0	1	0	1	3	1	0	0	4	19
	%		3,3	6,7	6,7	0,0	0,0	3,3	0,0	3,3	10,0	3,3	0,0	0,0	13,3	63,3
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	22	0	0	0	0	0	1	1	1	3	1	0	0	1	15
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,5	4,5	4,5	13,6	4,5	0,0	0,0	4,5	68,2
«Тонкий» эндометрий	абс.	16	0	0	0	3	1	0	2	1	0	1	3	5	0	0
	%		0,0	0,0	0,0	18,8	6,2	0,0	12,5	6,2	0,0	6,2	18,8	31,2	0,0	0,0
Хронический эндометрит	абс.	48	2	1	3	1	0	0	1	1	2	1	0	0	3	36
	%		4,2	2,1	6,2	2,1	0,0	0,0	2,1	2,1	4,2	2,1	0,0	0,0	6,2	75,0
Всего	абс.	144	3	3	6	4	1	2	4	4	8	4	6	8	16	91
	%		2,1	2,1	4,2	2,8	0,7	1,4	2,8	2,8	5,6	2,8	4,2	5,6	11,1	63,2

Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p>0,05$)

Представленные в Таблице 40 данные отражают преобладающий тип микробиоты эндометрия, лакто– и нелактобациллярный (смешанный и дисбиотический).

Таблица 40 – Типы микробиоты эндометрия (ПЦР–РВ, метод Фемофлор–16)

Группы		N	Дисбиотический профиль	Смешанный профиль	Лактобациллярный профиль
Бесплодие неясного генеза	абс.	28	1	6 ⁴	21
	%		3,6	21,4	75,0
Трубно– перитонеальное бесплодие	абс.	30	6	5 ⁴	19
	%		20,0	16,7	63,3
Наружный генитальный эндометриоз	абс.	22	1	6 ⁴	15
	%		4,5	27,3	68,2
«Тонкий» эндометрий	абс.	16	4	12 ⁵	0
	%		25,0	75,0	0,0
Хронический эндометрит	абс.	48	7	5	36
	%		14,6	10,4	75,0
			p>0,05	p ₁₋₄ =0,001 χ ² =12,1 p ₂₋₄ =0,00 χ ² =15,2 p ₃₋₄ =0,008 χ ² =8,5 p ₄₋₅ =0,01 χ ² =7,6	p>0,05

Удельный вес лактобациллярного профиля микробиоты в выборке женщин составил 70,4%, дисбиотического – 13,5%. Образцы материала со смешанным профилем микробиоты достоверно преобладали в группе с «тонким» эндометрием в сравнении с другими (18,9%) (p<0,05).

4.5.1 Нарушения вагинального, цервикального и эндометриального микробиоценоза и визуальных эндометриальных типов

Характеристики биотопов генитального тракта обследованных женщин с бесплодием различного генеза, предположительно ассоциированные с типами эндометриальных «повреждений», представлены в Таблице 41.

Таблица 41 – Сравнительный анализ результатов микробиологических исследований с результатами гистероскопии

Группы /Типы			N	Бактериальная контаминация цервикально канала	Рецидивирующий бактериальный вагиноз	Контаминация содержимого цервикального канала и рецидивирующий бактериальный вагиноз	Хламидийная инфекция	ВПЧ2 (ПЦР –диагностика)	ВПЧ высокого онкогенного риска	Лейкоплакия шейки матки/CIN I,II при наличии ВПЧ высокого онкогенного риска
Бесплодие неясного генеза	Диспластический	абс.	12	6	6	2	0	0	1 ²	3
		%		50,0	50,0	16,7	0,0	0,0	8,3	25,0
	Пролиферативный	абс.	18	10	8	10	8	8	13	10
		%		55,6	44,4	55,6	44,4	44,4	72,2	55,6
Трубно– перитонеальное бесплодие	Диспластический	абс.	5	3	3	1	0	0	1	1
		%		60,0	60,0	20,0	0,0	0,0	20,0	20,0
	Пролиферативный	абс.	23	23	8	15	13	0	15	15
		%		100,0	34,8	65,2	56,5	0,0	65,2	65,2
Наружный генитальный эндометриоз	Диспластический	абс.	2	1	1	1	0	0	1	1
		%		50,0	50,0	50,0	0,0	0,0	50,0	50,0
	Пролиферативный	абс.	20	17	3	12	4	0	7	6
		%		85,0	15,0	60,0	20,0	0,0	35,0	30,0
Хронический эндометрит	Диспластический	абс.	6	1 ⁸	3	1 ⁸	0	0	0	1 ⁸
		%		16,7	50,0	16,7	0,0	0,0	0,0	16,7
	Пролиферативный	абс.	16	12	6	12	3	0	0	14
		%		75,0	37,5	75,0	18,8	0,0	0,0	87,5
				p7-8=0,02 χ2=6,1	p>0,05	p7-8=0,02 χ2=7,1	p>0,05	p> 0,05	p1-2<0,001 χ2=11,8	p7-8=0,004 χ2=10,1

При пролиферативном типе бактериальную контаминацию содержимого цервикального канала, как и ее сочетание с рецидивами БВ отмечали достоверно чаще, чем при диспластическом только в группе с ХЭ – в 4,5 раза ($p=0,02$, $\chi^2=6,1$). Межгрупповых различий в частоте рецидивов БВ не было. Эпизоды хламидийной инфекции выявляли только при визуальном пролиферативном типе, как и ВПГ2 типа – только в группе с БНГ.

При визуальной картине пролиферативного типа эндометрия разница в показателях ВПЧ ВР была многократной в сравнении с диспластическим ($p<0,001$, $\chi^2=11,8$).

Преобладание хирургических вмешательств по поводу лейкоплакии шейки матки/ cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I, II на фоне персистенции вирусной инфекции также отмечено в выборке женщин с бесплодием и визуально пролиферативным фенотипом: практически в пять раз в группе с ХЭ ($p=0,004$, $\chi^2=10,1$).

4.5.2 Микробиота эндометрия при различной морфологической картине в период «имплантационного окна»

Результаты сопоставления характеристик микробиоты и патоморфологического исследования эндометрия женщин с бесплодием различного генеза в период «окна имплантации» представлены в Таблице 42.

В образцах с соответствием эндометрия средней стадии фазы секреции выявлено доминирование лактобациллярного типа микробиоты над нелактобациллярным, однако достоверные различия показателей определены в группе с ТПБ ($p=0,008$, $\chi^2=7,9$) – в пять раз и ХЭ – многократно ($p=0,000$, $\chi^2=23,3$).

В выборке с нарушением гистологического датирования эндометрия (ранней стадией фазы секреции и поздней стадией фазы пролиферации) межгрупповых различий типов микробиоты не выявлено.

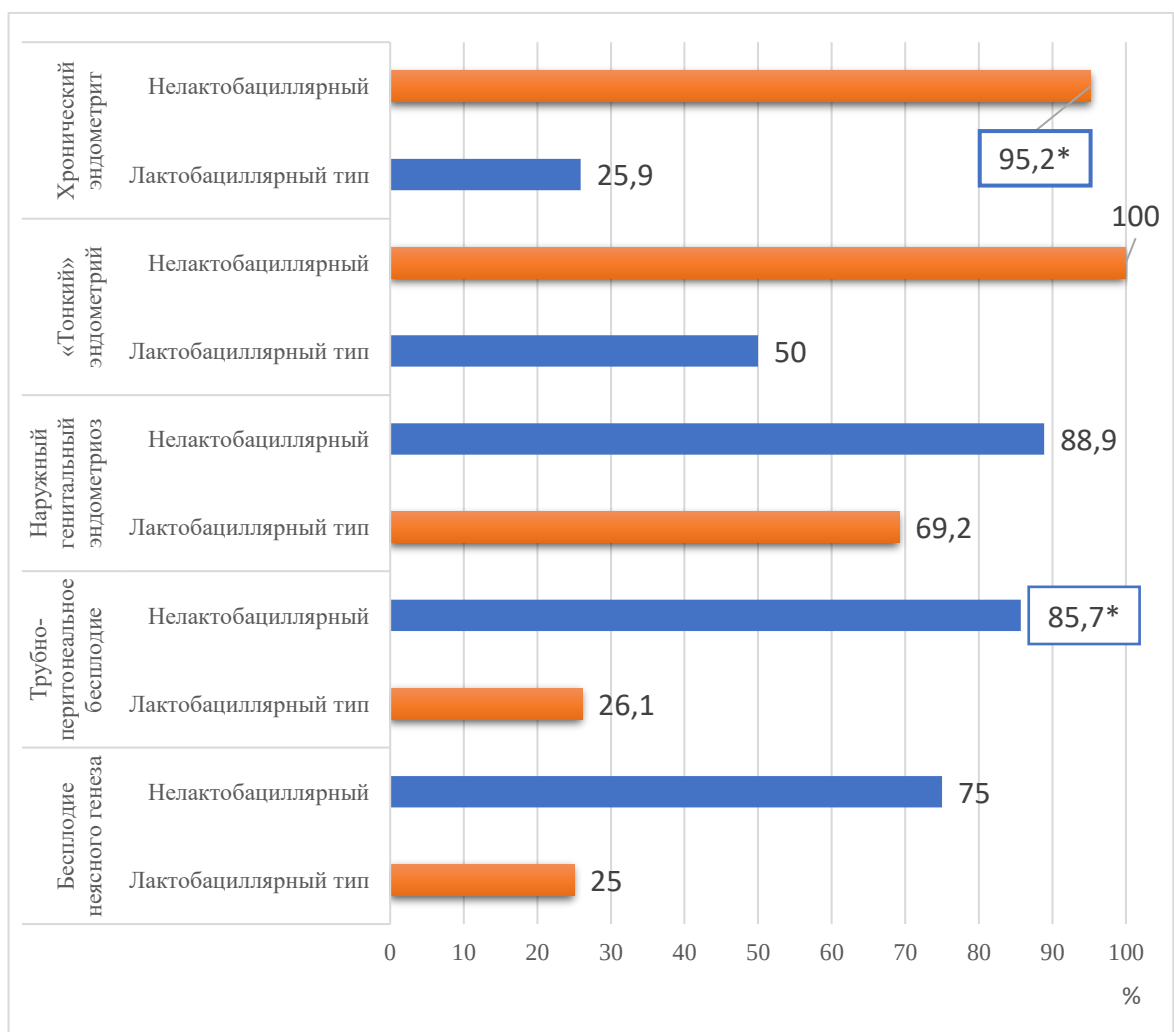
Таблица 42 – Типы микробиоты в зависимости от морфологических характеристик эндометрия в период «окна имплантации»

Группы/Типы микробиоты			N	Средняя стадия фазы секрции	Неполноценная секреторная трансформация стромы с железами пролиферативного типа	Поздняя стадия фазы пролиферации	Гипопластически–диспластический тип эндометрия	Диссоциированное развитие эндометрия
Бесплодие неясного генеза	Лактобациллярный	абс.	24	18	5	1	0	0
		%		75,0	20,8	4,2	0,0	0,0
	Нелактобациллярный	абс.	4	1	0	0	3	0
		%		25,0	0,0	0,0	75,0	0,0
Трубно–перитонеальное бесплодие	Лактобациллярный	абс.	23	17 ⁴	5	1	0	0
		%		73,9	21,7	4,3	0,0	0,0
	Нелактобациллярный	абс.	7	1	1	2	2	1
		%		14,3	14,3	28,6	28,6	14,3
Наружный генитальный эндометриоз	Лактобациллярный	абс.	13	4	6	2	1 ⁶	0
		%		30,8	46,2	15,4	7,7	0,0
	Нелактобациллярный	абс.	9	1	2	1	5	0
		%		11,1	22,2	11,1	55,6	0,0
«Тонкий» эндометрий	Лактобациллярный	абс.	4	2	1	1	0	0
		%		50,0	25,0	25,0	0,0	0,0
	Нелактобациллярный	абс.	12	0	1	0	7	4
		%		0,0	8,3	0,0	58,3	33,3
Хронический эндометрит	Лактобациллярный	абс.	27	20 ¹⁰	4	2	1 ¹⁰	0
		%		74,1	14,8	7,4	3,7	0,0
	Нелактобациллярный	абс.	21	1	6	3	8	3
		%		4,8	28,6	14,3	38,1	14,3
				p ₃₋₄ =0,008, χ^2 =7,9 p ₉₋₁₀ =0,000, χ^2 =23,3	p>0,05	p>0,05	p ₅₋₆ =0,02, χ^2 =6,1 p ₉₋₁₀ =0,006 χ^2 =9,2	p>0,05

Отличием женщин с гипопластически–диспластическим вариантом эндометрия в период «имплантационного окна» оказалось преобладание нелактобациллярного типа микробиоты: при ХЭ – практически в 6,4 раз ($p=0,006$, $\chi^2=9,2$), НГЭ – практически в 8 раз ($p=0,02$, $\chi^2=6,1$).

В группах с БНГ, ТПБ, «тонким» эндометрием при гипопластически–диспластическом типе эндометрия выявляли только нелактобациллярный тип микробиоты (смешанный профиль).

Варианты биотопа эндометрия при морфологическом несоответствии средней стадии фазы секреции представлены на Рисунке 18.



Примечание – различия статистически значимы ($p<0,05$): *– внутригрупповые

Рисунок 18 – Особенности биотопа женщин с дисхронизмом эндометрия (несоответствием средней стадии фазы секреции)

Достоверным отличием женщин с несоответствием эндометрия фазе МЦ оказалось преобладание нелактобациллярного типа микробиоты в сравнении с лактобациллярным: при ТПБ – практически в четыре раза ($p=0,008$; $\chi^2=7,9$), ХЭ – практически в два раза ($p=0,00$; $\chi^2=23,1$). В остальных группах статистически значимых различий не выявлено.

РЕЗЮМЕ

По результатам лабораторных и инструментальных исследований сформированы представления о состоянии эндометрия женщин с бесплодием (БНГ, ТПБ, «тонкого», на фоне ХЭ, НГЭ) и повторными неудачами ЭКО при различной микроэкологии отделов генитального тракта, наличии вирусной нагрузки, после хирургического лечения заболеваний шейки матки.

Наибольшая частота контаминации всех биотопов генитального тракта женщин с ХЭ:

- вагинального: 79,1% – в четыре раза, чем с БНГ (21,1%) и 1,3 раза – с ТПБ и НГЭ (59,6%);
- эндоцервикса: 60,9% – в два раза, чем с «тонким» эндометрием и БНГ (32,5%) ($p<0,05$);
- эндометрия: 55,1% – в полтора раза, чем с НГЭ (34,5%) и в четыре – БНГ (13,2%); в сочетании с нарушением вагинального микробиоценоза (34,8%) – в 2,6 раза, чем с БНГ (13,2%) ($p=0,008$); цервикального (37,7%) – в четыре раза, чем с БНГ (9,4%) ($p<0,05$);

– позволяет утверждать о весомом вкладе микробных представителей в адаптационно–гомеостатический потенциал эндометрия в период «имплантационного окна», с развитием структурно–функциональных реакций его несостоятельности при высокой микробной нагрузке, сочетанном дисбиозе различных экологических «ниш» и патологическом микробном разнообразии.

Доказательством срыва адаптационно–гомеостатических механизмов в системе «микробиота–локальный иммунитет» в группе с ТПБ выступает сопоставимо высокая с аналогичной при ХЭ частота нарушений микробиоценозов:

- вагинального (62,5%) – в два раза чаще, чем в группах с БНГ (35,8%) и «тонким» эндометрием (28,6%) ($p < 0,05$);
- эндоцервикса – контаминация условно–патогенными штаммами в высоких диагностических титрах (32,7%) – в три раза, чем с БНГ (11,3%) и «тонким» эндометрием (9,5%) ($p < 0,05$).

Достоверно большая частота нормоценоза влагалища (67,8% против 41,1%, $p < 0,05$) и эндоцервикса (67,5% против 41,4%, $p < 0,05$) в группах с «тонким» эндометрием и БНГ позволяет утверждать о неинфекционном генезе эндометриальных «поломок», приводящих к неудачам имплантации, и необходимости изучения молекулярного профиля, выяснения механизмов локальной метаболической дисрегуляции.

Метаболические и гормональные особенности гомео–статуса женщин с бесплодием различного генеза заключаются в

- наиболее низком содержании витамина D в группе с «тонким» эндометрием [(57,1%) в полтора раза, чем при ТПБ (34,6%) ($p = 0,018$)].

Обоснование комплексного подхода к выявлению нарушений состояния и заболеваний эндометрия у женщин с бесплодием различного генеза (сонография в обе фазы МЦ с доплерометрией сосудов матки, гистероскопия, патоморфологическое исследование с ИГХ оценкой маркеров хронического воспаления, избыточной пролиферативной активности) базируется на различных диагностических возможностях каждого метода. При сонографической и гистероскопической оценке состояния эндометрия руководствовались суммированием признаков с выделением типов, свидетельствующих о его пластических ресурсах (пролиферативный – «плюс ткань», диспластический – «минус ткань», нормальный – визуально неизмененный) и хроническое воспаление.

Преобладание типа изменений эндометрия формировалось на основании суммирования по результатам инструментальной диагностики признаков:

- ✓ диспластического:

- сонографии (внутриматочные синехии, фиброз стромы/гиперэхогенные включения в базальном слое, истончение и несоответствие М-эхо фазе МЦ) – у женщин с «тонким» эндометрием, при БНГ – практически в пять раз чаще, чем с ТПБ ($p<0,05$) и ХЭ ($p<0,05$);

- гистероскопии (внутриматочные синехии, истончение и бледность слизистой) – в группе с «тонким» эндометрием – в три раза, чем при БНГ ($p=0,00$, $\chi^2=16,8$), многократно – ТПБ и НГЭ ($p<0,05$).

- ✓ пролиферативного:

- сонографии (ПЭ и ГЭ, неравномерная толщина М-эхо) – 11,8%;
- гистероскопии (ПЭ, ГЭ, неравномерная толщина М-эхо) – у 32,7% женщин.

- ✓ хронического воспаления:

- сонографии – у большинства женщин группы, в два раза чаще, чем при ТПБ ($p<0,05$), в 5,5 раз – БНГ ($p<0,05$) и НГЭ ($p<0,05$);

- гистероскопии (микрополипы, неравномерная толщина, истончение эндометрия на фоне гиперемии и отека) – у всех женщин одноименной группы, каждой пятой – с НГЭ, при ТПБ – в четыре раза чаще, чем БНГ ($p=0,00$, $\chi^2=13,6$).

- ✓ нормального эндометрия:

- сонографии – в группе с ХЭ достоверно реже, чем в остальных – в восемь раз (47,5%) ($p<0,05$); гистероскопии – у 29,8% обследованных женщин.

Выделенные при инструментальном исследовании типы эндометриальных реакций [пролиферативный, диспластический, хроническое воспаление, нормальный (визуально неизмененный)] представляются следствием соотношения реактивности ткани на воздействующий фактор и активности (ресурсности) локальных компенсаторных механизмов.

Выделены клинико–анамнестические детерминанты визуальных (при гистероскопии) изменений эндометрия по пролиферативному и диспластическому типу:

- ✓ для диспластического типа (в отличие от пролиферативного):

- неоднократные внутриматочные вмешательства – в анамнезе всех женщин с ТПБ, НГЭ, ХЭ и 77,8% – с «тонким» эндометрием ($p<0,05$);

- трудности визуализации базальных, спиральных и радиальных артерий матки [большинства с «тонким» эндометрием, вдвое реже – при НГЭ – в два раза ($p<0,05$), ХЭ – в три раза ($p<0,05$)].

- ✓ для пролиферативного типа:

- контаминация содержимого цервикального канала – в три раза чаще при НГЭ ($p<0,05$) и практически четыре – ХЭ ($p<0,05$);

- рецидивы БВ в группах с ТПБ, НГЭ и ХЭ – практически в четыре раза чаще (68,6% против 16,3%) ($p<0,05$);

- инфицирование эндоцервикса ВПЧ ВР в группах с БНГ, ТПБ и ХЭ – многократно чаще (75,5% против 9,0%) ($p<0,05$);

- хирургическое лечение лейкоплакии шейки матки/CIN I, II на фоне персистенции ВПЧ ВР – в группе с ТПБ и ХЭ (75,3% против 13,8%) ($p<0,05$).

Результаты патоморфологического исследования эндометрия женщин с бесплодием, указывающие на неоднородность меж– и внутригрупповых заключений, подтверждают целесообразность определения типа реактивных изменений:

- вариант нормального (неизмененного) эндометрия – в 36,7% всех образцов; ПЭ – 16,7%, ГЭ – 3,6%, фибропластической трансформации стромы (15,7%) – в группе с «тонким» эндометрием достоверно чаще, чем в остальных (71,4% против 9,3% при БНГ, ТПБ, НГЭ) ($p<0,05$);

- верификация ХЭ (31,3% в структуре болезней эндометрия) в одноименной группе состоялась втрое чаще (68,1%), чем при НГЭ (20,7%) ($p<0,05$); практически в два раза, чем с ТПБ (38,5%) ($p<0,05$), неоднократно – БНГ ($p<0,05$);

- с выделением различных морфологических концептов воспаления;

- с наибольшим удельным весом заболевания в одноименной группе: полной морфологической картины (с микрополипами) – 31,9%, неполной – 36,2% (лимфоидные фолликулярные инфильтраты – 4,3%, ХЭ диспластического типа – 31,9%); сочетание ХЭ с ПЭ/ ГЭ – по 11,6%;

- в 31,9% диагноз ХЭ, предполагаемый при гистероскопии, не подтвержден ИГХ ввиду отсутствия CD138+ маркировки;
- при других формах бесплодия – полная картина ХЭ определена у 6,6% с БНГ, ТПБ и НГЭ; неполная – 26,9% с ТПБ, 5,4% – с БНГ и НГЭ; сочетание ХЭ с ПЭ – 3,0% (с ТПБ и НГЭ); ХЭ с ГЭ – 1,5% (с ТПБ и НГЭ);
- морфологическое соответствие эндометрия фазе МЦ в выборке определено: у 62,6% женщин с БНГ, ТПБ и НГЭ, в полтора раза реже при ХЭ (46,4%) ($p < 0,05$), в три раза – с «тонким» эндометрием (21,4%) ($p < 0,05$);
- картина дисхронизма преобладала в группе с «тонким» эндометрием (78,6%) и ХЭ (53,6%) ($p < 0,05$) за счет гипопластически–диспластического типа (соответственно 66,7% и 21,7%) ($p < 0,05$).

При констатации морфологически нормального эндометрия различными методами выявлена вариабельность: при сонографии – в группах с НГЭ, БНГ и ТПБ в 8 раз чаще, чем с ХЭ (47,5% против 5,8%, $p < 0,05$); гистероскопии – у 34,2%; морфологическом исследовании – 36,9%.

Различная диагностическая информативность методов (сонография, гистероскопия) выявления типов эндометриальных «повреждений» (в отличие от морфологического исследования) влияла на выбор лечебной тактики.

Достоверно большие диагностические возможности (эффективность) гистероскопии в сравнении с сонографией подтверждает частота выявления:

- ✓ пролиферативного типа (сонография – 68,0%, гистероскопия – 90,0%):
 - при сонографии – гиподиагностика – 15,6% в группах с БНГ, ТПБ, НГЭ, гиподиагностика – 14,5% в группе с ХЭ; гипердиагностика – 14,5% с ХЭ;
 - при гистероскопии – гипердиагностика у 6,1% женщин с ТПБ, БНГ и НГЭ;
- ✓ диспластического типа (сонография – 78,0%, гистероскопия – 86,0%):

- при сонографии – гипердиагностика – у 33,3% женщин с «тонким» эндометрием, в группах с ТПБ, НГЭ и ХЭ в семь раз реже ($p<0,05$), с БНГ – 26,4% ($p<0,05$);
- при гистероскопии – гипердиагностика – 13,2% в группе с БНГ, гиподиагностика – у 5,5% женщин с НГЭ и «тонким» эндометрием;
- ✓ хронического воспаления (сонография – 96,0%, гистероскопия – 90,0%):
 - при сонографии – наименьшая частота ошибочных заключений (3,0% гиподиагностика при ТПБ и НГЭ, 5,8% – при ХЭ),
 - при гистероскопии – гипердиагностика – 31,9% в группе с ХЭ;
- ✓ нормального (неизмененного) эндометрия (сонография – 79,0%, гистероскопия – 82,0%):
 - при сонографии – гиподиагностика – втрое чаще у женщин с «тонким» эндометрием и ХЭ против БНГ [соответственно 27,3% и 9,4% ($p<0,05$)], гипердиагностика – у 14,0% в группах с ТПБ и НГЭ;
 - при гистероскопии – гиподиагностика в группе с ТПБ в четыре раза реже, чем при ХЭ (31,9% против 7,7% при ТПБ ($p<0,05$) и 17,0% с БНГ), гипердиагностика – 4,4% женщин с НГЭ и «тонким» эндометрием;
- При нарушении микробиоты влагалища в сравнении с нормоценозом контаминация других биотопов генитального тракта встречалась достоверно чаще: отделяемого цервикального канала (в группах с ТПБ, НГЭ, ХЭ – 31,0%, 10,4% – с БНГ) против 7,6% на выборку женщин; эндометрия (в группах с ТПБ, НГЭ, «тонким» эндометрием, ХЭ – 27,2% и 13,2% – БНГ) против 14,3% на выборку. Наибольший удельный вес при оценке биотопа эндоцервикса был обусловлен:
 - в группе с ХЭ – сочетанием условно–патогенных микроорганизмов в диагностических титрах $>10^4$ с ВПЧ ВР – 31,0%, в остальных – 12,2%; при БНГ – с уреа–/микоплазменной инфекцией – 33,3%, ВПГ1 – 27,8%.

Лактобациллярный тип микробиоты эндометрия при интактном отделяемом эндоцервикса встречался достоверно чаще, чем при контаминации:

- в группе с БНГ – в 2,5 раза, с «тонким» эндометрием – в 7,7 раз;

Контаминация эндометрия при нарушении цервикального биотопа встречалась чаще, чем интактном содержимом:

- при БНГ – в 2,5 раз; ТПБ – практически в три раза; НГЭ – в три раза; в группе с «тонким» эндометрием – в 1,7 раза; с ХЭ – в 2,2 раза.

Частота контаминации эндометрия варьировала по сравнению с биотопами нижележащих отделов (влагалища и эндоцервикса):

- при БНГ – 13,2% против 34,9%; ТПБ – 38,5% против 59,6%; НГЭ – 34,5% против 55,1%; «тонком» эндометрии – 32,6% в среднем; ХЭ 59,4% в среднем; с наибольшим удельным весом *E. coli* – 26,4% – с ТПБ, НГЭ, ХЭ 3,6% против 3,6% при БНГ.

Выявлено влияние состава микробиоты на полноценность ремоделирования эндометрия в период «окна имплантации»:

- лактобациллярного – при средней стадии фазы секреции достоверно чаще, чем с нелактобациллярным: абсолютное преобладание в группе с «тонким» эндометрием (50,0%), ТПБ – в пять раз (73,9% против 14,3%) ($p < 0,05$) и ХЭ – многократно (74,1% против 4,8%) ($p < 0,05$);
- нелактобациллярного – при гипопластически–диспластическом варианте: достоверно чаще в группе с ХЭ – практически в 6,4 раз (38,1% против 3,7%) ($p < 0,05$), НГЭ – в 8 раз (55,6% против 7,7%) ($p < 0,05$); при «несинфазном» эндометрии суммарно: в группе с ТПБ – практически в четыре раза (85,7% против 26,1%) ($p < 0,05$), ХЭ (95,2% против 25,9%) – в два раза ($p < 0,05$).

Таким образом, колонизация эндометрия лактобациллярной флорой представляется более оптимальной средой для имплантации бластоцисты, чем в присутствии нелактобациллярного типа микробиоты, восприимчивость к которой обусловлена другими составляющими «микроокружения».

Очевидно, неоднородность типов эндометрия (пролиферативный, диспластический, хроническое воспаление, норма) объясняется степенью изменений клеточного гомеостаза на стрессовую реакцию, обусловленной патогенной микробиотой и/или травмой, определяющих различные структурно–метаболические нарушения.

ГЛАВА 5. ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИОННО–ГОМЕОСТАТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ЭНДОМЕТРИЯ ЖЕНЩИН С ПОВТОРНЫМИ НЕУДАЧАМИ ЭКО

5.1 Результаты иммуногистохимических исследований иммунного профиля эндометрия

Суммация данных гистероскопии и патоморфологических исследований позволила выявить внутри каждой группы женщин с бесплодием (БНГ, ТПБ, на фоне НГЭ, ХЭ, «тонкого» эндометрия) различные гистотипы: пролиферативный, диспластический, ассоциированный с хроническим воспалением, «нормальный», которые выступали основой обозначенных далее молекулярных характеристик.

Результаты ИГХ исследований произвольно отобранных образцов эндометрия (n=171) позволили классифицировать варианты молекулярных особенностей, адаптированных по терминологии к типам реакций по визуальным (гистероскопия) и патоморфологическим заключениям:

Выделены следующие варианты фенотипов внутри групп:

- при БНГ (n=21): нарушенный иммунный статус (n=10) и диспластический (n=11);
- ТПБ (n=74): пролиферативный (n=12), ХЭ (n=20), вариант нормы (n=12), диспластический (n=18), нарушенный иммунный статус (n=12);
- НГЭ (n=22): нарушенный иммунный статус (n=10) и пролиферативный (n=12);
- ХЭ (n=36): картина продуктивного воспаления (n=10), пролиферативный (n=8), сочетание с ПЭ (n=8); диспластический (n=10);
- «тонкий» эндометрий (диспластический) (n=8);
- группа сравнения (n=10) (Рисунок 19).

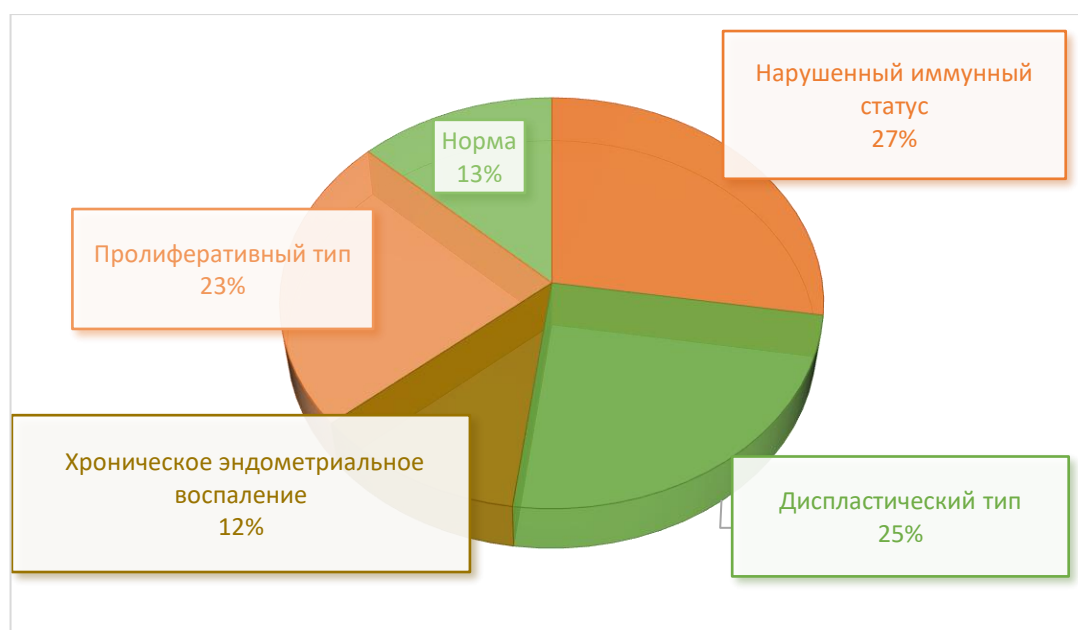


Рисунок 19 – Молекулярные фенотипы эндометрия

Обращает внимание соответствие экспрессии иммунных маркеров в период «окна имплантации» в образцах эндометрия 12 женщин с ТПБ с аналогичным в группе сравнения ($n=10$), что делает возможным их объединение на втором этапе исследования ($n=22$).

На втором этапе осуществляли суммирование молекулярных фенотипов, различных не только между группами, но и внутри каждого нозологического варианта. Представление об иммунном профиле базировалось на выделении типа эндометриального «ответа» (пролиферативный, диспластический, хроническое воспаление, норма, нарушенный иммунный статус).

В Таблицах 43–44 представлены результаты экспрессии маркеров в железистом компоненте и строме эндометрия в виде Me (Q25; Q75).

Таблица 43 – Особенности экспрессии цитокинов при фенотипах эндометрия в железистом компартменте

Группы	Фенотипы	N	GM-CSF	TNF- α	IL-10	BCA1	CXCL16	NRF2
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	160 (140;170)	165 (150;180)	170(160;190)	115(90;130)	167,5(150;190)	290(280;290)
	Диспластический	11	50 (30;70)	110(100;140)	120(100;150)	60(50;80)	110(100;140)	240(230;245)
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	245(230;260)	280(240;280)	180(160;215)	155(140;190)	240(225;250)	285(280;290)
	Хроническое воспаление	20	270(260;280)	280(260;280)	110(100;130)	267,5(260;280)	280(260;290)	260(255;265)
	Норма	12	220(215;235)	230(215;250)	215(200;250)	152,5(140;170)	250(225;257,5)	265(260;272,5)
	Диспластический	18	50(40;80)	115(110;140)	110(100;140)	60(50;80)	120(110;130)	240(190;250)
	Нарушенный иммунный статус	12	155(150;175)	180(162,5;190)	190(152,5;195)	100(95;117,5)	155(150;190)	282,5(280;287,5)
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	160(150;180)	180(150;180)	190(160;200)	120(90;130)	185(160;200)	270(260;280)
	Пролиферативный	12	265(250;280)	270(255;280)	195(170;230)	170(155;190)	230(220;255)	270(260;280)
Хронический эндометрит	Воспаление	10	270(265;280)	270(260;290)	105(90;130)	260(255;270)	270(260;290)	275(260;280)
	Пролиферативный	8	262,5(240;275)	235(225;250)	130(105;135)	157,5(140;180)	265(240;270)	260(245;265)
	+полип эндометрия	8	265(240;285)	245(235;280)	125(95;130)	165(140;172)	260(245;277,5)	275(265;282,5)
	Диспластический	10	120(100;140)	165(150;170)	125(100;150)	65(40;80)	120(100;140)	215(210;220)
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	45(35;65)	120(105;130)	120(90;130)	60(30;70)	115(100;130)	205(145;245)
Группа сравнения		10	220(200;240)	245(220;260)	220(200;240)	157,5(155;170)	230(200;250)	267,5(260;275)

Таблица 44 – Особенности экспрессии цитокинов при фенотипах эндометрия в стромальном компартменте

Группы	Фенотипы	N	GM-CSF	TNF- α	IL-10	TGF- β 1	CXCL16	NRF2
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	165(160;180)	167,5(150;180)	205(180;210)	2 (2;3)	157,5(140;180)	255(210;280)
	Диспластический	11	50 (40;70)	40(40;50)	60(50;80)	3(3;3)	65(50;90)	210(200;220)
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	185(165;215)	220(215;240)	130(105;145)	2(2;3)	262,5(220;270)	280(270;280)
	Хроническое воспаление	20	270(260;275)	270(260;280)	120(90;125)	1(1;2)	270(265;290)	252,5(250;260)
	Норма	12	220(210;240)	230(220;240)	230 (210;245)	2(1,5;2)	215(190;240)	260(255;270)
	Диспластический	18	105(90;120)	60(55;70)	80(75;90)	3(3;3)	62,5(55;70)	225(200;245)
	Нарушенный иммунный статус	12	160(155;170)	177,5(160;190)	180(170;197,5)	2(2;2,5)	165(145;177,5)	270(260;280)
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	155(145;180)	170(160;180)	175(150;190)	2(2;3)	182,5(150;190)	170(160;180)
	Пролиферативный	12	180(160;205)	240(215;245)	140(135;170)	2(2;2)	180(155;200)	120(110;130)
Хронический эндометрит	Воспаление	10	260(240;260)	240(240;280)	110(100;140)	1(1;2)	265(240;270)	260(250;270)
	Пролиферативный	8	170(160;200)	230(200;230)	110(95;120)	2,5(1,5;3)	250(210;262,5)	145(130;160)
	+полип эндометрия	8	180(165;185)	205(200;230)	130(95;140)	2(2;2,5)	210(180;240)	250(225;280)
	Диспластический	10	90(80;100)	50(40;60)	80(60;90)	3(3;3)	75(50;100)	170(160;220)
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	32,5(20;55)	45(35;50)	62,5(50;80)	3(3;3)	62,5(55;70)	170(110;205)
Группа сравнения		10	220(200;240)	230(220;240)	215(200;220)	2(2;3)	220(210;240)	265(255;270)

В Таблице 45 представлены показатели экспрессии GM-CSF при фенотипах эндометрия.

Таблица 45 – Экспрессия GM-CSF в железистом компартменте эндометрия

Группы	Фенотипы	N	GM-CSF	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	160(140;170)	
	Диспластический	11	50 (30;70)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	245(230;260)	vs ХЭ < 0,001 vs диспластический тип=0,002 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Хроническое воспаление	20	270(260;280)	vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Норма	12	220(215;235)	vs пролиферативный тип <0,001 vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Диспластический	18	50(40;80)	vs ХЭ диспластический тип < 0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Нарушенный иммунный статус	12	155(150;175)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	160(150;180)	
	Пролиферативный	12	265(250;280)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
Хронический эндометрит	Воспаление	10	270(265;280)	
	Пролиферативный	8	262,5(240;275)	
	+полип эндометрия	8	265(240;285)	vs диспластический <0,001
	Диспластический	10	120(100;140)	vs ХЭ <0,001 vs пролиферативный <0,001 vs БНГ диспластический тип <0,001
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	45(35;65)	vs ХЭ диспластический тип <0,001
Группа сравнения		10	220(200;240)	со всеми группами <0,001, кроме «нормы» при ТПБ

При фенотипе нарушенного иммунного статуса экспрессия GM-CSF в эпителиоцитах желез в группах с БНГ, ТПБ, НГЭ оказалась достоверно ниже – в 1,4 раза ($p < 0,001$). В группе с ТПБ экспрессия маркеров при фенотипах эндометрия значимо отличалась от аналогичных в группе сравнения: при хроническом

воспалении – в 1,2 раза выше ($p < 0,05$), пролиферативном – в 1,1 раза ($p < 0,05$), нарушенном иммунном статусе – в полтора раза ниже ($p < 0,05$), диспластическом – в 4,4 раза ($p < 0,05$). Статистически значимых различий экспрессии данного маркера при фенотипе нормы и в группе сравнения не выявлено. Площадь иммунопозитивных структур при пролиферативном фенотипе в группе с НГЭ оказалось достоверно больше, чем с ТПБ ($p < 0,05$) и в 1,6 раза – с нарушенным иммунным статусом ($p < 0,05$). В группе с ХЭ при фенотипе воспаления, пролиферативном, сочетании с ПЭ уровень экспрессии был достоверно выше, чем в группе сравнения – в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Количество иммунопозитивных клеток при диспластическом фенотипе в группах с БНГ, ТПБ, «тонким» эндометрием оказалось значимо ниже, чем с ХЭ ($p < 0,05$), в группе сравнения ($p < 0,05$) и при других фенотипах ($p < 0,05$). Вариабельность экспрессии GM-CSF в эпителиоцитах желез в отличие от группы сравнения выявлена при всех фенотипах, кроме нормы при ТПБ. Определены достоверные различия экспрессии маркера в патоморфологически неоднородных зонах – ПЭ и прилежащем эндометрии ($p < 0,05$). В зоне неизмененного эндометрия рядом с ПЭ показатели GM-CSF не отличалась от значения в группе сравнения.

В Таблице 46 представлены результаты оценки экспрессии GM-CSF в строме эндометрия при различных фенотипах.

Женщин с фенотипом нарушенного иммунного статуса в группах с БНГ, НГЭ и ТПБ отличала достоверно низкая, чем группе сравнения в экспрессия GM-CSF в стромальном компоненте – в 1,3–1,4 раза ($p < 0,05$). При пролиферативном фенотипе количество иммунопозитивных клеток оказалось значимо выше, чем нарушенном иммунном статусе ($p < 0,05$) и у здоровых женщин – в 1,2 раза ($p < 0,05$). В группе с ХЭ и его сочетанием с ПЭ показатели были сопоставимы. При ТПБ экспрессия маркера при фенотипе воспаления достоверно превышала аналогичную при других фенотипах внутри самой группы ($p < 0,05$) и у женщин с ХЭ (за счет вариативности диапазона вследствие морфологически неоднородной картины) ($p < 0,05$). Показатели GM-CSF при картине воспаления были значимо выше, чем в группе сравнения – в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Таблица 46 – Экспрессия GM-CSF в строме эндометрия

Группы	Фенотипы	N	GM-CSF	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	165(160;180)	
	Диспластический	11	50 (40;70)	vs нарушенный иммунный статус <0,001 vs ТПБ диспластический тип <0,001
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	185(165;215)	vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип < 0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Хроническое воспаление	20	270(260;275)	vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус = 0,007 vs ХЭ+ПЭ <0,001
	«Норма»	12	220(210;240)	vs пролиферативный тип = 0,005 vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Диспластический	18	105(90;120)	vs «тонкий» эндометрий <0,001
	Нарушенный иммунный статус	12	160(155;170)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	155(145;180)	
	Пролиферативный	12	180(160;205)	
Хронический эндометрит	Воспаление	10	260(240;260)	vs пролиферативный тип = 0,004 vs полип эндометрия = 0,004
	Пролиферативный	8	170(160;200)	vs диспластический <0,001 vs ТПБ +воспаление <0,001
	+полип эндометрия	8	180(165;185)	vs диспластический <0,001
	Диспластический	10	90(80;100)	vs ХЭ = 0,002 vs ТПБ ХЭ <0,001
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	32,5(20;55)	vs ХЭ диспластический тип <0,001
Группа сравнения		10	220(200;240)	со всеми группами <0,001, кроме «нормы» при ТПБ

Показатели экспрессии маркера при пролиферативном фенотипе и нарушенном иммунном статусе были сопоставимы – в 1,1–1,2 раза ниже, чем при ТПБ и НГЭ ($p < 0,05$). Достоверным отличием женщин с диспластическим фенотипом оказалось снижение экспрессии GM-CSF от группы сравнения: при

БНГ – в 4,4 раза ($p<0,05$), «тонком» эндометрии – в 7 раз ($p<0,05$), ТПБ – в два раза ($p<0,05$), ХЭ – в 2,4 раза ($p<0,05$). Различия экспрессии маркера с показателем группы сравнения выявлены при всех фенотипах, кроме варианта нормы при ТПБ.

В Таблице 47 представлены показатели экспрессии TNF- α в железистом компартменте при различных фенотипах эндометрия.

Таблица 47 – Экспрессия TNF- α в эпителиоцитах желез эндометрия

Группы	Фенотипы	N	TNF- α	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	165(150;180)	
	Диспластический	11	110(100;140)	vs нарушенный иммунный статус $<0,001$
Трубно-перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	280(240;280)	vs диспластический тип $<0,001$
	Хроническое воспаление	20	280(260;280)	vs диспластический тип $<0,001$ vs нарушенный иммунный статус $<0,001$
	Норма	12	230(215;250)	vs пролиферативный тип = 0,003 vs ХЭ $<0,001$ vs диспластический тип $<0,001$ vs нарушенный иммунный статус $<0,001$
	Диспластический	18	115(110;140)	vs ХЭ диспластический тип $<0,001$
	Нарушенный иммунный статус	12	180(162,5;190)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	180(150;180)	
	Пролиферативный	12	270(255;280)	vs нарушенный иммунный статус $<0,001$ vs ХЭ пролиферативный тип $<0,001$
Хронический эндометрит	Воспаление	10	270(260;290)	vs пролиферативный тип $<0,001$
	Пролиферативный	8	235(225;250)	vs ТПБ пролиферативный тип = 0,009 vs ТПБ ХЭ $<0,001$
	+полип эндометрия	8	245(235;280)	vs диспластический тип $<0,001$
	Диспластический	10	165(150;170)	vs пролиферативный тип $<0,001$ vs ХЭ $<0,001$ vs БНГ диспластический тип $<0,001$
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	120(105;130)	vs ХЭ диспластический тип $<0,001$
Группа сравнения		10	245(220;260)	со всеми группами $<0,001$, кроме групп: ХЭ+ПЭ; пролиферативного фенотипа при ХЭ; «нормы» при ТПБ

Женщин с фенотипом нарушенного иммунного статуса эндометрия отличал достоверно низкий в отличие от группы сравнения уровень экспрессии TNF- α в эпителиоцитах желез при различных формах бесплодия – в полтора раза при БНГ ($p<0,05$), в 1,4 раза – НГЭ и ТПБ ($p<0,05$). Различия были статистически значимы при вариантах фенотипа женщин с БНГ и ТПБ ($p<0,05$).

При пролиферативном фенотипе эндометрия показатель TNF- α при ТПБ и НГЭ оказался достоверно выше ($p<0,05$), чем в группе сравнения, с ХЭ – статистически значимых отличий не было. Экспрессия маркера в ткани ПЭ была аналогична таковой в группах с ТПБ и НГЭ ($p<0,05$).

При ТПБ значения маркера достоверно отличались от группы сравнения: при пролиферативном фенотипе и ХЭ – в 1,1 раза выше, диспластическом – в два раза ниже ($p<0,05$), нарушенном иммунном статусе – в 1,4 раза ($p<0,05$). Показатели TNF- α при пролиферативном фенотипе и ХЭ в группе с ТПБ были сопоставимы.

Отличием группы с НГЭ и пролиферативным фенотипом оказалось достоверно большее количество TNF- α -иммунопозитивных клеток железистого компартмента в сравнении с фенотипом нарушенного иммунного статуса – в полтора раза ($p<0,05$), при ХЭ – в 1,2 раза ($p<0,05$). Экспрессия маркера при фенотипе хронического воспаления достоверно превышала показатель при пролиферативном ($p<0,05$), значение которого, в свою очередь, было сопоставимо с аналогичным в группе сравнения. При диспластическом фенотипе у женщин с ХЭ экспрессия маркера была в полтора раза выше, чем в остальных группах (БНГ, ТПБ, с «тонким» эндометрием) ($p<0,05$).

Достоверные различия экспрессии маркера в эпителиоцитах желез эндометрия с группой сравнения выявлены при всех фенотипах, кроме варианта нормы при ТПБ, пролиферативного фенотипа на фоне ХЭ, сочетании ХЭ с ПЭ.

В Таблице 48 представлены показатели TNF- α в строме при различных фенотипах эндометрия.

Таблица 48 – Экспрессия TNF- α в стромальном компартменте эндометрия

Группы	Фенотипы	N	TNF- α строма	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	167,5(150;180)	
	Диспластический	11	40(40;50)	vs ТПБ диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	220(215;240)	vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Хроническое воспаление	20	270(260;280)	vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001 vs ХЭ+ПЭ <0,001
	Норма	12	230(220;240)	vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Диспластический	18	60(55;70)	vs нарушенный иммунный статус <0,001 vs «тонкий» эндометрий <0,001
	Нарушенный иммунный статус	12	177,5(160;190)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	170(160;180)	vs ТПБ пролиферативный тип <0,001
	Пролиферативный	12	240(215;245)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
Хронический эндометрит	Воспаление	10	240(240;280)	
	Пролиферативный	8	230(200;230)	vs ХЭ = 0,01
	+полип эндометрия	8	205(200;230)	vs диспластический <0,001 vs ХЭ = 0,002
	Диспластический	10	50(40;60)	vs ХЭ <0,001 vs ТПБ диспластический тип =0,003 vs пролиферативный тип <0,001
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	45(35;50)	
Группа сравнения		10	230(220;240)	со всеми группами <0,001, кроме групп: ХЭ+ПЭ; пролиферативного фенотипа при НГЭ; пролиферативного при ХЭ; пролиферативного при ТПБ; «нормы» при ТПБ

При исследовании стромы эндометрия выявлено достоверное снижение экспрессии TNF- α при фенотипе нарушенного иммунного статуса в группах с БНГ, ТПБ и НГЭ – в 1,2–1,3 раза ($p < 0,05$). Достоверных различий TNF- α –

иммунопозитивных клеток стромы в группах с пролиферативным фенотипом эндометрия при ТПБ, НГЭ, ХЭ не отмечено.

Женщины с фенотипом хронического воспаления в группе с ТПБ имели статистически значимо повышенные показатели экспрессии маркера в отличие от группы сравнения – в 1,2 раза ($p<0,05$) и воспаления в группе с ХЭ – в 1,1 раза ($p<0,05$). Экспрессия TNF- α в группе с нарушенным иммунным статусом была достоверно ниже, чем с пролиферативным фенотипом – в 1,2 раза при ТПБ ($p<0,05$) и 1,4 раза – НГЭ ($p<0,05$). В группе с сочетанием ПЭ с ХЭ показатель TNF- α оказался значимо ниже, чем при фенотипе воспаления – в 1,2 раза ($p<0,05$).

Достоверным отличием женщин с диспластическим фенотипом во всех группах с бесплодием было резкое снижение экспрессии TNF- α в отличие от показателя группы сравнения – в 3,8–5,7 раз ($p<0,05$). Экспрессия маркера в группе с ТПБ оказалась значимо ниже, чем с «тонким» эндометрием и ХЭ ($p<0,05$) за счет вариаций значений в пределах характерного для фенотипа диапазона. Различия показателей экспрессии TNF- α в строме эндометрия с группой сравнения были выявлены при всех фенотипах, кроме нормы при ТПБ, пролиферативного фенотипа в группах с ТПБ, НГЭ и ХЭ.

В Таблице 49 представлены показатели IL-10 в эпителиоцитах желез при различных фенотипах эндометрия.

Экспрессия IL-10 при фенотипе нарушенного иммунного статуса была достоверно ниже, чем в группе сравнения: при НГЭ – в 1,1 раза ($p<0,05$), БНГ – в 1,3 раза ($p<0,05$), ТПБ – в 1,6 раза ($p<0,05$).

В группе с ТПБ показатели маркера при различных фенотипах значимо отличалась от аналогичных в группе сравнения ($p<0,05$).

Таблица 49 – Экспрессия IL–10 в железистом компартменте эндометрия

Группы	Фенотипы	N	IL–10	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	170(160;190)	
	Диспластический	11	120(100;150)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	180(160;215)	vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001
	Хроническое воспаление	20	110(100;130)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Норма	12	215(200;250)	vs пролиферативный тип <0,001 vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Диспластический	18	110(100;140)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Нарушенный иммунный статус	12	190(152,5;195)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	190(160;200)	
	Пролиферативный	12	195(170;230)	vs ХЭ пролиферативный тип = 0,002
Хронический эндометрит	Воспаление	10	105(90;130)	
	Пролиферативный	8	130(105;135)	vs ТПБ пролиферативный тип <0,001
	+полип эндометрия	8	125(95;130)	
	Диспластический	10	125(100;150)	
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	120(90;130)	
Группа сравнения		10	220(200;240)	со всеми группами <0,001, кроме групп: пролиферативного фенотипа при НГЭ; «нормы» при ТПБ

В группах с ТПБ и НГЭ показатели иммунопозитивных клеток при пролиферативном фенотипе и нарушенном иммунном статусе были сопоставимы, однако достоверно ниже, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). Экспрессия IL–10 при пролиферативном фенотипе в группе с ХЭ значимо уступала аналогичной женщин с ТПБ и НГЭ – в 1,4–1,5 раза ($p < 0,05$). В группе с ХЭ показатели маркера при различных фенотипах эндометрия достоверно не отличались, как и при воспалении на фоне ТПБ, однако были вдвое ниже, чем в группе сравнения ($p < 0,05$).

При диспластическом фенотипе в группах с бесплодием различного генеза количество маркированных клеток было сопоставимо ниже аналогичного в группе сравнения ($p < 0,05$). Различия в экспрессии IL-10 с группой сравнения были выявлены при всех фенотипах, кроме варианта нормы при ТПБ и пролиферативного фенотипа женщин с НГЭ.

В Таблице 50 представлены показатели IL-10 в строме при различных фенотипах эндометрия.

Таблица 50 – Экспрессия IL-10 в стромальном компартменте эндометрия

Группы	Фенотипы	N	IL-10	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	205(180;210)	
	Диспластический	11	60(50;80)	vs ТПБ диспластический тип = 0,008 vs нарушенный иммунный статус <0,001
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	130(105;145)	vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Хроническое воспаление	20	120(90;125)	vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Норма	12	230 (210;245)	vs пролиферативный тип <0,001 vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Диспластический	18	80(75;90)	
	Нарушенный иммунный статус	12	180(170;197,5)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	175(150;190)	vs БНГ нарушенный иммунный статус = 0,005
	Пролиферативный	12	140(135;170)	vs ХЭ пролиферативный тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус = 0,008
Хронический эндометрит	Воспаление	10	110(100;140)	
	Пролиферативный	8	110(95;120)	
	+полип эндометрия	8	130(95;140)	vs диспластический <0,001
	Диспластический	10	80(60;90)	vs ХЭ <0,001 vs пролиферативный тип = 0,002
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	62,5(50;80)	
Группа сравнения		10	215(200;220)	со всеми группами <0,001, кроме групп: при нарушенном иммунном статусе с БНГ; «нормы» при ТПБ

Результаты экспрессии IL-10 в строме эндометрия указывали на сохранность тенденций, наблюдаемых в железистом компартменте.

При фенотипе нарушенного иммунного статуса в группе с БНГ экспрессия маркера достоверно не отличалась от аналогичной в группе сравнения, при ТПБ и НГЭ – оказалась ниже в 1,2 раза ($p < 0,05$).

При пролиферативном фенотипе экспрессия значимо превышала показатель в группе с нарушенным иммунным статусом: при ТПБ – в 1,4 раза ($p < 0,05$), НГЭ – в 1,2 раза ($p < 0,05$). В отличие от группы сравнения достоверно низкий показатель маркера выявлен при ТПБ и НГЭ – в 1,5–1,6 раза ($p < 0,05$), ХЭ – в два ($p < 0,05$).

Отличием фенотипа хронического воспаления при ТПБ, ХЭ, его сочетании с ПЭ была более низкая экспрессия IL-10 – в два раза, чем у здоровых женщин ($p < 0,05$). Примечательно, что показатель маркера в группе с НГЭ при пролиферативном фенотипе оказался достоверно выше, чем у женщин с ХЭ ($p < 0,05$). При диспластическом фенотипе экспрессия IL-10 в группах достоверно преобладала не только в отличие от группы сравнения – в 2,7–3,4 раза ($p < 0,05$), но и других фенотипов ($p < 0,05$).

Различия экспрессии IL-10 в строме эндометрия с группой сравнения были выявлены при всех фенотипах, кроме варианта нормы при ТПБ, нарушенного иммунного статуса при БНГ.

В Таблице 51 представлены показатели CXCL16 в эпителиоцитах желез при различных фенотипах эндометрия.

При фенотипе с нарушенным иммунным статусом экспрессия хемокина CXCL16 в эпителиоцитах желез в группах с БНГ, ТПБ и НГЭ оказалась статистически значимо ниже, чем в группе сравнения – в 1,2–1,4 раза ($p < 0,05$). При НГЭ показатель маркированных клеток достоверно превышал таковой женщин с ТПБ – в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Экспрессия маркера при пролиферативном фенотипе женщин с ТПБ и НГЭ была сопоставима с показателем здоровых женщин, в группе с ХЭ – оказалась достоверно выше ($p < 0,05$).

Таблица 51 – Экспрессия CXCL16 в железистом компартменте эндометрия

Группы	Фенотипы	N	CXCL16	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	167,5(150;190)	
	Диспластический	11	110(100;140)	
Трубно–перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	240(225;250)	vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Хроническое воспаление	20	280(260;290)	vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Норма	12	250(225;257,5)	vs ХЭ < 0,001 vs диспластический тип <0,001
	Диспластический	18	120(110;130)	
	Нарушенный иммунный статус	12	155(150;190)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	185(160;200)	
	Пролиферативный	12	230(220;255)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
Хронический эндометрит	Воспаление	10	270(260;290)	vs диспластический тип <0,001
	Пролиферативный	8	265(240;270)	
	+полип эндометрия	8	260(245;277,5)	vs диспластический тип <0,001
	Диспластический	10	120(100;140)	vs пролиферативный тип <0,001
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	115(100;130)	
Группа сравнения		10	230(200;250)	со всеми группами <0,001, кроме групп: пролиферативного фенотипа при НГЭ; пролиферативного при ТПБ; «нормы» при ТПБ

В группе с ХЭ – при фенотипе воспаления, пролиферативном, сочетании воспаления с ПЭ показатели CXCL16 значимо не отличались. При диспластическом фенотипе и различных формах бесплодия экспрессия хемокина статистически значимо уступала показателю здоровых женщин – практически в два раза ($p < 0,05$). Экспрессия CXCL16 в железистом компартменте эндометрия достоверно отличалась от группы сравнения при всех фенотипах, кроме варианта нормы при ТПБ, пролиферативного фенотипа при НГЭ и ТПБ.

В Таблице 52 представлены показатели CXCL16 в стромальном компартменте при различных фенотипах эндометрия.

Таблица 52 – Экспрессия CXCL16 в стромальном компартменте эндометрия

Группы	Фенотипы	N	CXCL16	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	157,5(140;180)	
	Диспластический	11	65(50;90)	vs нарушенный иммунный статус = 0,002
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	262,5(220;270)	vs ХЭ = 0,004 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Хроническое воспаление	20	270(265;290)	vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001 vs ХЭ+ПЭ <0,001
	Норма	12	215(190;240)	vs пролиферативный тип = 0,002 vs ХЭ = 0,004 vs диспластический тип <0,001
	Диспластический	18	62,5(55;70)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Нарушенный иммунный статус	12	165(145;177,5)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	182,5(150;190)	
	Пролиферативный	12	180(155;200)	vs ТПБ пролиферативный тип <0,001
Хронический эндометрит	Воспаление	10	265(240;270)	vs ХЭ+ПЭ <0,001
	Пролиферативный	8	250(210;262,5)	vs ТПБ ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001
	+полип эндометрия	8	210(180;240)	vs диспластический тип < 0,001
	Диспластический	10	75(50;100)	vs ХЭ<0,001
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	62,5(55;70)	
Группа сравнения		10	220(210;240)	со всеми группами <0,001, кроме групп: ХЭ+ПЭ; «нормы» при ТПБ

Показатели экспрессии хемокина CXCL16 в строме эндометрия при нарушенном иммунном статусе достоверно уступали аналогичным в группе сравнения: при ТПБ и БНГ – в 1,4 раза ($p<0,05$), НГЭ – в 1,2 раза ($p<0,05$). В группе с НГЭ уровень экспрессии маркера несколько превышал таковой при БНГ ($p<0,05$).

Женщин с пролиферативным фенотипом отличала вариабельность показателей экспрессии CXCL16: при НГЭ оказалась достоверно ниже – в полтора раза, чем с ТПБ ($p<0,05$) и в 1,4 раза, чем с ХЭ ($p<0,05$). В группе с НГЭ показатели

маркера при нарушенном иммунном статусе и пролиферативном фенотипе были сопоставимы.

При фенотипе хронического воспаления в группах с ХЭ и ТПБ показатели маркера были значимо выше, чем в группе сравнения – в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Выявлены достоверные различия экспрессии маркера при ХЭ и его сочетании с ПЭ ($p < 0,05$), в сравнении с аналогичной при пролиферативном фенотипе ($p > 0,05$).

При диспластическом фенотипе эндометрия показатель CXCL16 оказался значимо ниже, чем у здоровых женщин – в 2,9–3,5 раза во всех группах с бесплодием ($p < 0,05$).

Различия экспрессии маркера CXCL16 с показателем здоровых женщин были статистически значимы для всех групп, кроме варианта нормы при ТПБ, сочетания ХЭ с ПЭ.

В Таблице 53 представлены показатели экспрессии VCA1 в железистом компартменте при различных фенотипах эндометрия.

Экспрессия VCA1 в эпителиоцитах желез при нарушенном иммунном статусе в группах с БНГ, ТПБ и НГЭ оказалась значимо ниже, чем у здоровых женщин – в 1,3–1,5 раза ($p < 0,05$).

При пролиферативном фенотипе в группах с ТПБ и НГЭ показатель маркера значимо не отличался от аналогичного в группе сравнения ($p < 0,05$).

Женщины с фенотипом воспаления в группах с ХЭ, ТПБ имели достоверно повышенную экспрессию хемокина: в 1,6 раза ниже показателя здоровых женщин ($p < 0,05$), чем при сочетании ХЭ с ПЭ ($p < 0,05$), с пролиферативным фенотипом ($p < 0,05$).

При диспластическом фенотипе эндометрия во всех группах показатель VCA1 варьировал в диапазоне низких значений, статистически значимо ниже, чем в группе сравнения – в 2,6 раза ($p < 0,05$).

Таблица 53 – Экспрессия ВСА1 в железистом компартменте эндометрия

Группы	Фенотипы	N	BCA1	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	115(90;130)	
	Диспластический	11	60(50;80)	vs нарушенный иммунный статус < 0,001
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	155(140;190)	vs ХЭ <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Хроническое воспаление	20	267,5(260;280)	vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001 vs ХЭ+ПЭ <0,001
	Норма	12	152,5(140;170)	vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Диспластический	18	60(50;80)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Нарушенный иммунный статус	12	100(95;117,5)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	120(90;130)	
	Пролиферативный	12	170(155;190)	vs нарушенный иммунный статус <0,001
Хронический эндометрит	Воспаление	10	260(255;270)	vs пролиферативный тип < 0,001
	Пролиферативный	8	157,5(140;180)	vs ТПБ ХЭ <0,001
	+полип эндометрия	8	165(140;172)	vs ХЭ <0,001
	Диспластический	10	65(40;80)	vs ХЭ <0,001 vs пролиферативный тип <0,001
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	60(30;70)	
Группа сравнения		10	157,5(155;170)	со всеми группами <0,001, кроме групп: ХЭ+ПЭ; пролиферативного фенотипа при НГЭ; пролиферативного при ХЭ; пролиферативного при ТПБ; «нормы» при ТПБ

Различия экспрессии ВСА1 в эпителиоцитах желез эндометрия с группой сравнения были выявлены при всех фенотипах, кроме варианта нормы при ТПБ, пролиферативного фенотипа при НГЭ и ТПБ, сочетании ХЭ с ПЭ.

В Таблице 54 представлены варианты экспрессии TGF- β 1 в строме при различных фенотипах эндометрия.

Таблица 54 – Экспрессия TGF- β 1 в стромальном компоненте эндометрия

Группы	Фенотипы	N	TGF- β 1	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	2 (2;3)	
	Диспластический	11	3(3;3)	vs нарушенный иммунный статус =0,007 vs группа сравнения <0,001
Трубно–перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	2(2;3)	vs ХЭ <0,001 vs диспластический тип = 0,008
	Хроническое воспаление	20	1(1;2)	vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001 vs группа сравнения <0,001
	Норма	12	2(1,5;2)	
	Диспластический	18	3(3;3)	vs нарушенный иммунный статус <0,001 vs группа сравнения <0,001
	Нарушенный иммунный статус	12	2(2;2,5)	vs норма = 0,01
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	2(2;3)	
	Пролиферативный	12	2(2;2)	
Хронический эндометрит	Воспаление	10	1(1;2)	vs полип эндометрия = 0,01 vs группа сравнения = 0,049
	Пролиферативный	8	2,5(1,5;3)	
	+полип эндометрия	8	2(2;2,5)	vs диспластический = 0,007 vs ТПБ ХЭ <0,001
	Диспластический	10	3(3;3)	vs ХЭ < 0,001 vs группа сравнения <0,001
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	3(3;3)	vs ХЭ диспластический тип <0,001
Группа сравнения		10	2(2;3)	

Экспрессия маркера TGF- β 1 в строме эндометрия при фенотипе нарушенного иммунного статуса и пролиферативном оказалась снижена до двух баллов и не отличалась от показателя здоровых женщин. Наименьшая экспрессия маркера (1 балл) была выявлена при фенотипе ХЭ ($p < 0,05$), максимальная – диспластическом ($p < 0,05$). Различия экспрессии TGF- β 1 с группой сравнения при диспластическом фенотипе были достоверны в группах с БНГ, ТПБ и ХЭ, при фенотипе хронического воспаления ($p < 0,05$).

В Таблице 55 представлены показатели маркированных NRF2–эпителиоцитов желез при различных фенотипах эндометрия.

Таблица 55 – Экспрессия NRF2 в эпителиоцитах желез эндометрия

Группы	Фенотипы	N	NRF2	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	290(280;290)	vs группа сравнения <0,001
	Диспластический	11	240(230;245)	vs нарушенный иммунный статус <0,001 vs группа сравнения <0,001
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	285(280;290)	vs XЭ < 0,001 vs диспластический тип <0,001
	Хроническое воспаление	20	260(255;265)	vs XЭ+ПЭ <0,001
	Норма	12	265(260;272,5)	vs пролиферативный тип = 0,006 vs диспластический тип <0,001 vs нарушенный иммунный статус <0,001
	Диспластический	18	240(190;250)	vs нарушенный иммунный статус <0,001 vs группа сравнения <0,001
	Нарушенный иммунный статус	12	282,5(280;287,5)	vs группа сравнения = 0,01
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	270(260;280)	vs БНГ нарушенный иммунный статус = 0,003
	Пролиферативный	12	270(260;280)	
Хронический эндометрит	Воспаление	10	275(260;280)	
	Пролиферативный	8	260(245;265)	vs ТПБ пролиферативный тип = 0,006
	+полип эндометрия	8	275(265;282,5)	vs диспластический тип <0,001
	Диспластический	10	215(210;220)	vs XЭ <0,001 vs пролиферативный тип = 0,007 vs БНГ диспластический тип <0,001 vs группа сравнения <0,001
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	205(145;245)	
Группа сравнения		10	267,5(260;275)	

Содержание NRF2 в железистом компартменте эндометрия оказалось статистически значимо ниже, чем в группе сравнения только при диспластическом фенотипе: в 1,3 раза – в группе с «тонким» эндометрием ($p<0,05$) и XЭ ($p<0,05$), в 1,1 раза – при БНГ и ТПБ ($p<0,05$). Различия экспрессии NRF в эпителиоцитах

желез эндометрия с аналогичным показателем были выявлены при фенотипе нарушенного иммунного статуса в группах с БНГ и ТПБ, диспластическом – с БНГ, ТПБ и ХЭ.

Различия экспрессии NRF2 в стромальном компартменте эндометрия женщин с бесплодием различного генеза (Таблица 56) с показателем здоровых также определялись при диспластическом фенотипе: при ТПБ – в 1,1 раза ($p < 0,05$), БНГ – в 1,2 раза ($p < 0,05$), ХЭ – в 1,5 раза ($p < 0,05$).

Таблица 56 – Особенности экспрессии NRF2 в строме эндометрия

Группы	Фенотипы	N	NRF2	p (достоверность)
Бесплодие неясного генеза	Нарушенный иммунный статус	10	255(210;280)	
	Диспластический	11	210(200;220)	vs группа сравнения $< 0,001$
Трубно– перитонеальное бесплодие	Пролиферативный	12	280(270;280)	vs ХЭ $< 0,001$ vs диспластический тип $< 0,001$
	Хроническое воспаление	20	252,5(250;260)	vs диспластический тип $< 0,001$ vs нарушенный иммунный статус $< 0,001$ vs группа сравнения = 0,01
	Норма	12	260(255;270)	vs пролиферативный тип = 0,01 vs ХЭ = 0,01 vs диспластический тип $< 0,001$
	Диспластический	18	225(200;245)	vs группа сравнения $< 0,001$
	Нарушенный иммунный статус	12	270(260;280)	
Наружный генитальный эндометриоз	Нарушенный иммунный статус	10	170(160;180)	vs БНГ нарушенный иммунный статус $< 0,001$ vs ТПБ нарушенный иммунный статус $< 0,001$ vs группа сравнения $< 0,001$
	Пролиферативный	12	120(110;130)	vs ТПБ пролиферативный тип $< 0,001$ vs нарушенный иммунный статус $< 0,001$ vs ХЭ пролиферативный тип = 0,01 vs группа сравнения $< 0,001$
Хронический эндометрит	Воспаление	10	260(250;270)	vs пролиферативный тип $< 0,001$
	Пролиферативный	8	145(130;160)	vs ТПБ пролиферативный тип $< 0,001$ vs ХЭ+ПЭ $< 0,001$ vs ТПБ ХЭ $< 0,001$ vs группа сравнения $< 0,001$
	+полип эндометрия	8	250(225;280)	vs диспластический тип = 0,009
	Диспластический	10	170(160;220)	vs ТПБ ХЭ $< 0,001$ vs группа сравнения $< 0,001$
«Тонкий» эндометрий	Диспластический	8	170(110;205)	
Группа сравнения		10	265(255;270)	

Экспрессия маркера у женщин с НГЭ оказалась достоверно ниже: при пролиферативном фенотипе – в 2,2 раза ($p<0,05$), с нарушенным иммунным статусом – в полтора раза ($p<0,05$). Показатель NRF2 при пролиферативном типе в группе с ХЭ также оказался статистически значимо ниже, чем в группе сравнения – в 1,8 раза ($p<0,05$). Различия экспрессии NRF2 в строме эндометрия с аналогичными здоровых женщин при диспластическом фенотипе в группах с БНГ, ТПБ и ХЭ, пролиферативном – с ТПБ, НГЭ и ХЭ, фенотипе нарушенного иммунного статуса – с НГЭ, в группе с ТПБ – ХЭ.

5.2 Особенности иммунного профиля эндометрия, определяющие принадлежность к различным фенотипам

Ввиду преимущественной идентичности экспрессии исследованных маркеров в группах с формами бесплодия, ассоциированного с нарушением состояния /заболеваниями эндометрия в период «имплантационного окна», результаты были объединены, с градацией вариантов нарушения локального иммунного статуса с учетом ранее выделенных морфотипов (Таблицы 57–58):

- пролиферативный фенотип ($n=40$): ТПБ ($n=12$), ХЭ ($n=8$), ХЭ в сочетании с ПЭ ($n=8$), НГЭ ($n=12$);
- диспластический ($n=47$): группа с БНГ ($n=11$), ТПБ ($n=18$), «тонкий» эндометрий ($n=8$), ХЭ ($n=10$);
- фенотип хронического воспаления ($n=30$): воспаление ($n=10$), ТПБ ($n=20$);
- фенотип нарушенного иммунного статуса ($n=32$): группа с БНГ ($n=10$), ТПБ ($n=12$), НГЭ ($n=10$);
- фенотип «нормального» эндометрия ($n=12$): ТПБ ($n=12$).

В группу сравнения вошли объединенные результаты женщин с образцами эндометрия с фенотипом нормы из ТПБ ($n=12$) и здоровых женщин ($n=10$).

Таблица 57 – Особенности экспрессии маркеров в железистом компартменте при различных фенотипах эндометрия

Фенотипы	N	GM-CSF	TNF- α	IL-10	CXCL16	BCA1	NRF2
Нарушенный иммунный статус	42	160(150;175)	180(150;180)	180(160;195)	167,5(150;190)	110(92,5;120)	280 (280;290)
Диспластический	47	60(40;80)	120(110;140)	120(100;140)	120(110;130)	60(50;80)	230 (200;240)
Пролиферативный	40	260(240;270)	255(240;280)	165(130;200)	250(230;260)	162,5(145;180)	270 (260;282,5)
Хроническое воспаление	30	270(265;280)	280(260;280)	110(100;130)	280(260;290)	265(260;280)	260 (260;270)
Группа сравнения	22	220(210;240)	240(220;250)	220(200;250)	235(220;250)	155(150;170)	265(260;275)

Таблица 58 – Особенности экспрессии факторов в стромальном компартменте при различных фенотипах эндометрия

Фенотипы	N	GM-CSF	TNF- α	CXCL16	IL-10	NRF2	TGF- β 1
Нарушенный иммунный статус	42	165(155;175)	170(160;180)	165(150;180)	180(170;200)	260(180;272,5)	2 (2;3)
Диспластический	47	80(50;100)	50(40;60)	65(50;70)	75(60;90)	210(170;240)	3(3;3)
Пролиферативный	40	180(160;200)	220(205;240)	220(180;260)	135(105;140)	185(130;280)	2 (2;3)
Хроническое воспаление	30	260(260;270)	265(260;280)	270(260;280)	120(90;130)	250(250;260)	1 (1;2)
Группа сравнения	22	220(200;240)	230(220;240)	217,5(200;240)	220(200;240)	260(255;270)	2 (2;2)

Фенотипический профиль молекулярных маркеров в железистом компартменте эндометрия при нарушенном иммунном статусе показал значимые отличия от группы сравнения: сниженные значения показателей GM-CSF, BCA1, CXCL16 – в 1,4 раза, TNF- α – в 1,3 раза, IL-10 – в 1,2 раза, кроме NRF2, значение которого было несколько выше ($p=0,02$). Соотношение TNF- α /IL-10 = 1,0.

В строме эндометрия тенденция была аналогичной: экспрессия маркеров оказалась достоверно ниже, чем в группе сравнения: GM-CSF, TNF- α , CXCL16 – в 1,3 раза, IL-10 – в 1,2 раза. Соотношение TNF- α /IL-10 = 0,94.

Отличием диспластического типа эндометрия от группы сравнения оказалось выраженное снижение в эпителиоцитах желез экспрессии всех маркеров: GM-CSF – в 3,7 раза, TNF- α – в два раза, IL-10 – в 1,8 раза, CXCL16 – в два раза, BCA1 – в 2,6 раза, NRF2 – в 1,1 раза. Индекс TNF- α /IL-10 = 1,0. В строме эндометрия тенденция была аналогична: имело место снижение экспрессии GM-CSF – в 2,7 раза, TNF- α – в 4,6 раза, IL-10 – в 2,9 раза, CXCL16 – в 3,3 раза, NRF2 – в 1,2 раза наряду с наибольшим в сравнении с остальными фенотипами показателем TGF- β 1 (3 балла). Соотношение TNF- α /IL-10 = 0,7.

Молекулярный профиль женщин с пролиферативным фенотипом отличался дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов в сравнении с показателем здоровых: повышенная экспрессия GM-CSF – в 1,2 раза, умеренная – TNF- α , CXCL16 – в 1,1 раза; сниженная – IL-10 – в 1,3 раза. Соотношение TNF- α /IL-10 в эпителиоцитах желез = 1,5. В строме эндометрия значимые отличия экспрессии от группы сравнения были выявлены для маркеров GM-CSF – в 1,2 раза, IL-10 – в 1,6 раза. Соотношение TNF- α /IL-10 = 1,6.

Особенности молекулярного профиля хронического воспаления обусловлены избыточной экспрессией в эндометрии провоспалительных цитокинов в сравнении с противовоспалительными (в железистом компартменте: повышение TNF- α , GM-CSF, CXCL16 – в 1,2 раза, BCA1 – в 1,7 раза, снижение IL-10 – в 2 раза). Иммунорегуляторный индекс TNF- α /IL-10 = 2,5.

В строме эндометрия экспрессия GM-CSF, TNF- α , CXCL16 оказалась достоверно выше, чем в группе сравнения – в 1,2 раза, содержание противовоспалительного цитокина IL-10 – ниже в 1,8 раза, как и TGF- β 1 (1 балл).

Данные фенотипического профиля GM-CSF в эндометрии женщин выборки представлены в Таблице 59, на Рисунках 20–21.

Таблица 59 – Экспрессия GM-CSF при фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы	N	GM-CSF железы	p	GM-CSF строма	p
Нарушенный иммунный статус	42	160(150;175)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001	165(155;175)	1–2<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001
Диспластический	47	60(40;80)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001	80(50;100)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001
Пролиферативный	40	260(240;270)	3–4<0,001 3–5<0,001	180(160;200)	3–4<0,001 3–5<0,001
Хронический эндометрит	30	270(265;280)	4–5<0,001	260(260;270)	4–5<0,001
Группа сравнения	22	220(210;240)		220(200;240)	

Экспрессия GM-CSF при пролиферативном и фенотипе воспаления была сопоставимо выше, чем в группе сравнения – в 1,2 раза ($p<0,001$), с нарушенным иммунным статусом – в 1,6–1,7 раза ($p<0,001$). Показатель маркера при диспластическом фенотипе был сопоставим с аналогичным здоровых женщин ($p<0,001$), при фенотипе нарушенного иммунного статуса – в 1,4 раза ($p<0,001$).

В компартменте стромы эндометрия экспрессия маркера при пролиферативном фенотипе и с нарушенным иммунным статусом была сопоставимо ниже показателя – в 1,2 раза и в 1,3 раза ($p<0,001$).

Показатель экспрессии GM-CSF при фенотипе хронического воспаления был достоверно ниже аналогичного в группе морфологического контроля – в 1,2 раза ($p<0,001$), диспластическом фенотипе – в 2,7 раза ($p<0,001$).

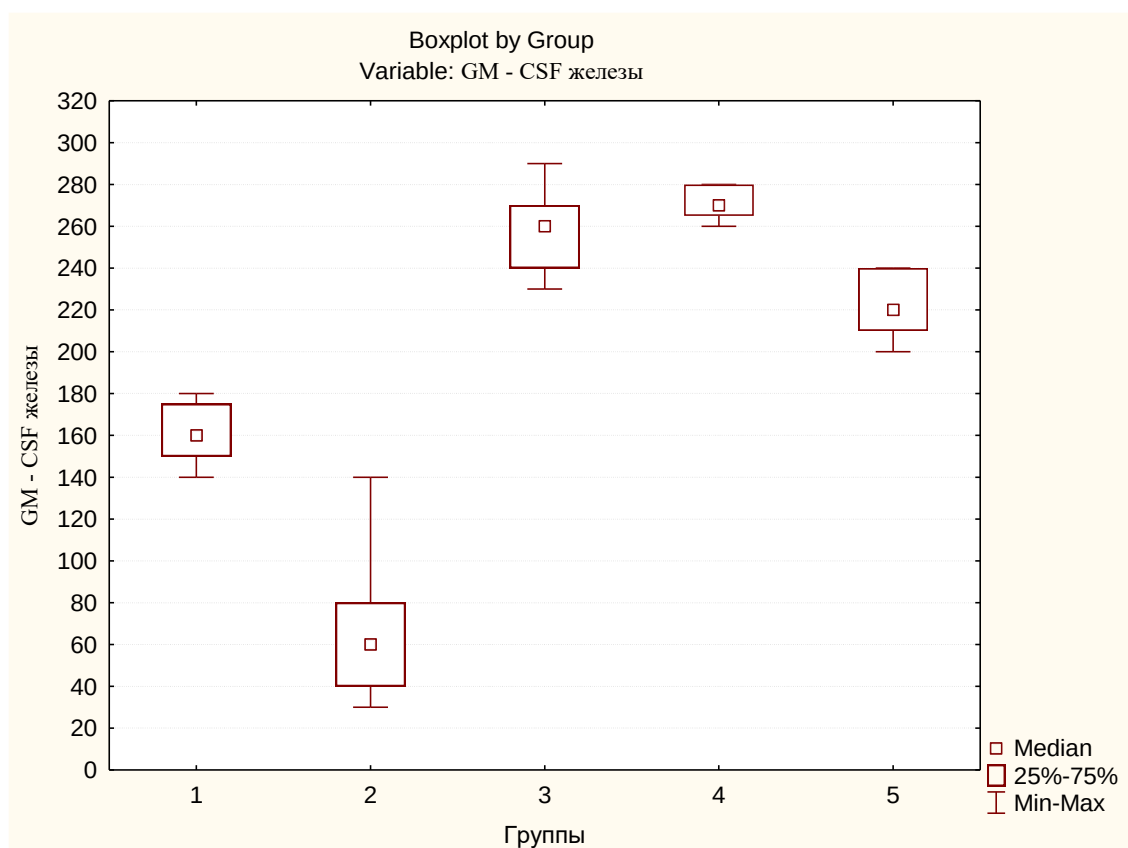


Рисунок 20 – Экспрессия GM–CSF в железистом компартменте эндометрия

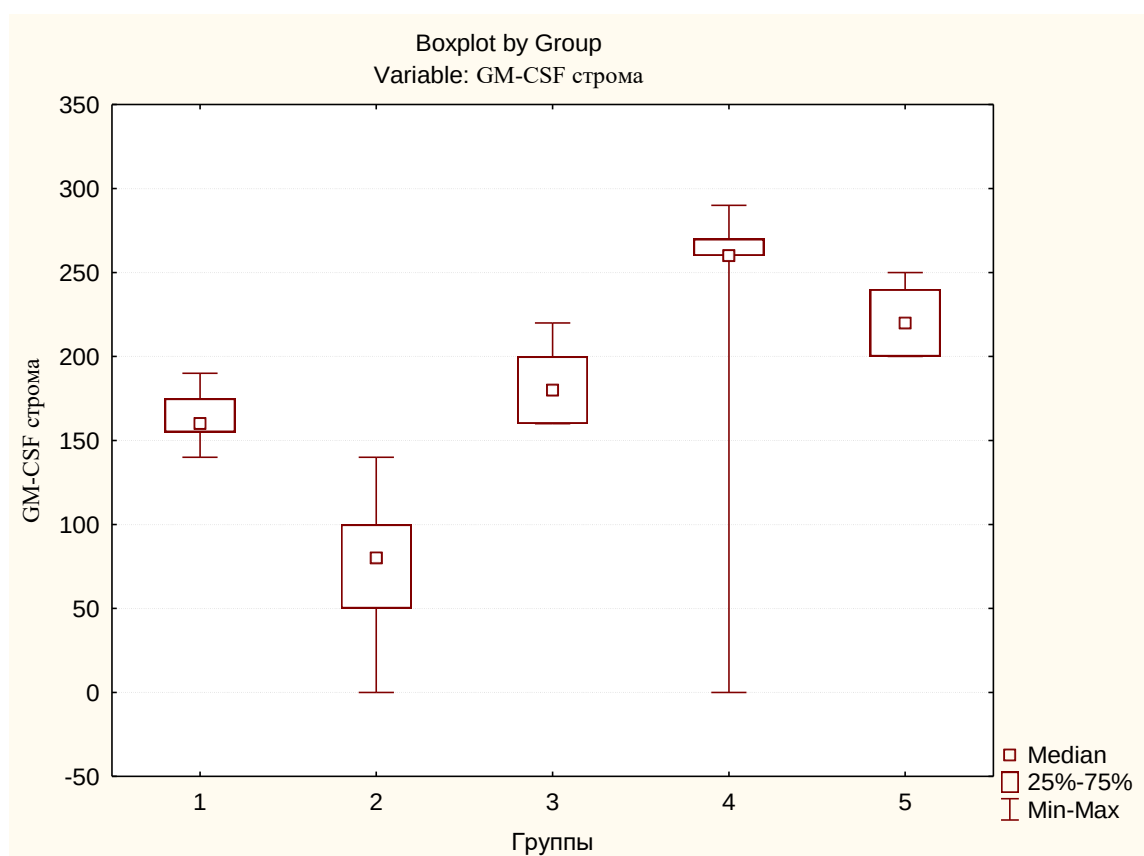


Рисунок 21 – Экспрессия GM–CSF в стромальном компартменте эндометрия

Данные различного фенотипического профиля TNF- α в эндометрии обследованных женщин представлены в Таблице 60, на Рисунках 22–23.

Таблица 60 – Экспрессия TNF- α при фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы	N	TNF- α железы	p	TNF- α строма	p
Нарушенный иммунный статус	42	180(150;180)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001	170(160;180)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001
Диспластический	47	120(110;140)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001	50(40;60)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001
Пролиферативный	40	255(240;280)	3–4<0,001 3–5<0,001	220(205;240)	3–4<0,001
Хронический эндометрит	30	280(260;280)	4–5<0,001	265(260;280)	4–5<0,001
Группа сравнения	22	240(220;250)		230(220;240)	

В эпителиоцитах желез эндометрия при всех фенотипах выявлена достоверно повышенная экспрессия маркера в отличие от группы сравнения ($p<0,001$). Наибольший показатель TNF- α отмечен при фенотипе хронического воспаления – в 1,2 раза выше, чем у здоровых женщин ($p<0,001$). При пролиферативном фенотипе экспрессия оказалась достоверно выше, чем с нарушенным иммунным статусом – в 1,4 раза ($p<0,001$). Показатель маркера у женщин с диспластическим фенотипом эндометрия вдвое уступал аналогичному в группе сравнения ($p<0,001$).

В клетках стромы эндометрия при фенотипе воспаления выявлен достоверно больший, чем в группе сравнения показатель экспрессии маркера – в 1,2 раза ($p<0,001$). При пролиферативном фенотипе экспрессия маркера была значимо выше, чем с нарушенным иммунным статусом – в 1,3 раза ($p<0,001$).

Женщин с диспластическим фенотипом отличал наименьший в сравнении с остальными группами показатель TNF- α ($p<0,001$), чем у здоровых – в 4,6 раза ($p<0,001$).

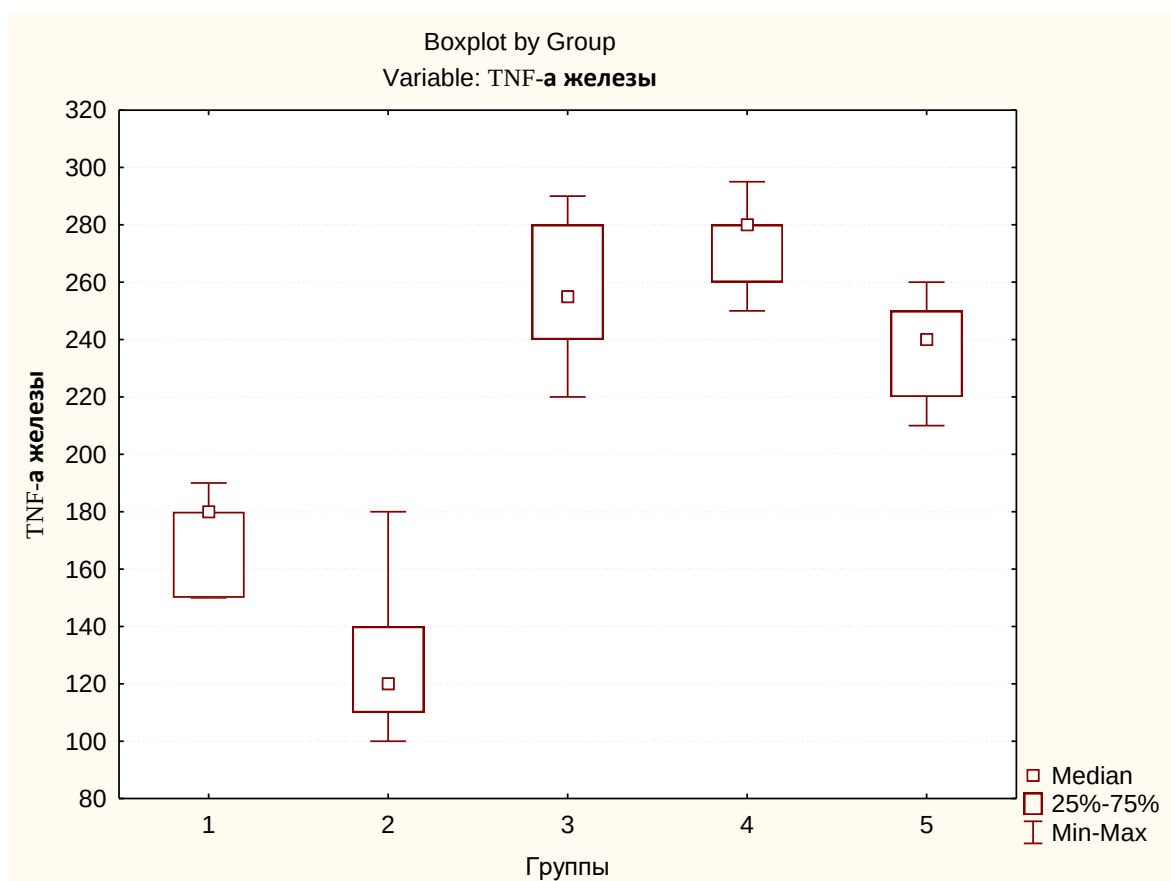


Рисунок 22 – Экспрессия TNF- α в железистом компартменте эндометрия

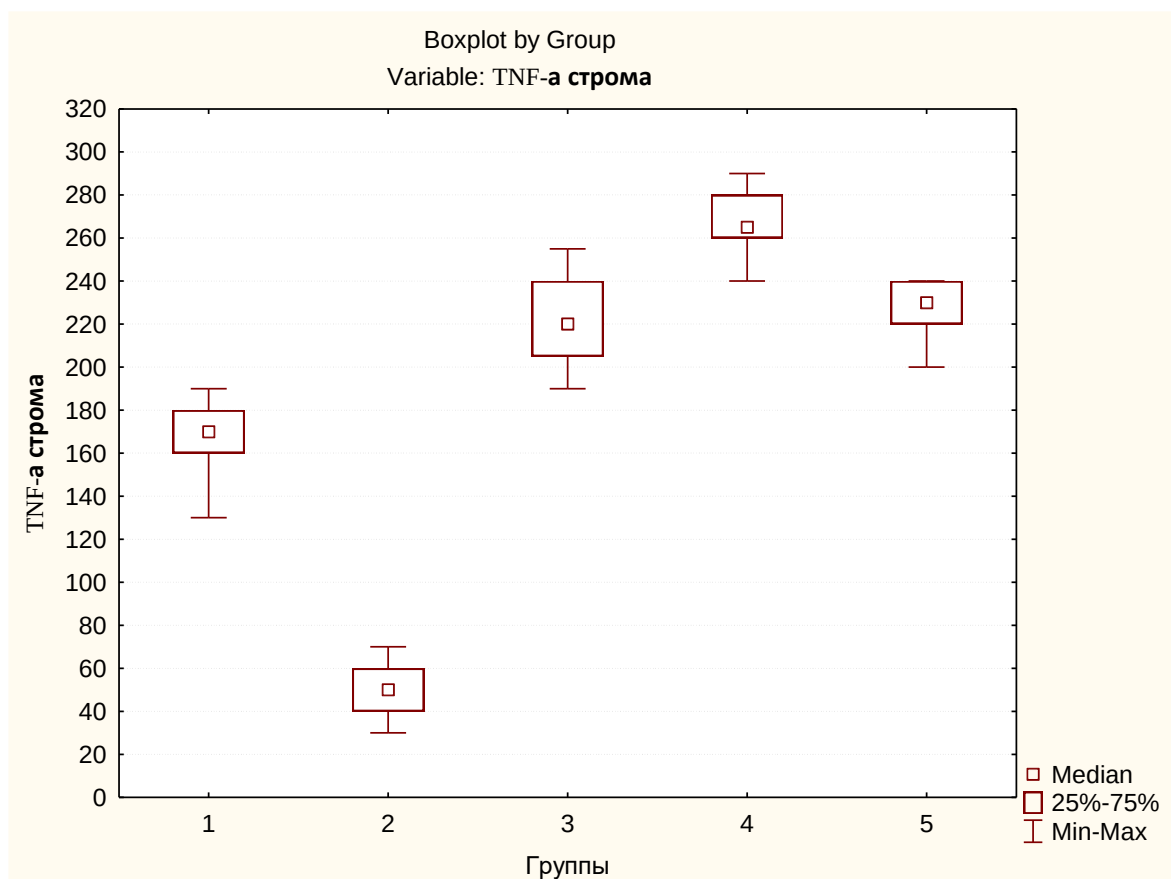


Рисунок 23 – Экспрессия маркера TNF- α в строме эндометрия

Данные фенотипического профиля IL-10 в эндометрии женщин выборки представлены в Таблице 61, на Рисунках 24–25.

Таблица 61 – Экспрессия IL-10 при фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы	N	IL-10 железы	p	IL-10 строма	p
Нарушенный иммунный статус	42	180(160;195)	1–2<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001	180(170;200)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001
Диспластический	47	120(100;140)	2–3<0,001 2–5<0,001	75(60;90)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001
Пролиферативный	40	165(130;200)	3–4<0,001 3–5<0,001	135(105;140)	3–4<0,001 3–5<0,001
Хроническое воспаление	30	110(100;130)	4–5<0,001	120(90;130)	4–5<0,001
Группа сравнения	22	220(200;250)		220(200;240)	

Экспрессия маркера в эпителиоцитах желез эндометрия в группах с диспластическим фенотипом и фенотипом воспаления была сопоставимо ниже, чем в группе сравнения – в два раза ($p<0,001$), при фенотипе нарушенного иммунного статуса и пролиферативном – соответственно в 1,2–1,3 раза ($p<0,001$).

В группе с фенотипом хронического воспаления и пролиферативным экспрессия цитокина в клетках стромы эндометрия оказалась достоверно ниже – в 1,6 раза, чем у здоровых женщин ($p<0,001$).

Аналогичная тенденция прослеживалась и при диспластическом фенотипе: в отличие от группы сравнения показатель был статистически значимо ниже – практически в три раза ($p<0,001$).

Экспрессия маркера в группе с нарушенным иммунным статусом достоверно превосходила аналогичную при пролиферативном фенотипе ($p<0,001$).

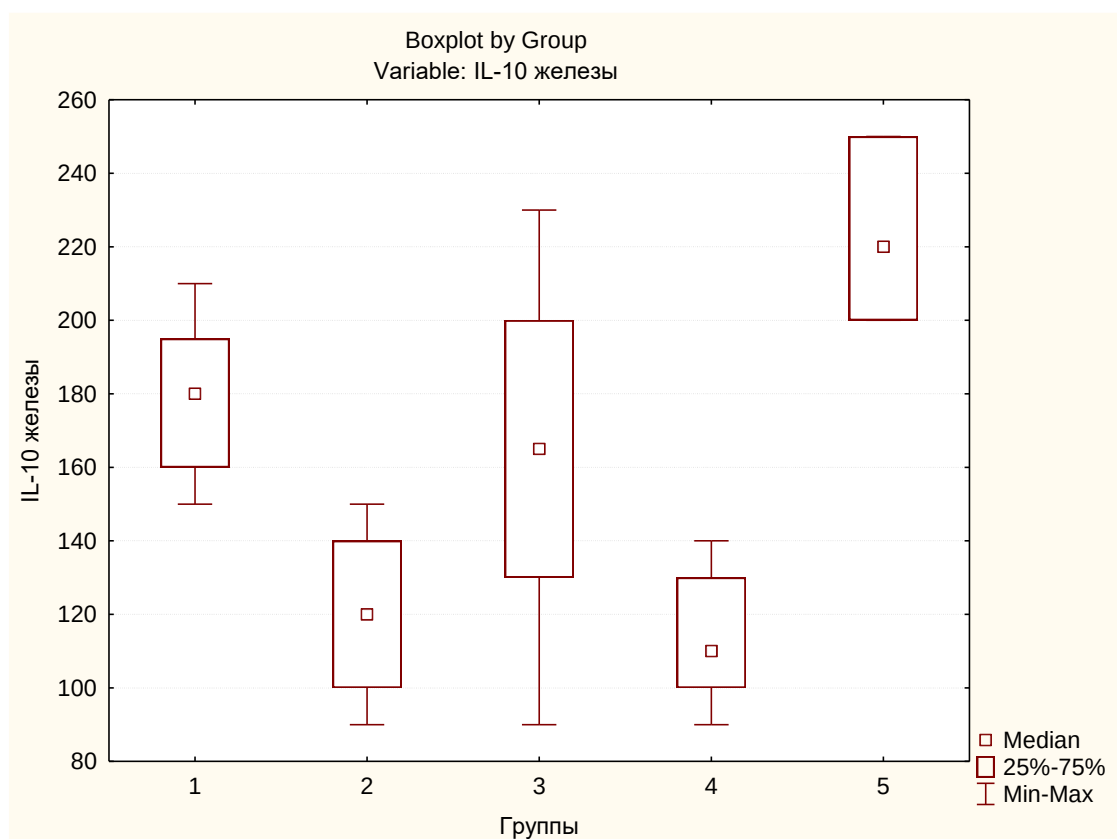


Рисунок 24 – Экспрессия IL-10 в железистом компартменте эндометрия

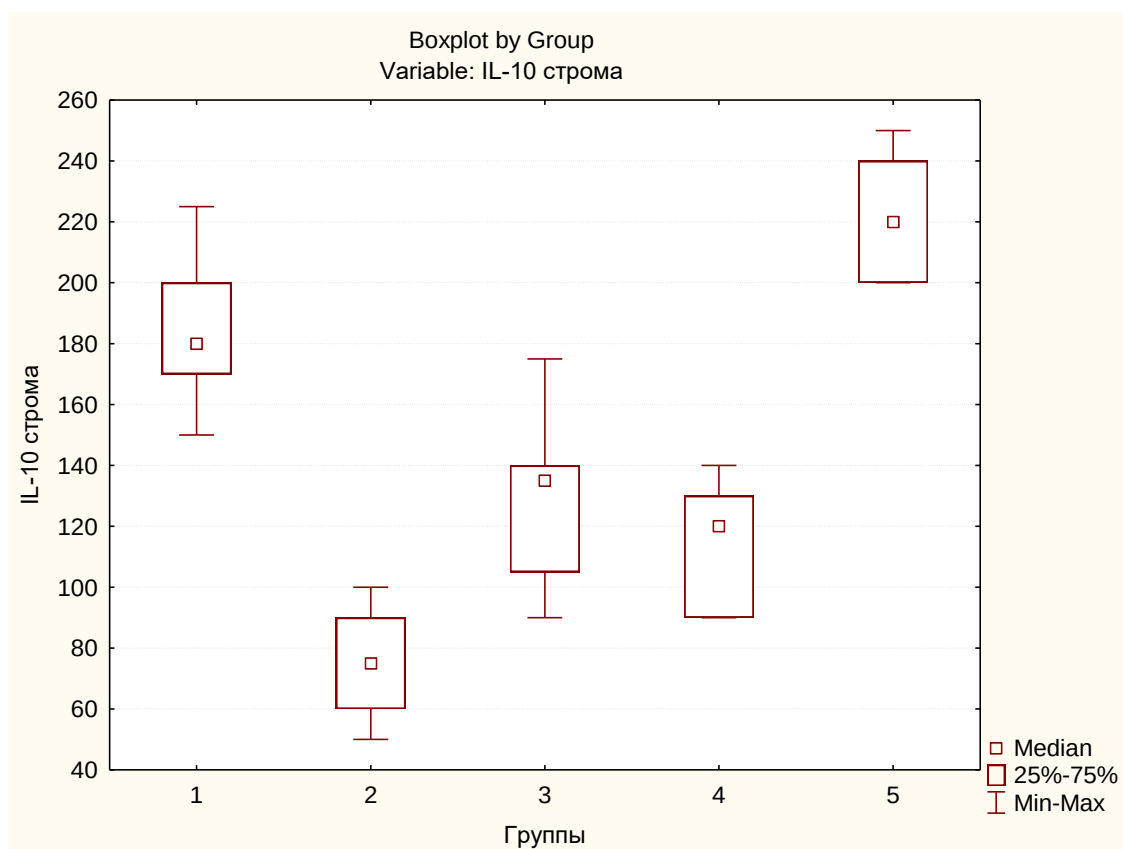


Рисунок 25 – Экспрессия IL-10 в строме эндометрия

Данные различного фенотипического профиля CXCL16 в эндометрии обследованных женщин представлены в Таблице 62, на Рисунках 26–27.

Таблица 62 – Экспрессия CXCL16 при фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы	N	CXCL16 железы	p	CXCL16 строма	p
Нарушенный иммунный статус	42	167,5(150;190)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001	165(150;180)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001
Диспластический	47	120(110;130)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001	65(50;70)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001
Пролиферативный	40	250(230;260)	3–4<0,001	220(180;260)	3–4<0,001
Хроническое воспаление	30	280(260;290)	4–5<0,001	270(260;280)	4–5<0,001
Группа сравнения	22	235(220;250)		217,5(200;240)	

Экспрессия маркера при фенотипе хронического воспаления достоверно превышала аналогичную при остальных фенотипах и в группе сравнения – в 1,2 раза ($p<0,001$).

В группе с пролиферативным фенотипом показатель оказался значимо выше, чем у здоровых женщин и при фенотипе нарушенного иммунного статуса – в полтора раза ($p<0,001$).

Женщин с диспластическим фенотипом эндометрия отличал наименьший в отличие от остальных групп показатель CXCL16 ($p<0,001$), в два раза ниже, чем в группе сравнения ($p<0,001$). В клетках стромы эндометрия экспрессия маркера при ХЭ была достоверно выше, чем в группе сравнения – в 1,2 раза ($p<0,001$), при нарушенном иммунном статусе – в 1,3 раза ($p<0,001$).

Отличием локального иммунного профиля при диспластическом фенотипе оказался достоверно сниженный показатель CXCL16 – в 3,3 раза ($p<0,001$).

При пролиферативном фенотипе экспрессия значимо превосходила аналогичную в группе с нарушенным иммунным статусом – в 1,3 раза ($p<0,001$).

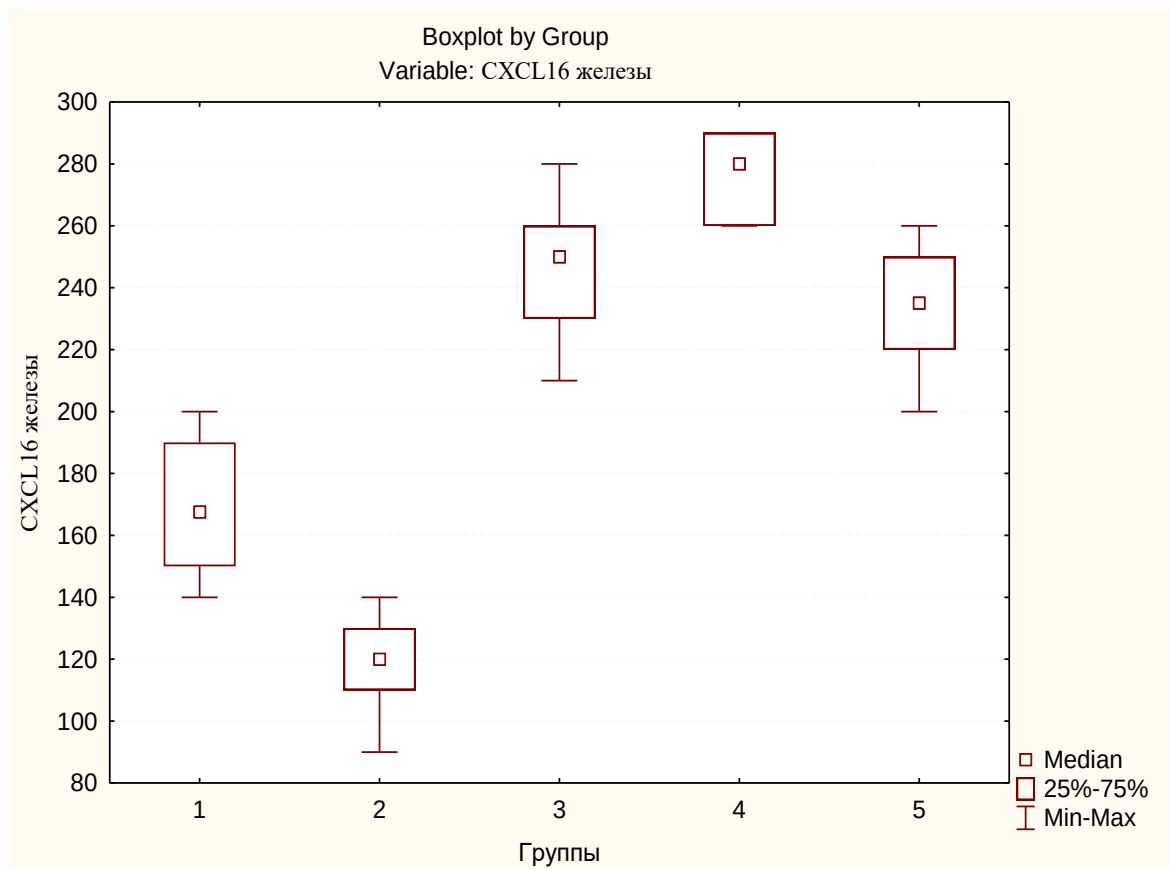


Рисунок 26 – Экспрессия CXCL16 в железистом компартменте эндометрия

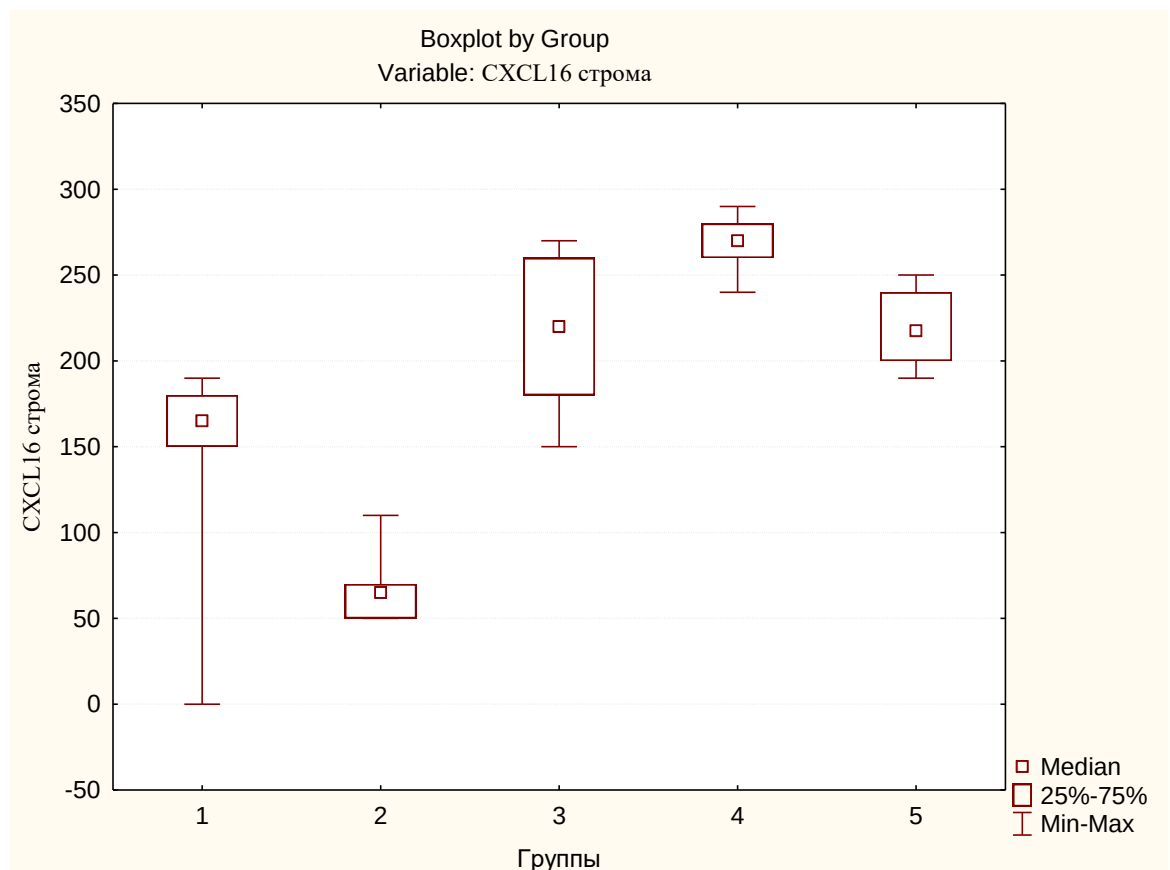


Рисунок 27 – Экспрессия CXCL16 в стромальном компартменте эндометрия

Данные различного фенотипического профиля маркеров ВСА1/TGF- β 1 в эндометрии женщин выборки представлены в Таблице 63, на Рисунках 28–29.

Таблица 63 – Экспрессия ВСА1/TGF- β 1 при фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы	N	ВСА1 железы	p	TGF- β	p
Нарушенный иммунный статус	42	110(92,5;120)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–5=0,01	2 (2;3)	1–2<0,001 1–4<0,001
Диспластический	47	60(50;80)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001	3(3;3)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5=0,015
Пролиферативный	40	162,5(145;180)	3–4<0,001	2 (2;3)	3–4=0,01
Хроническое воспаление	30	265(260;280)	4–5<0,001	1 (1;2)	4–5=0,01
	10	155(150;170)		2 (2;2)	

При фенотипе хронического воспаления выявлена достоверно повышенная экспрессия ВСА1 в железистом компартменте эндометрия в отличие от группы сравнения – в 1,7 раза ($p<0,001$), с диспластическим фенотипом – в четыре раза ($p<0,001$), с нарушенным иммунным статусом – в 2,4 раза ($p<0,001$).

Показатели женщин с пролиферативным фенотипом и группы сравнения были сопоставимы, превышая аналогичные при фенотипе нарушенного иммунного статуса ($p<0,001$).

В группе с диспластическим фенотипом экспрессия маркера была достоверно ниже, чем в группе сравнения – в 2,6 раза ($p<0,001$).

Среднее значение экспрессии маркера TGF- β 1 в группе с диспластическим фенотипом оказалось достоверно выше, чем в остальных ($p<0,001$).

Наиболее низкий показатель маркера среди всех фенотипов выявлен при хроническом воспалении ($p<0,001$).

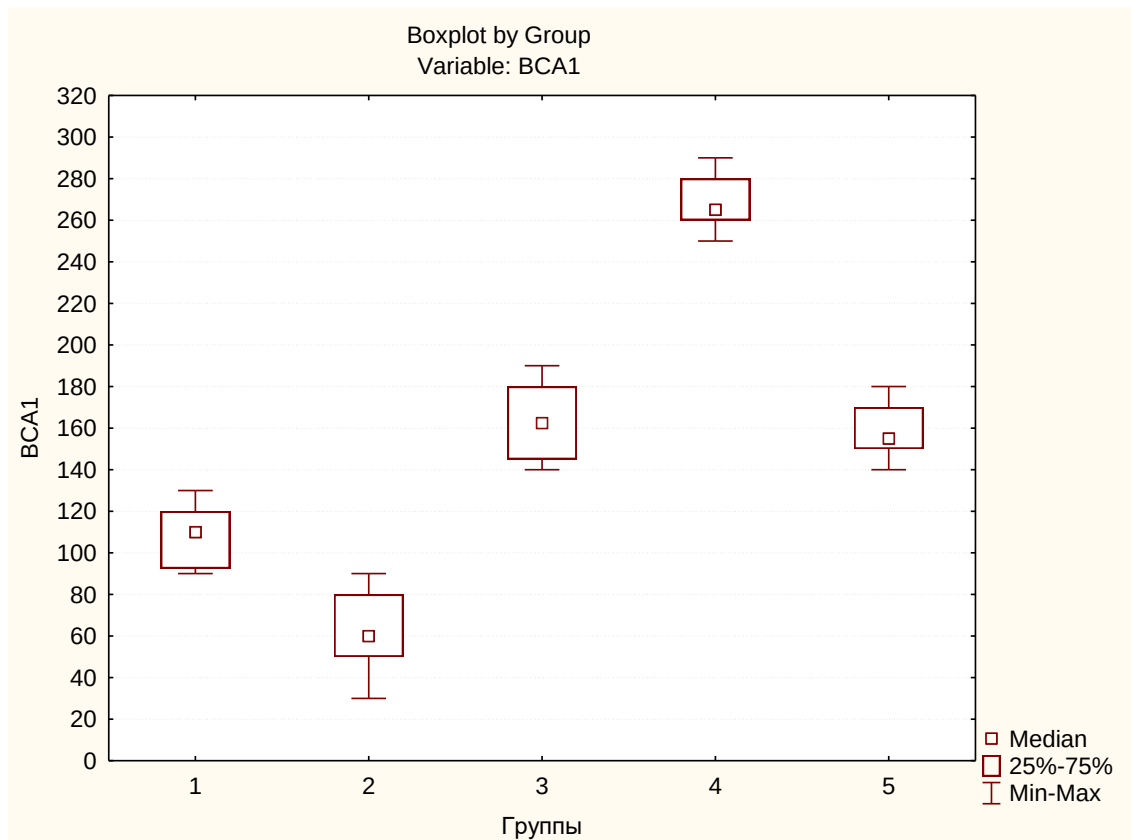


Рисунок 28 – Экспрессия BCA1 в железистом компартменте эндометрия

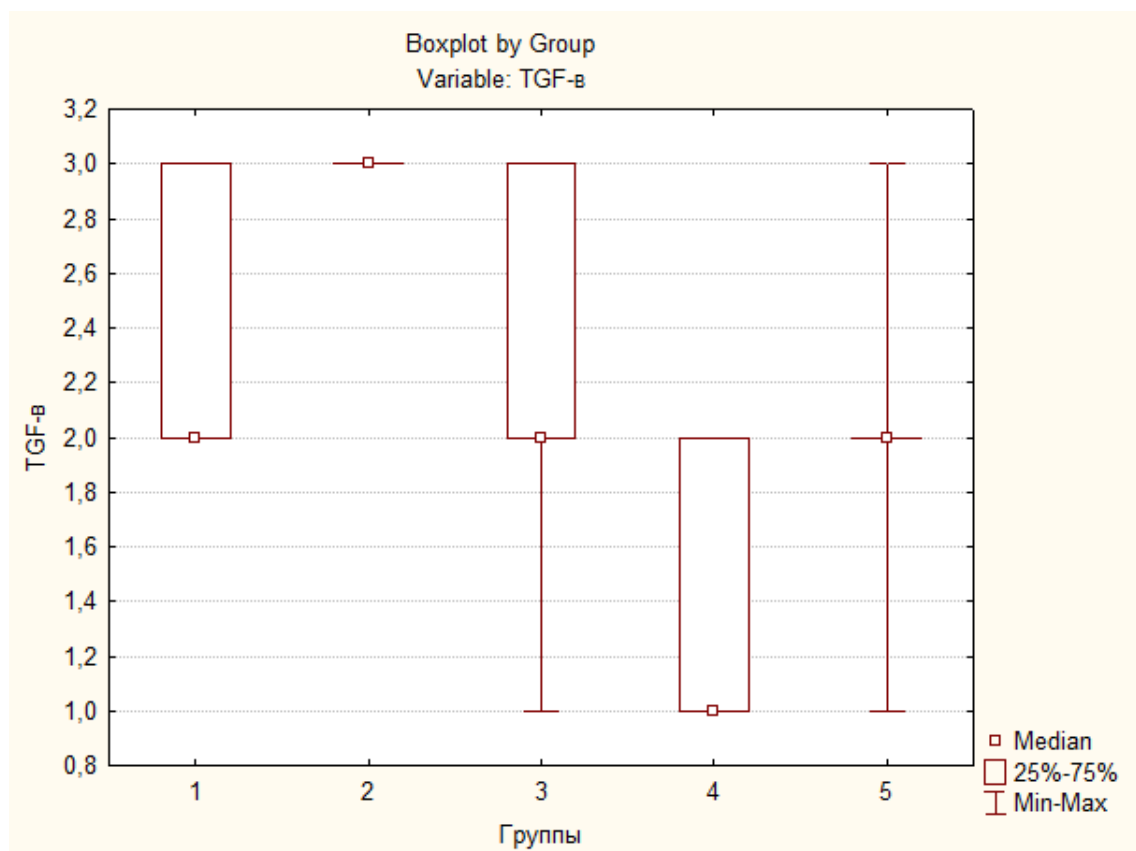


Рисунок 29 – Экспрессия TGF- β в стромальном компартменте

Данные различного фенотипического профиля NRF2 в эндометрии женщин выборки представлены в Таблице 64, на Рисунках 30–31.

Таблица 64 – Экспрессия NRF2 при фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы	N	NRF2 железы	p	NRF2 строма	p
Нарушенный иммунный статус	42	280 (280;290)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001	260(180;272,5)	1–2<0,001
Диспластический	47	230 (200;240)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001	210(170;240)	2–4<0,001 2–5<0,001
Пролиферативный	40	270 (260;282,5)	3–5=0,02	185(130;280)	3–5=0,02
Хроническое воспаление	30	260 (260;270)		250(250;260)	4–5=0,01
Группа сравнения		265(260;275)		260(255;270)	

При фенотипе нарушенного иммунного статуса уровень экспрессии маркера NRF2 в эпителиоцитах желез достоверно превышал показатели остальных групп ($p<0,001$), диспластическом – был наименьшим ($p<0,001$).

В стромальном компоненте эндометрия показатели маркера значимо отличались от группы сравнения: при диспластическом фенотипе – в 1,2 раза ниже ($p<0,001$), хроническом воспалении – в меньшей степени ($p<0,001$).

В группе с нарушенным иммунным статусом уровень экспрессии NRF2 оказался достоверно выше, чем при диспластическом фенотипе ($p<0,001$) и пролиферативном ($p<0,001$).

В серии Рисунков 32–45 приведены ИГХ реакции с антителами к факторам локального иммунного статуса эндометрия.

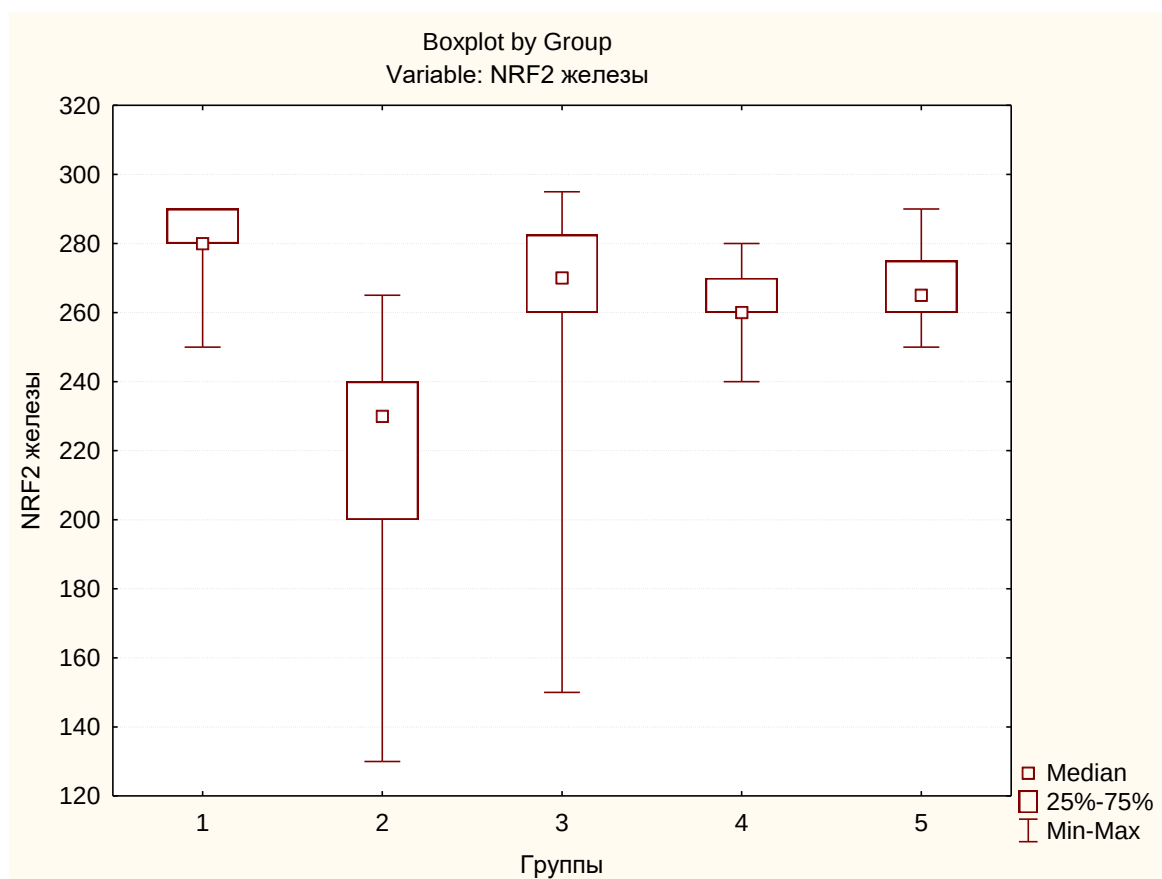


Рисунок 30 – Экспрессия NRF2 в железистом компартменте эндометрия

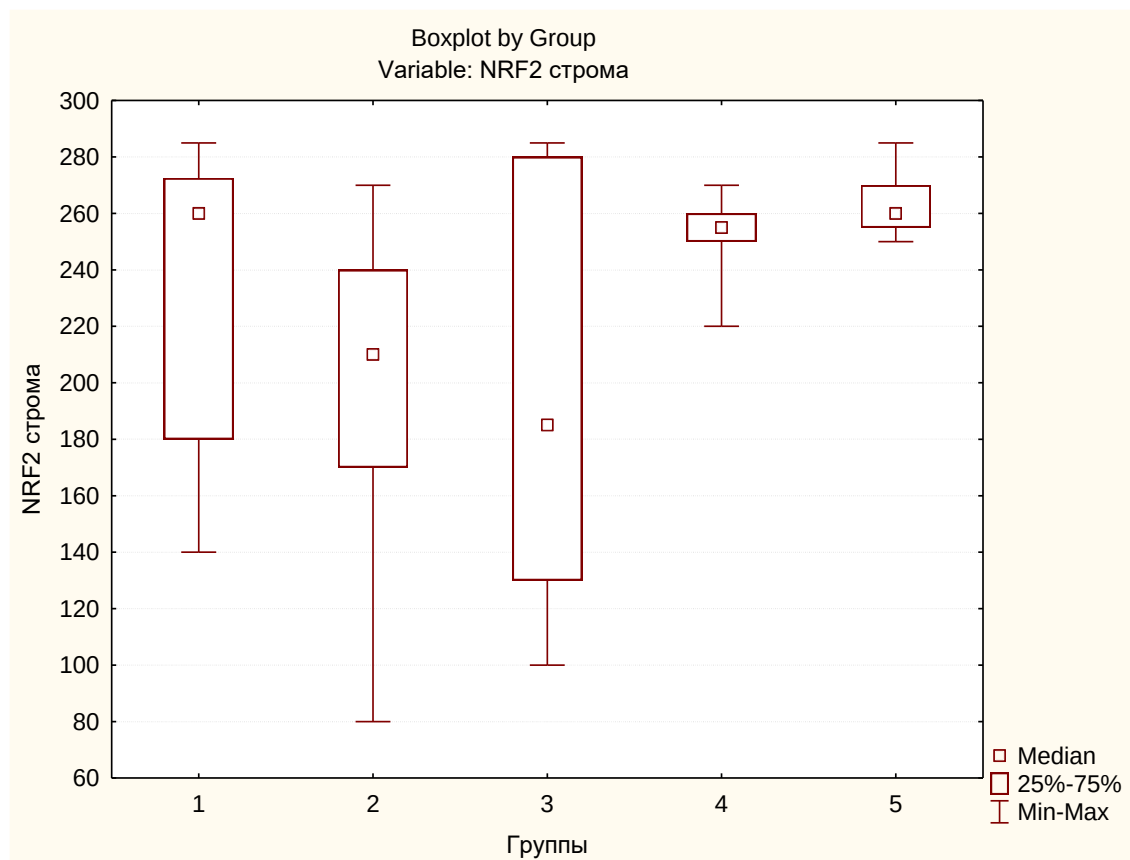


Рисунок 31 – Экспрессия NRF2 в стромальном компартменте эндометрия

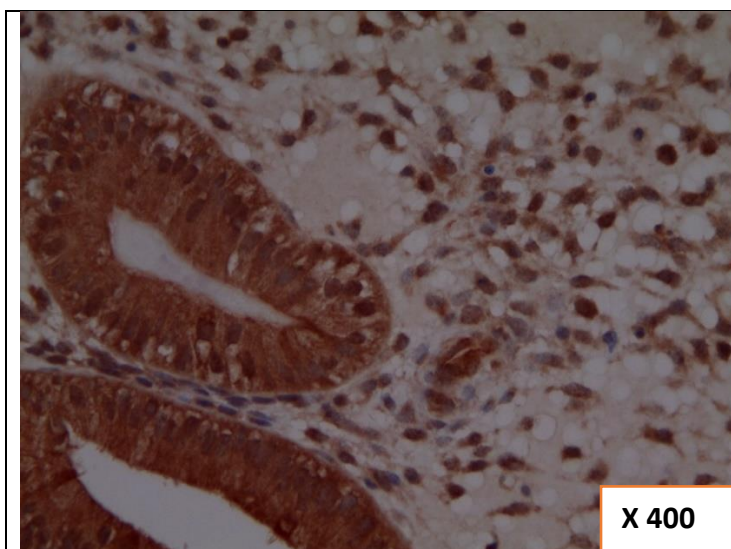


Рисунок 32 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к GM-CSF (гиперэкспрессия)

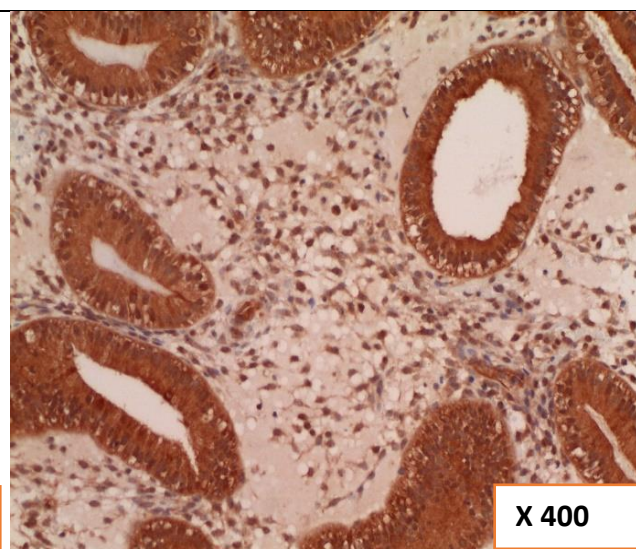


Рисунок 33 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к GM-CSF (умеренная)

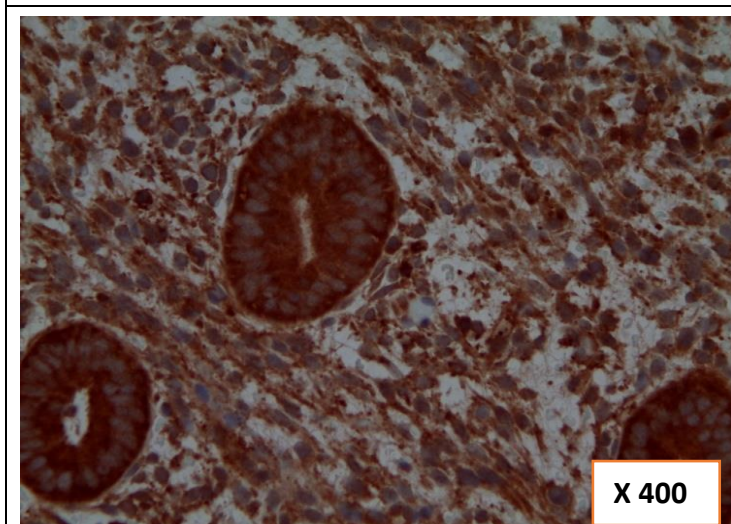


Рисунок 34 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к TNF-α (гиперэкспрессия)

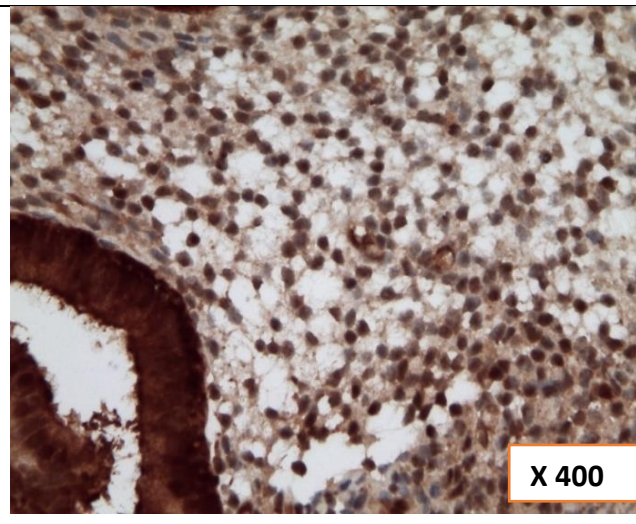


Рисунок 35 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к TNF-α (умеренная)

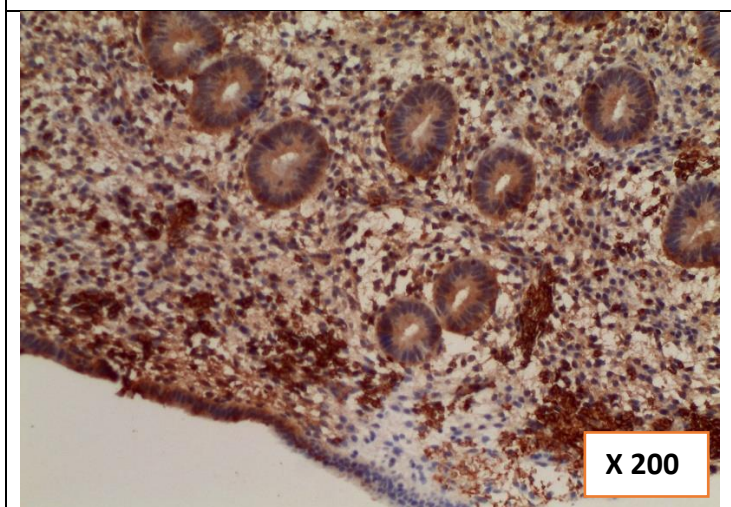


Рисунок 36 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к IL-10 (гиперэкспрессия)

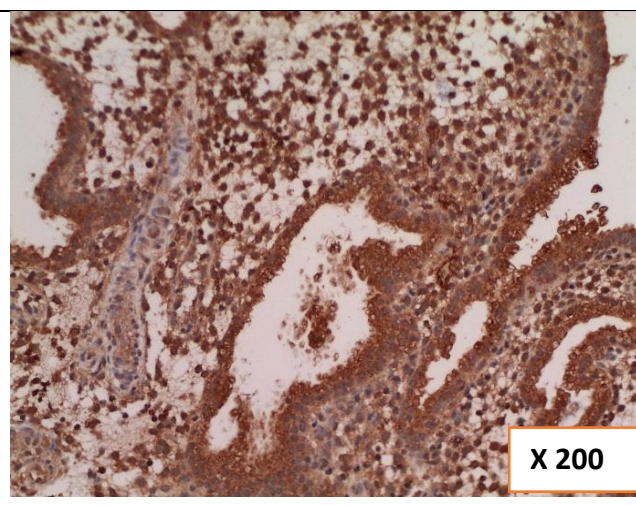


Рисунок 37 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к IL-10 (умеренная)

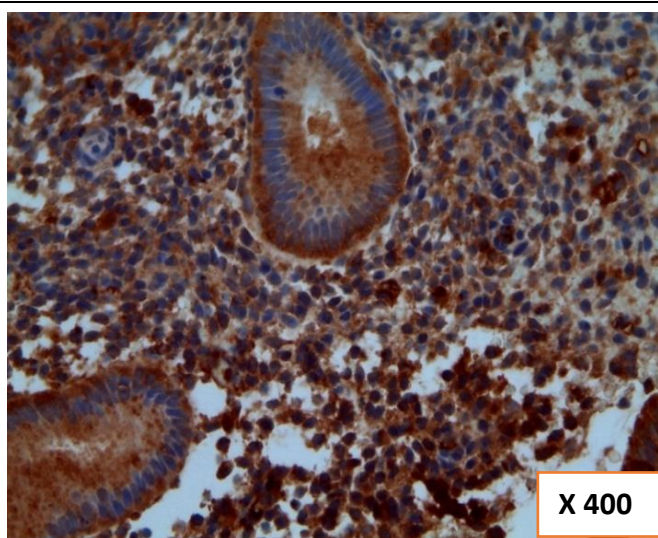


Рисунок 38 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к CXCL16 (гиперэкспрессия)

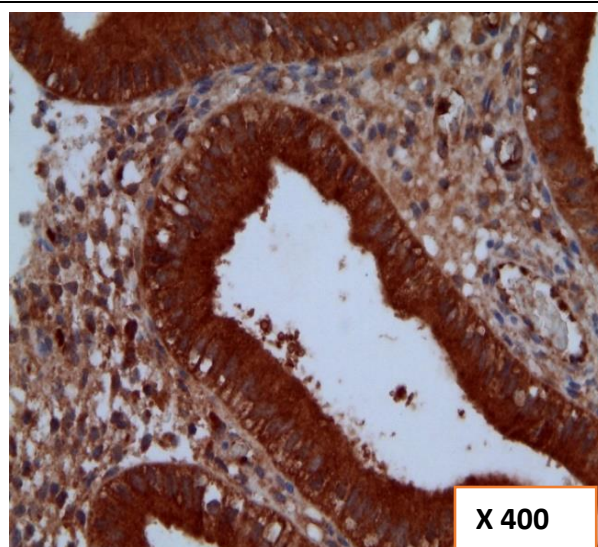


Рисунок 39 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к CXCL16 (умеренная)

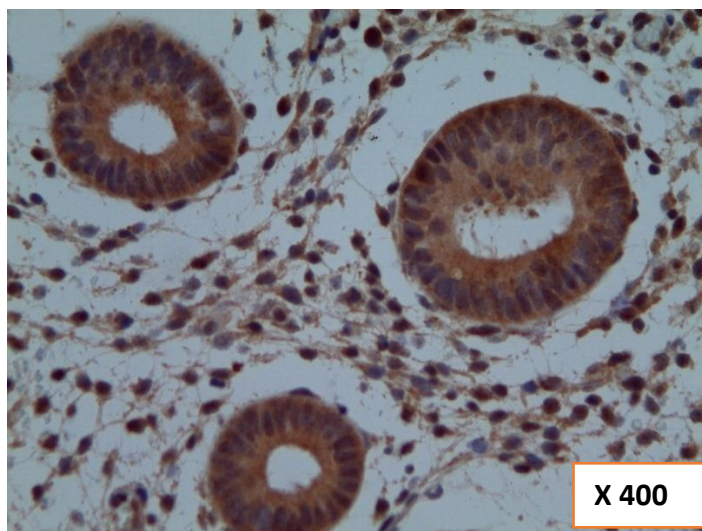


Рисунок 40 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к VCA1 (гиперэкспрессия)

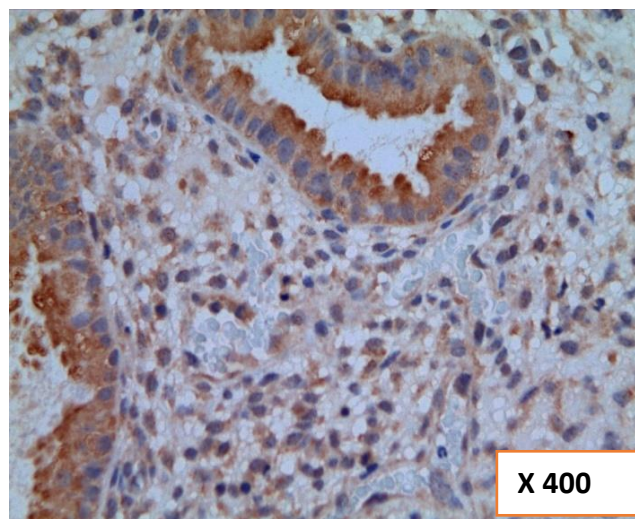


Рисунок 41 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к VCA1 (умеренная)

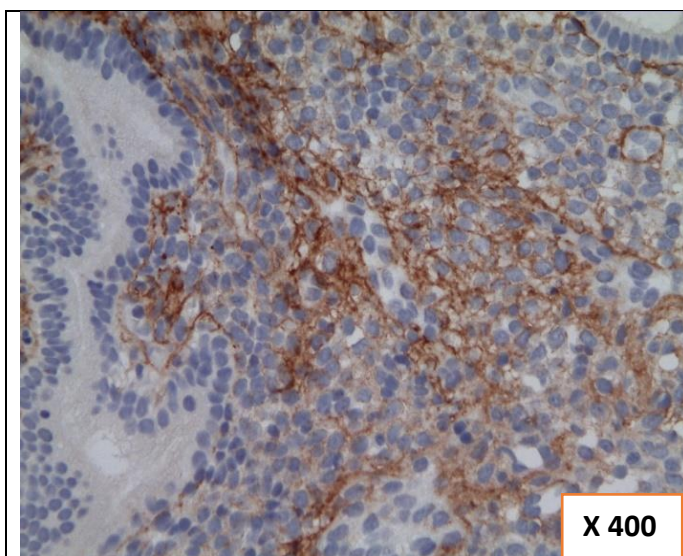


Рисунок 42 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к TGF-βI (гиперэкспрессия)

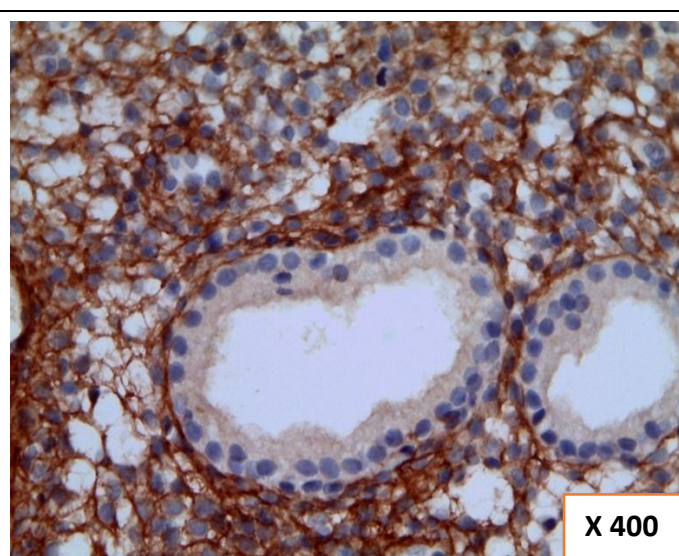


Рисунок 43 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к TGF-βI (умеренная)

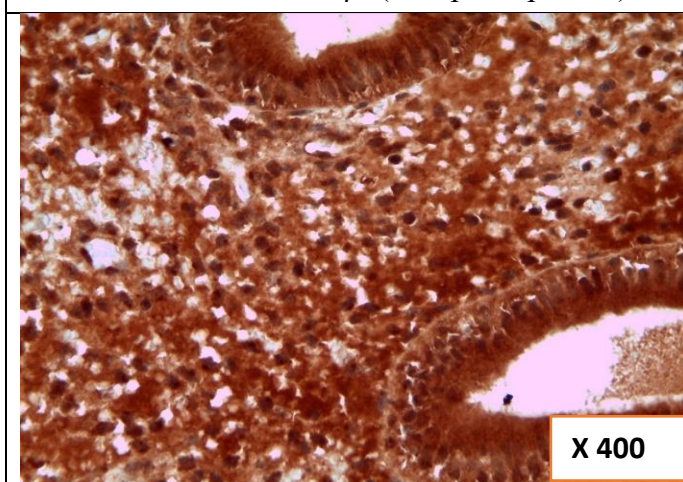


Рисунок 44 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к NRF2 (гиперэкспрессия)

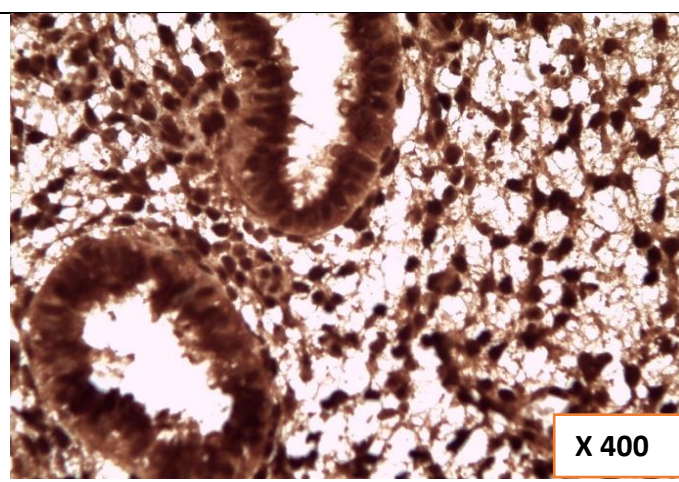


Рисунок 45 – Иммуногистохимическая реакция с антителом к NRF2 (умеренная)

5.3 Клинико–анамнестические детерминанты молекулярных механизмов адапционно–гомеостатических реакций эндометрия

С целью выявления факторов риска развития фенотипов эндометрия (пролиферативный, диспластический, нарушенный иммунный статус, хроническое воспаление, нормальный) выполнен сравнительный анализ данных анамнеза [частоты соматических и гинекологических заболеваний, репродуктивных потерь (НБ и самопроизвольного выкидыша)], результатов микробиологического исследования для оценки контаминации биотопов генитального тракта (Таблица 65).

При фенотипе нарушенного иммунного статуса женщин статистически значимо чаще, чем в остальных группах отличало наличие первичного бесплодия ($p < 0,05$), при пролиферативном и фенотипе хронического воспаления – вторичного ($p < 0,05$).

Достоверным отличием женщин с диспластическим и фенотипом хронического воспаления оказалась высокая частота неоднократных неэффективных попыток ЭКО (более трех) в сравнении с показателями при нарушенном иммунном статусе и пролиферативном фенотипе ($p < 0,05$).

В группе с фенотипом хронического воспаления достоверно чаще, чем с нарушенным иммунным статусом встречались ациклические кровянистые выделения ($p < 0,001$; $\chi^2 = 12,8$), дисменорея ($p = 0,029$; $\chi^2 = 4,7$), НБ ($p < 0,05$), как и суммарный показатель репродуктивных потерь ($p < 0,05$) – в отличие от остальных фенотипов эндометрия.

В группе с диспластическим фенотипом значимо чаще, чем с нарушенным иммунным статусом отмечали скудные кровянистые выделения ($p = 0,004$; $\chi^2 = 8,3$), пролиферативным – обильные в сравнении с диспластическим ($p = 0,003$; $\chi^2 = 8,8$).

Таблица 65 – Клинико–анамнестические факторы при различных фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы		N	Бесплодие первичное	Бесплодие вторичное	Неоднократные неэффективные попытки ЭКО	Ациклические кровянистые выделения	Дисменорея	Скудные кровянистые выделения	Обильные менструальные выделения	Неразвивающаяся беременность	Репродуктивные потери всего
Пролиферативный	абс.	40	8 ³	32 ³	11 ²	4	5	0	9 ²	4 ⁴	6 ⁴
	%		20,0	80,0	27,5	10,0	12,5	0,0	22,5	10,0	15,0
Диспластический	абс.	47	17 ³	30 ³	30 ³	9	4	16 ³	1	2 ⁴	11 ⁴
	%		36,2	63,8	63,8	19,1	8,5	34,0	2,1	4,3	23,4
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	20 ⁴	12 ⁴	7 ⁴	2 ⁴	2 ⁴	2	4	2 ⁴	3 ⁴
	%		62,5	37,5	21,9	6,2	6,2	6,2	12,5	6,2	9,4
Хроническое воспаление	абс.	30	9	21	16	16	8	6	4	14	18
	%		30,0	70,0	53,3	30,0	26,7	20,0	13,3	46,7	60,0
Нормальный эндометрий	абс.	22	8	14	9	0	0	0	0	0	0
	%		36,4	63,6	40,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
			p ₁₋₃ <0,001 χ ² = 13,5 p ₂₋₃ =0,022 χ ² = 5,3 p ₃₋₄ =0,011 χ ² =6,5	p ₁₋₃ <0,001 χ ² = 13,5 p ₂₋₃ =0,022 χ ² = 5,3 p ₃₋₄ =0,011 χ ² = 6,5	p ₁₋₂ <0,001 χ ² = 11,4 p ₂₋₃ <0,001 χ ² = 13,4 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 14,4	p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 12,8	p ₃₋₄ =0,029 χ ² = 4,7	p ₂₋₃ =0,004 χ ² = 8,3	p ₁₋₂ =0,003 χ ² = 8,8	p ₁₋₄ <0,001 χ ² = 12,1 p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 10,4 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 20,0 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 13,2	p ₁₋₄ <0,001 χ ² = 15,4 p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 10,4 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 17,7

В группе с фенотипом воспаления четверть женщин указывали на дисменорею, что превышало показатели остальных групп, однако достоверно чаще в сравнении только с фенотипом нарушенного иммунного статуса ($p=0,029$; $\chi^2=4,7$).

Перенесенные экстрагенитальные и гинекологические заболевания женщин с различными фенотипами эндометрия представлены в Таблице 66.

Таблица 66 – Заболеваемость женщин при различных фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы		N	Перенесенные вирусные заболевания	Болезни органов пищеварения	Болезни мочевыделительной системы	Железодефицитная анемия	Доброкачественные заболевания молочных желез
Пролиферативный	абс.	40	7	10 ⁴	16 ^{2,3,5}	14 ^{2,3}	18 ^{2,3,5}
	%		17,5	25,0	40,0	35,0	45,0
Диспластический	абс.	47	2 ⁴	5 ^{3,4}	5 ⁴	2 ⁴	5
	%		4,3	10,6	10,6	4,3	10,6
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	2 ⁴	14 ⁵	4 ⁴	2 ⁴	4
	%		6,2	43,8	12,5	6,2	9,5
Хроническое воспаление	абс.	30	9	18 ⁵	12 ⁵	8	6
	%		30,0	60,0	40,0	26,7	30,0
Нормальный эндометрий	абс.	22	2	2	2	0	2
	%		9,1	9,1	9,1	0,0	9,1
			p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 25,2 p ₃₋₄ =0,015 χ ² = 5,9	p ₁₋₄ <0,001 χ ² = 20,4 p ₂₋₃ <0,001 χ ² = 11,4 p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 21,2 p ₃₋₅ =0,007 χ ² = 7,51 p ₄₋₅ <0,001 χ ² = 13,8	p ₁₋₂ =0,002 χ ² = 10,1 p ₁₋₃ =0,01 χ ² = 6,7 p ₁₋₅ =0,011 χ ² = 6,5 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =15,7 p ₃₋₄ =0,014 χ ² = 6,1 p ₄₋₅ =0,014 χ ² = 6,1	p ₁₋₂ <0,001 χ ² = 13,6 p ₁₋₃ =0,004 χ ² = 8,5 p ₂₋₄ =0,005 χ ² = 8,1 p ₃₋₄ =0,029 χ ² = 4,7	p ₁₋₂ <0,001 χ ² = 13,1 p ₁₋₃ <0,001 χ ² =10,9 p ₁₋₅ =0,004 χ ² = 8,3

Достоверными отличиями женщин с фенотипом воспаления в сравнении с другими выступали перенесенные вирусные заболевания (носительство антител к

ВПГ1, ЦМВ, ВЭБ, впервые диагностированные эпизоды заболеваний при обследовании или задокументированный факт обострения инфекций в анамнезе до трех раз в году) – в шесть раз, чем с диспластическим и нарушенным иммунным статусом ($p<0,05$); болезни органов пищеварения – в четыре, чем с нормальным фенотипом эндометрия, пролиферативным и диспластическим ($p<0,05$).

В группе с пролиферативным фенотипом значимо чаще, чем в остальных выявляли доброкачественные заболевания молочных желез ($p<0,05$), ЖДА – с диспластическим и нарушенным иммунным статусом ($p<0,05$). Достоверным отличием женщин с пролиферативным и фенотипом хронического воспаления оказалось преобладание болезней мочевыделительной системы – практически в четыре раза в отличие от остальных групп ($p<0,05$).

Анализ встречаемости гинекологических заболеваний при фенотипах эндометрия представлен в Таблице 67.

В группе с фенотипом хронического воспаления значимо чаще выявляли хронические воспалительные заболевания матки и придатков, чем с пролиферативным ($p=0,01$, $\chi^2=7,1$), неоднократно – в остальных группах ($p<0,05$); эктропион шейки матки при персистенции ВПЧ ВР более трех лет в отсутствие обоснованного лечения (противовирусная терапия, радиоволновой метод) – неоднократно в отличие от диспластического фенотипа ($p<0,001$, $\chi^2=17,8$).

Хронический цервицит при данном фенотипе отмечали достоверно чаще, чем в остальных группах ($p<0,05$), за исключением женщин с пролиферативным фенотипом.

В анамнезе женщин с пролиферативным фенотипом значимо чаще выявляли эпизоды выявления ПЭ/ГЭ, чем при диспластическом, нарушенном иммунном статусе и нормальном ($p<0,05$).

Пациенток с пролиферативным и фенотипом хронического воспаления отличала статистически значимо большая частота доброкачественных заболеваний шейки матки, чем в остальных группах ($p<0,05$).

Таблица 67 – Гинекологическая заболеваемость при различных фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы		N	Хронические воспалительные заболевания матки и придатков	Хронический цервицит	Полип эндометрия/ гиперпластические процессы	Множократные внутриматочные вмешательства	Эктропион шейки матки при персистенции ВПЧ ВР более трех лет (без лечения)	Доброкачественные заболевания шейки матки
Пролиферативный	абс.	40	9 ^{2,4}	11	25 ^{2,3,5}	9 ²	9 ²	25 ^{2,3,5}
	%		22,5	27,5	62,5	22,5	22,5	62,5
Диспластический	абс.	47	2 ⁴	8 ⁴	4 ⁴	38 ^{3,4,5}	2 ⁴	6 ⁴
	%		4,3	17,0	8,5	80,9	4,3	12,8
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	3 ⁴	6 ⁴	3 ⁴	5	0	3 ⁴
	%		9,4	18,8	9,4	15,6	0,0	9,4
Хроническое воспаление	абс.	30	16 ⁵	14 ⁵	16 ⁵	11	13	21 ⁵
	%		53,3	46,7	53,3	36,7	43,3	70,0
Нормальный эндометрий	абс.	22	1	3	3	4	0	2
	%		4,5	13,6	13,6	18,2	0,0	9,1
			p ₁₋₂ =0,011 χ ² =6,5 p ₁₋₄ =0,01 χ ² =7,1 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =24,6 p ₃₋₄ <0,001 χ ² =14,0 p ₄₋₅ <0,001 χ ² =13,7	p ₂₋₄ =0,009 χ ² =7,9 p ₃₋₄ =0,03 χ ² =5,5 p ₄₋₅ =0,02 χ ² =6,3	p ₁₋₂ <0,001 χ ² =28,3 p ₁₋₃ <0,001 χ ² =21,1 p ₁₋₅ <0,001 χ ² =13,7 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =19,1 p ₃₋₄ <0,001 χ ² =14,1 p ₄₋₅ =0,004 χ ² =8,6	p ₁₋₂ <0,001 χ ² =29,6 p ₂₋₃ <0,001 χ ² =32,6 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =15,4 p ₂₋₅ <0,001 χ ² =24,7	p ₁₋₂ =0,02 χ ² =6,5 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =17,8	p ₁₋₂ <0,001 χ ² =23,3 p ₁₋₃ <0,001 χ ² =21,1 p ₁₋₅ <0,001 χ ² =16,4 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =26,3 p ₃₋₄ <0,001 χ ² =23,9 p ₄₋₅ <0,001 χ ² =19,0

В группе с диспластическим фенотипом достоверно преобладали неоднократные внутриматочные вмешательства – в четыре раза в сравнении с остальными ($p<0,05$), два – хронического воспаления ($p<0,001$, $\chi^2=15,4$).

В Таблице 68 представлены результаты предшествующих микробиологических исследований биотопов генитального тракта женщин с различными фенотипами эндометрия.

Таблица 68 – Данные анамнеза о биотопах генитального тракта/болезнях шейки матки при фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы		N	Рецидивирующие бактериальные вагинозы	Рецидивирующие вагиниты	Бактериальная контаминация отделяемого цервикального канала	Контаминация отделяемого цервикального канала и рецидивы бактериального вагиноза	Инфекции, передаваемые половым путем, в анамнезе	Хламидийная инфекция	ВПГ2 в отделяемом цервикального канала	Носитель ВПЧ высокого онкогенного риска	Лейкоплакия шейки матки/ CIN 1,2 при ВПЧ ВР
Пролиферативный	абс.	40	5 ^{3,4}	3 ⁴	16 ^{4,5}	8 ⁴	14 ^{2,4}	10	10	24 ^{2,3,5}	24 ^{2,3,4,5}
	%		12,5	7,5	40,0	20,0	35,0	25,0	25,0	60,0	60,0
Диспластический	абс.	47	14	3 ^{3,4}	10 ⁴	5 ⁴	6 ⁴	0	0	4 ⁴	8
	%		29,8	6,4	21,3	10,6	12,8	0,0	0,0	8,5	17,0
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	14 ⁵	8 ⁴	10 ⁴	7 ⁴	10 ⁴	3	2	4 ⁴	10
	%		43,8	25,0	31,2	21,9	31,2	9,4	6,2	12,5	31,2
Хроническое воспаление	абс.	30	11 ⁵	24 ⁵	24 ⁵	18 ⁵	19	8	4	14 ⁵	9
	%		36,7	80,0	80,0	60,0	63,3	26,7	13,3	46,7	30,0
Нормальный эндометрий	абс.	22	2	2	3	3	0	0	0	3	4
	%		9,1	9,1	13,6	13,6	0,0	0,0	0,0	13,6	18,2
			p ₁₋₃ =0,003 χ ² =8,9 p ₁₋₄ =0,02 χ ² = 5,7 p ₃₋₅ =0,007 χ ² = 7,5 p ₄₋₅ =0,03 χ ² = 5,2	p ₁₋₄ <0,001 χ ² =38,0 p ₂₋₃ =0,04 χ ² = 5,5 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =43,6 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 18,8 p ₄₋₅ <0,001 χ ² = 25,5	p ₁₋₄ <0,001 χ ² =11,2 P ₁₋₅ =0,04 χ ² = 4,6 p ₂₋₄ <0,001 χ ² =25,6 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 14,9 p ₄₋₅ <0,001 χ ² = 22,4	p ₁₋₄ =0,001 χ ² =11,7 p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 21,3 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 9,3 p ₄₋₅ <0,001 χ ² = 11,3	p ₁₋₂ =0,02 χ ² =6,0 p ₁₋₄ =0,03 χ ² =5,5 p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 21,4 p ₃₋₄ =0,02 χ ² =6,4	p> 0,05	p>0,05	p ₁₋₂ <0,001 χ ² = 26,2 p ₁₋₃ <0,001 χ ² = 16,9 p ₁₋₅ <0,001 χ ² = 12,4 p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 14,9 p ₃₋₄ =0,005 χ ² = 8,8 p ₄₋₅ =0,02 χ ² = 6,3	p ₁₋₂ <0,001 χ ² =17,2 p ₁₋₃ =0,02 χ ² = 5,9 p ₁₋₄ =0,02 χ ² = 6,2 p ₁₋₅ =0,003 χ ² = 10,0

Женщин с фенотипом хронического воспаления отличала достоверно большая частота рецидивирующих вагинитов – в сравнении с нарушенным иммунным статусом ($p < 0,001$, $\chi^2 = 18,8$) и остальными группами ($p < 0,05$).

Достоверными отличиями женщин с фенотипами хронического воспаления и нарушенным иммунным статусом были сопоставимо высокие показатели рецидивирующих БВ (40,2%), практически в четыре раза выше в сравнении с пролиферативным и секреторным эндометрием ($p < 0,05$).

В группе женщин с фенотипом хронического воспаления значимо чаще, чем при остальных фенотипах выявляли бактериальную контаминацию отделяемого цервикального канала ($p < 0,05$), эпизоды инфицирования эндоцервикса в сочетании с рецидивами БВ ($p < 0,05$), перенесенные ИППП, чем с пролиферативным и фенотипом нарушенного иммунного статуса ($p < 0,05$), в пять раз – с диспластическим ($p < 0,001$, $\chi^2 = 21,4$). Хламидийную инфекцию перенесли четверть женщин с фенотипом воспаления и пролиферативным, генитальный герпес – 14,8% всей выборки. В анамнезе женщин с пролиферативным фенотипом достоверно преобладали случаи инфицирования ВПЧ ВР, чем в остальных ($p < 0,05$), с фенотипом воспаления – с нормальным эндометрием ($p = 0,02$, $\chi^2 = 6,3$). Вмешательства на шейке матки по поводу лейкоплакии/CIN I, II на фоне ВПЧ ВР в этой группе выполняли достоверно чаще, чем с фенотипом воспаления и нарушенного иммунного статуса ($p < 0,05$), в остальных – в 17,6% ($p < 0,05$).

5.4 Детерминанты молекулярно-адаптационных фенотипов по результатам инструментальных исследований

С формированием по результатам ИГХ исследования иммунного профиля эндометрия понятий молекулярных фенотипов представляется перспективным анализ факторов риска их развития и стигм при сонографии и гистероскопии.

В Таблице 69 приведены результаты группировки сонографических признаков фенотипов эндометрия: ассоциированные с хроническим воспалением, пролиферативный и диспластический типы, вариант нормы.

Таблица 69 – Сонографические маркеры молекулярных фенотипов эндометрия

Группы/Фенотипы		N	Пролиферативный тип			Ассоциированные с хроническим эндометритом признаки			Диспластический тип			Нормальная сонографическая картина
			Полипы эндометрия	Гиперплазия эндометрия	Неравномерная толщина слизистой	Несоответствие эхоструктуры фазе МЦ, гипоэхогенный контур вокруг М-эхо	Расширение полости матки в верхней трети	Неоднородность структуры	Внутриматочные синехии	Фиброз стромы/ гиперэхогенные включения в базальном слое	«Тонкий» эндометрий	
Пролиферативный	абс.	40	12/4	9/10	10	0	0	0	0	0	0	14 ³
	%		30,0/13,3	22,5/33,3	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	35,0
Диспластический	абс.	47	0	0	0	10	0	0	4	26	37	0
	%		0,0	0,0	0,0	21,3	0,0	0,0	8,5	55,3	78,7	0,0
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	0	0	0	0	0	6 ⁴	0	0	0	26
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	18,8	0,0	0,0	0,0	81,2
Хроническое воспаление	абс.	30	0	0	0	0	6	24	0	0	0	0
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	20,0	80,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Нормальный эндометрий	абс.	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
жирным шрифтом выделены эпизоды сочетания с ХЭ			p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p ₁₋₃ <0,001 χ ² =15,4

Основу пролиферативного типа составили визуальные признаки ПЭ, ГЭ, частота которых (52,5%) не отличалась от аналогичной в присутствии маркеров хронического воспаления (46,6%). Варианты ассоциированных с ХЭ признаков были представлены: несоответствием М-эхо фазе МЦ – у трети женщин, расширением полости матки в верхней трети за счет жидкостного содержимого – каждой пятой, неоднородной структурой, нечетким наружным контуром М-эхо, гиперэхогенной линией стыка листков эндометрия – практически половины.

Среди сонографических стигм диспластического фенотипа у половины женщин выявляли возрастание эхогенности ткани, фиброз стромы/гиперэхогенные включения в базальном слое, отсутствие четкой линии смыкания слоев (55,3%) на фоне преобладания «тонкого» эндометрия (78,7%). У каждой пятой женщины развитие диспластического типа эндометрия (истончение слизистой <7 мм, гипозоногенный контур вокруг М-эхо) было обусловлено хроническим воспалением.

Нормальная сонографическая картина определена у всех женщин с фенотипом нормального эндометрия, при пролиферативном – практически в два раза реже, чем с нарушенным иммунным статусом ($p < 0,001$, $\chi^2 = 15,4$).

В Таблице 70 приведены результаты выявленных при фенотипах гистероскопических признаков нарушений состояния эндометрия.

При пролиферативном фенотипе частота ПЭ и ГЭ составила 67,5%, вдвое реже их отмечали на фоне маркеров хронического воспаления (33,3%).

Микрополипы в сочетании с отеком и гиперемией эндометрия определены у половины женщин с ХЭ.

Неравномерная толщина эндометрия определена практически у трети женщин с пролиферативным фенотипом, четверти – с нарушенным иммунным статусом, в 50,0% сочеталась с визуальными признаками хронического воспаления.

Гистероскопические стигмы диспластического типа эндометрия отмечали при истонченной и бледной слизистой и внутриматочных синехиях.

Таблица 70 – Гистероскопические маркеры молекулярных фенотипов эндометрия

Группы/Фенотипы		N	Пролиферативный тип			Диспластический тип		Признаки хронического эндометриального воспаления (отек стромы, гиперемия, точечные кровоизлияния)			Нормальная гистероскопическая картина
			Полипы эндометрия	Гиперплазия эндометрия	Неравномерная толщина слизистой	Внутриматочные синехии	Истончение слизистой, бледная слизистая	Микрополипы	Неравномерная толщина	Истончение/синехии эндометрия	
Пролиферативный	абс.	40	25/4	15/6	14	0	0	0	0	0	0
	%		62,5/ 13,3	37,5/ 20,0	35,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Диспластический	абс.	47	0	0	0	9	28	0	0	10	0
	%		0,0	0,0	0,0	19,1	59,6	0,0	0,0	21,3	0,0
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	0	0	8	0	0	0	0	0	24
	%		0,0	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	75,0
Хроническое воспаление	абс.	30	0	0	0	0	0	15	15	0	0
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	50,0	50,0	0,0	0,0
«Нормальный» эндометрий	абс.	22	0	0	0	0	0	0	0	0	22
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0

Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)/**жирным шрифтом** выделены случаи сочетания с ХЭ

Наличие синехий и истончение слизистой на фоне фокальной гиперемии, точечных кровоизлияний в строму указывало на диспластический тип хронического воспаления – у каждой пятой женщины.

В группе с нарушенным иммунным статусом гистероскопическая картина нормального эндометрия отмечена у 75,0%.

Результаты патоморфологических исследований эндометрия при различных фенотипах представлены в Таблице 71.

Таблица 71 – Патоморфологические характеристики биоптатов эндометрия при различных фенотипах

Группы/Фенотипы		N	Хронический эндометрит всего	Морфологически полноценная слизистая	Хронический эндометрит+ полип эндометрия	Хронический эндометрит+ гиперплазия эндометрия	Полип эндометрия	Гиперплазия эндометрия	Очаговый фиброз стромы/	Микрополипы эндометрия
Пролиферативный	абс.	40	10	0	4	6	25	15	0	0
	%		25,0	0,0	13,3	20,0	62,5	37,5	0,0	0,0
Диспластический	абс.	47	10	0	0	0	0	0	37	0
	%		21,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	78,7	0,0
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	0	32	0	0	0	0	0	0
	%		0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Хроническое воспаление	абс.	30	30	0	0	0	0	0	0	15
	%		100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	50,0
Нормальный эндометрий	абс.	22	0	22	0	0	0	0	0	0
	%		0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p>0,05$)

Нормальное гистологическое строение эндометрия выявляли у всех женщин с фенотипом нормы и нарушенного иммунного статуса.

Пролиферативные процессы эндометрия были подтверждены: ПЭ – у 62,5%, ГЭ – 37,5%, в сочетании с ХЭ выявляли вдвое реже (33,3%). Микрополипы эндометрия выявлены у половины женщин с хроническим воспалением.

Очаговый фиброз стромы обнаружен у 78,7% женщин с диспластическим фенотипом, в 3,5 раза реже – на фоне воспалительной инфильтрации стромы.

Частота ХЭ в группе с пролиферативным фенотипом составила 25,0%, диспластическим – 21,3%.

5.5 Ультраструктурные особенности эндометрия в период «имплантационного окна»

Обобщение результатов СЭМ с выделением преобладающего типа пиноподий в период «имплантационного окна» представлено в Таблице 72.

Таблица 72 – Характеристики пиноподий при фенотипах эндометрия
(расчет на 144 образца)

Группы/Фенотипы		N	Зрелые	Созревающие	Регрессивные	Зоны с диссоциативным развитием
Пролиферативный	абс.	38	15 ⁴	13 ³	10	4 ²
	%		39,5	34,2	26,3	10,5
Диспластический	абс.	34	7 ⁵	20	7	19 ³
	%		20,6	58,8	20,6	55,9
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	9 ⁵	23 ⁵	0	6
	%		28,1	71,9	0,0	18,8
Хроническое воспаление	абс.	30	4 ⁵	15	11	9
	%		13,3	50,0	36,7	30,0
Нормальный эндометрий	абс.	10	7	3	0	0
	%		70,0	30,0	0,0	0,0
			p ₁₋₄ =0,03 χ ² = 5,7 p ₂₋₅ =0,006 χ ² = 8,7 p ₃₋₅ =0,03 χ ² =5,7 p ₄₋₅ <0,001 χ ² =12,1	p ₁₋₃ =0,002 χ ² = 9,9 p ₃₋₅ =0,02 χ ² = 5,7	p>0,05	p ₁₋₂ =0,00 χ ² = 16,9 p ₂₋₃ =0,00 χ ² = 9,7

Зрелые пиноподии преобладали в 70,0% образцов с фенотипом нормы, достоверно чаще, чем при диспластическом типе и нарушенном иммунном статусе эндометрия ($p < 0,05$) (Рисунок 46). В группе с пролиферативным фенотипом данный тип пиноподий встречался значимо чаще, чем при хроническом воспалении – в три раза ($p = 0,03$, $\chi^2 = 5,7$).

При диспластическом фенотипе или нарушенном иммунном статусе выявлено небольшое количество зон со зрелыми или в начале периода регрессии (с равномерно расположенными микроворсинками) пиноподиями, в основном, в области протоков желез.

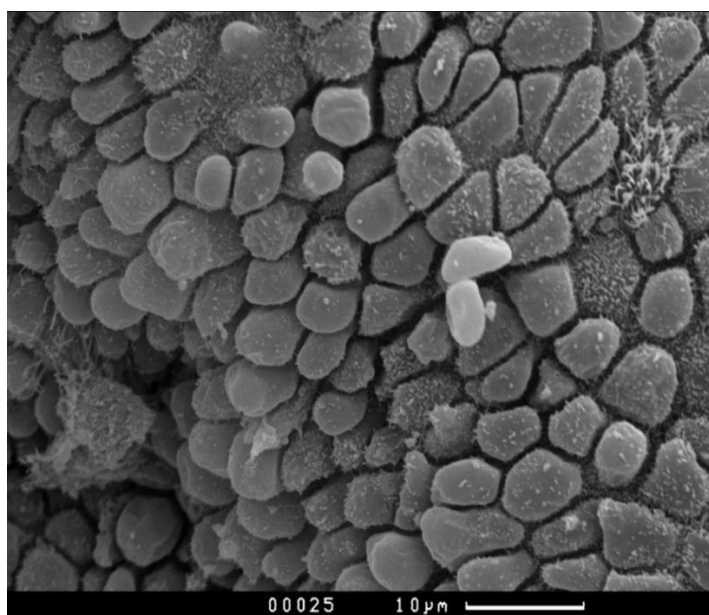


Рисунок 46 – Зрелые пиноподии (ЛГ7+)

Созревающие пиноподии достоверно чаще отмечали при фенотипе нарушенного иммунного статуса, практически в два раза, чем с пролиферативным и фенотипом нормального эндометрия ($p < 0,05$).

Пиноподии в виде грибообразных структур присутствовали, не покрывая полностью поверхность эпителиальной клетки (Рисунок 47).

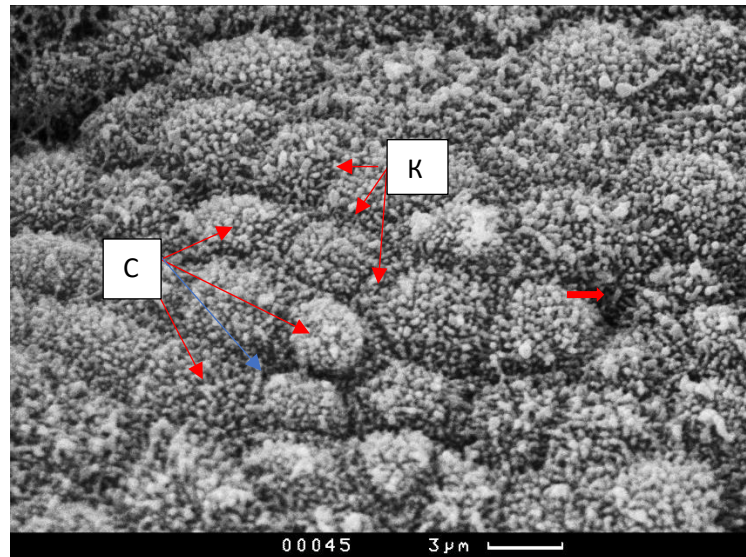


Рисунок 47 – Созревающие пиноподии

С – секреторные клетки в стадии подготовки к формированию пиноподий,
К – сохраненные межклеточные контакты

Поля созревающих пиноподий представлены в виде куполообразных клеток эпителия с утолщенными укороченными микроворсинками и частично разрушенными межклеточными контактами на более чем 50,0% площади исследуемого образца (достаточное содержание). В образцах с секреторными клетками в стадии подготовки к формированию пиноподий выявляли «спокойные» секреторные клетки с плоской апикальной поверхностью и сохраненными межклеточными контактами.

Регрессирующий тип пиноподий определен у 27,9% женщин (Рисунок 48).

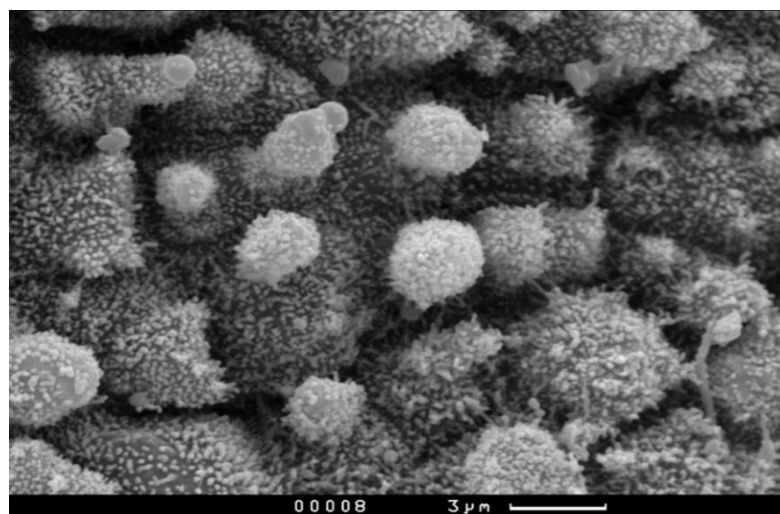


Рисунок 48 – Регрессирующие пиноподии, покрытые мелкими микроворсинками

Начальные признаки регресса отдельных пиноподий – появление на их поверхности мелких, равномерно расположенных микроворсинок позволяет предположить пик максимального развития сутками ранее. Зоны с диссоциированным развитием достоверно преобладали при диспластическом фенотипе – практически в четыре раза, чем с пролиферативным фенотипом и нарушенным иммунным статусом ($p < 0,05$).

Особенности клеточного микроокружения покровного эпителия эндометрия представлены в Таблице 73.

Таблица 73 – Варианты ультраструктурного микроокружения при фенотипах эндометрия (n=144)

Группы/Фенотипы		N	«Спокойный» эпителий	Секреторные гранулы	Сохраненные межклеточные контакты	Атипичные реснитчатые клетки	Гетероморфные секреторные клетки
Пролиферативный	абс.	38	8 ^{2,4}	15 ^{3,5}	12 ²	13 ³	9 ²
	%		21,1	39,5	31,6	34,2	23,7
Диспластический	абс.	34	21 ^{3,5}	8 ^{3,5}	21 ^{3,5}	18 ^{3,4,5}	20 ^{3,4}
	%		61,8	23,5	61,8	52,9	58,8
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	5 ⁴	24 ⁴	5	3	3
	%		15,6	75,0	15,6	9,4	9,4
Хроническое воспаление	абс.	30	16 ⁵	6 ⁵	11	7	9
	%		53,3	20,0	36,7	23,3	30,0
Нормальный эндометрия	абс.	10	1	9	1	1	0
	%		10,0	90,0	10,0	10,0	0,0
			p ₁₋₂ =0,00 χ ² = 12,4 p ₁₋₄ =0,009 χ ² = 7,7 p ₂₋₃ =0,00 χ ² = 14,7 p ₂₋₅ =0,009 χ ² = 8,3 p ₃₋₄ =0,003 χ ² =9,8 p ₃₋₅ =0,03 χ ² =5,8	p ₁₋₃ =0,004 χ ² = 8,9 p ₁₋₅ =0,01 χ ² = 8,1 p ₂₋₃ =0,00 χ ² = 17,5 p ₂₋₅ =0,00 χ ² = 14,4 p ₃₋₄ =0,00 χ ² =18,8 p ₄₋₅ =0,00 χ ² =15,7	p ₁₋₂ =0,02 χ ² = 6,6 p ₂₋₃ =0,00 χ ² = 14,7 p ₂₋₅ =0,009 χ ² = 8,3	p ₁₋₃ =0,02 χ ² = 6,1 p ₂₋₃ =0,00 χ ² = 14,4 p ₂₋₄ =0,02 χ ² = 5,9 p ₂₋₅ =0,03 χ ² = 5,8	p ₁₋₂ =0,004 χ ² = 9,2 p ₂₋₃ =0,00 χ ² = 17,7 p ₂₋₄ =0,03 χ ² = 5,3

Разнообразие типов пиноподий в период «окна имплантации» (зрелые, созревающие, регрессирующие) сочеталось с различной микросредой.

Преобладание на поверхности $\sim 70,0\%$ площади биопсийного материала «спокойного» эпителия со слабой секреторной активностью и гипоплазией реснитчатых клеток выявлено при диспластическом и фенотипе хронического воспаления (57,5%) (Рисунок 49).

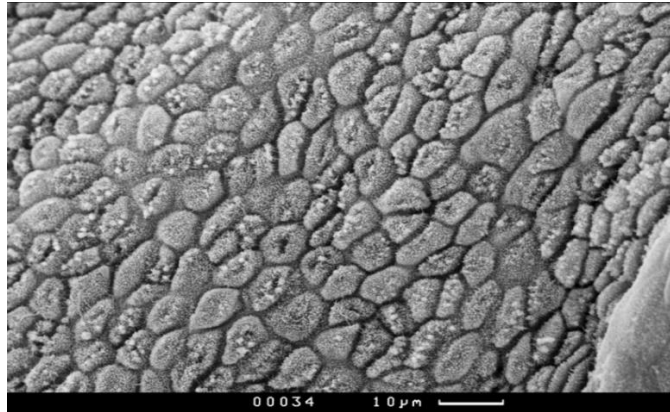


Рисунок 49 – «Спокойный» эпителий. Заметно отсутствие реснитчатых клеток

Отличием покровного эпителия эндометрия в группе с диспластическим фенотипом оказалось асинхронное созревание пиноподий (неравномерное и отставание) и преобладание атипичных ультраструктур и сохранность между секреторными клетками межклеточных контактов, в норме разрушенных на этой стадии наблюдения (Рисунок 50).

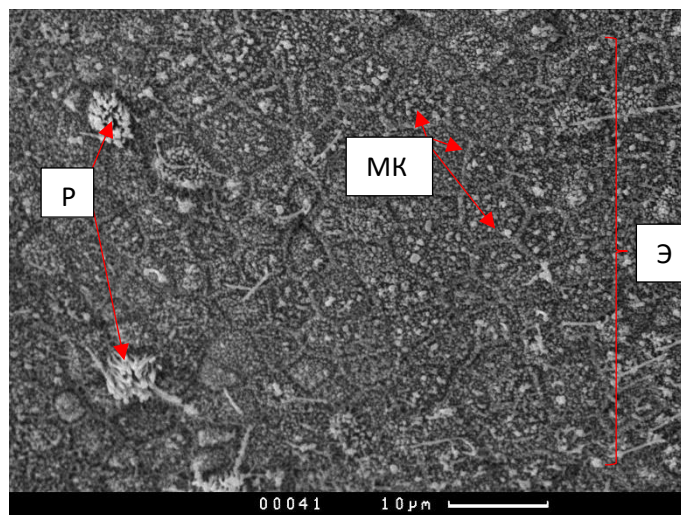


Рисунок 50 – Сохранность межклеточных контактов

Э – «спокойные» секреторные клетки, МК – комплекс межклеточных контактов между «спокойными» секреторными клетками, Р – реснитчатые клетки

Закключение о диссоциированном развитии было также сделано на основании выявления в период предполагаемого «окна имплантации» единичных пиноподий, покрытых мелкими микроворсинками, в стадии преждевременной регрессии, зон с недоразвитыми спавшимися ультраструктурами (Рисунок 51).

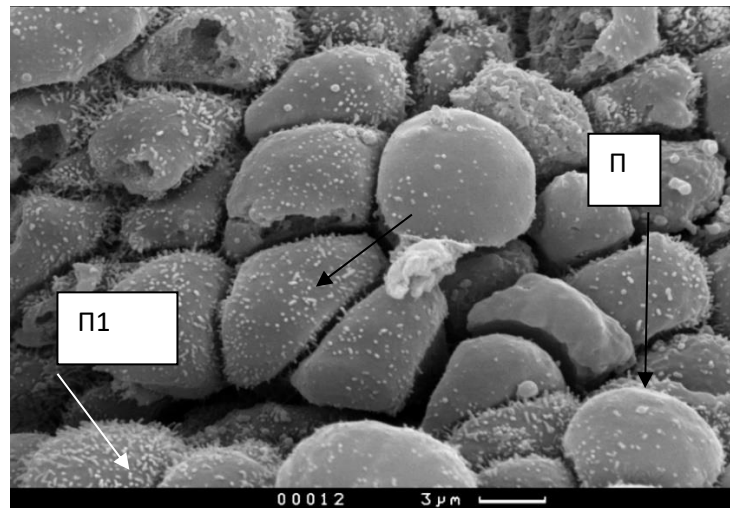


Рисунок 51 – ЛГ7+. Зрелые пиноподии (П) и пиноподии в начальной стадии регрессии, покрытые очень короткими равномерно расположенными микроворсинками (П1).

Разновидностью диссоциированного варианта были случаи акселерации, преобладание пиноподий регрессивного типа наряду с единичными полями зрелых. В отдельных полях на микроворсинках эпителиальных клеток присутствовали множественные гетерогенные по размеру грибовидные выросты, расцененные как «юные» пиноподии (Рисунок 52).

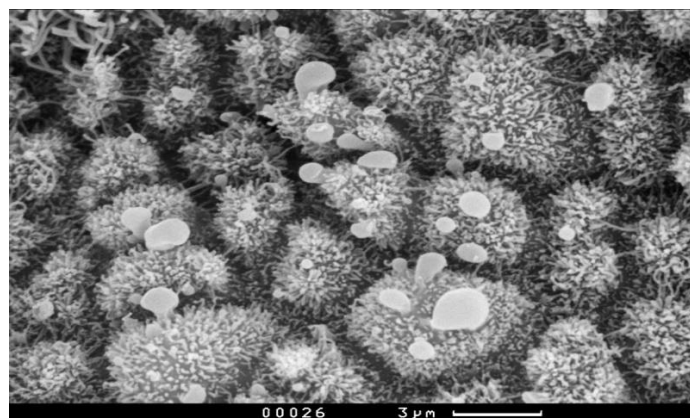


Рисунок 52 – Формирование на эпителиальной клетке множественных гетерогенных по размеру грибовидных выпячиваний (апоптотические тельца)

В образцах с ранним развитием пиноподий большая часть эпителия была занята клетками с мелкими микроворсинками, сохранены отдельные межклеточные контакты.

Атипичное микроокружение при диспластическом фенотипе было представлено участками эпителия с гигантскими клетками с плоской апикальной поверхностью с мелкими микроворсинками и сохранными межклеточными контактами (Рисунок 53).

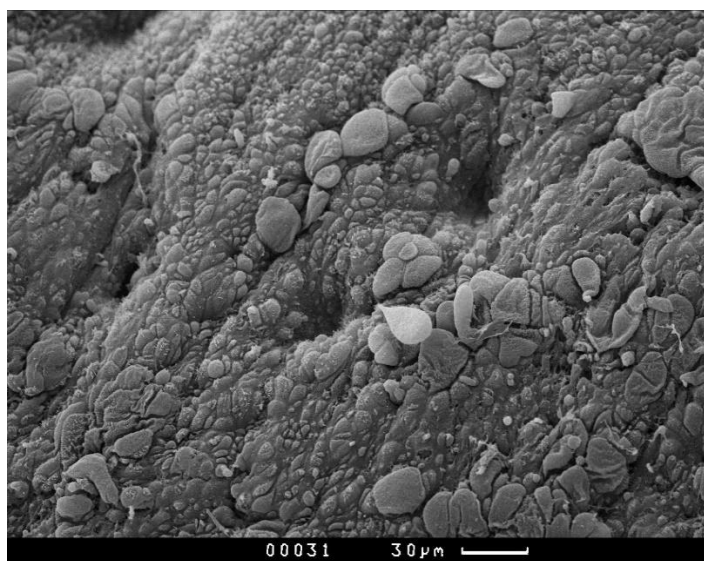


Рисунок 53 – Атипичное микроокружение. Атипичные гигантские клетки

Разнообразие секреторных клеток по форме, строению и размерам отмечено практически в половине образцов эпителия при диспластическом фенотипе, достоверно реже – в других группах, в два раза – при фенотипе хронического воспаления ($p=0,03$, $\chi^2=5,3$), в 2,5 раза – пролиферативном ($p=0,004$, $\chi^2=9,2$), в шесть раз – нарушенном иммунном статусе ($p=0,00$, $\chi^2=17,7$).

Атипичные реснитчатые клетки – с укороченными или утолщенными (мультиакснемными) редко расположенными ресничками (Рисунок 54) в группе с диспластическим фенотипом эндометрия выявляли достоверно чаще, чем с нарушенным иммунным статусом, фенотипом хронического воспаления и нормальным (14,2%) ($p<0,05$).

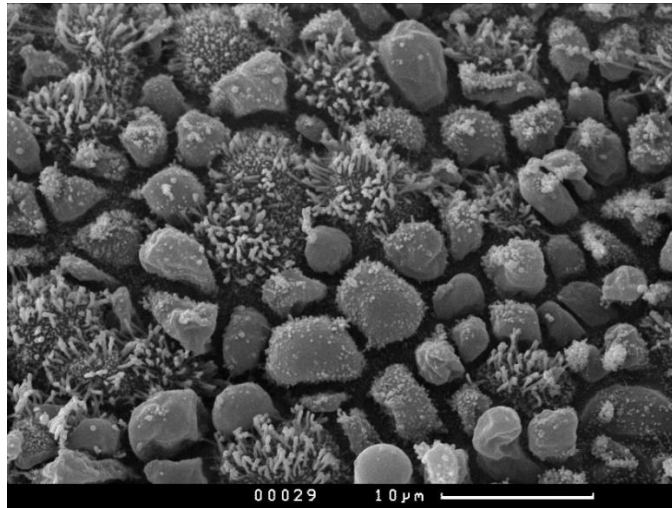


Рисунок 54 – Атипичное микроокружение

В образцах эндометрия с фенотипом хронического воспаления выявлены зоны «спокойного» эпителия (53,3%), сохранных межклеточных контактов (36,7%) между гетероморфными секреторными клетками (30,0%), атипичных куполообразных клеток с «редкими» ресничками при высокой плотности распределения (23,3%). На поверхности созревающих и зрелых (Рисунок 55) пиноподий в 16,7% образцов выявлены структуры, морфологически идентичные бактериальным клеткам.

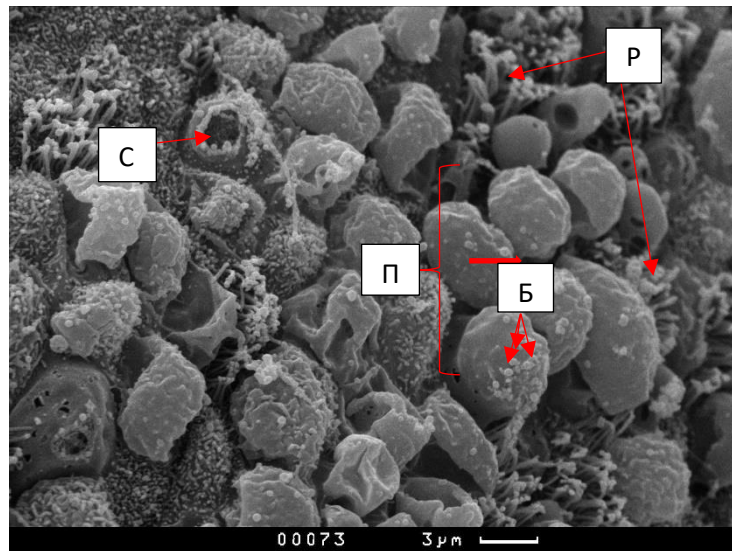


Рисунок 55 – Бактериальная контаминация пиноподий

С – секреторные клетки в стадии подготовки к формированию пиноподий,
 П – зрелые пиноподии, Р – реснитчатые клетки, Б – бактериальные клетки

В группе с диспластическим фенотипом подобные элементы встречались в пяти образцах (14,7%), что коррелирует с определением в эндометрии дисбиотического типа микробиоты (5,9%) и смешанного (8,8%). При фенотипе нарушенного иммунного статуса в период «окна имплантации» наличие атипичных ультраструктур было малочисленно, без достоверных отличий от группы с вариантом нормального эндометрия. В небольшом количестве образцов определено сочетание «спокойного» эпителия с хронометрическим несоответствием степени зрелости пиноподий. Преобладание секреторных клеток куполообразной формы с утолщенными микроворсинками отмечено наряду с достаточным количеством секреторных гранул (75,0%), достоверно большем, чем при других фенотипах – практически в два раза, чем с пролиферативным ($p=0,004$, $\chi^2=8,9$), в 3,5 раз – диспластическим и фенотипом хронического воспаления ($p<0,05$). В группе с пролиферативным фенотипом наряду с неравномерным созреванием пиноподий (соотношение зрелых к созревающим) зоны со «спокойным» эпителием и гетероморфными секреторными клетками выявляли реже (22,4%), чем с сохраненными межклеточными контактами, атипичными реснитчатыми клетками и малым количеством секреторных гранул (35,1%).

Повторный забор материала с оценкой ультраструктур эндометрия (пиноподий) (ЛГ7+) был выполнен при фенотипе нарушенного иммунного статуса, исследованы образцы ($n=17$) с созревающим типом пиноподий.

Мониторинг показал появление клеток с выпуклой апикальной поверхностью, неравномерно покрытой утолщенными и укороченными микроворсинками, разрушенными межклеточными контактами, во всех случаях тип развития пиноподий соответствовал зрелым формам.

5.6 Иммуногистохимическая оценка рецептивности эндометрия женщин в зависимости от фенотипа

При ИГХ исследовании биоптатов эндометрия при молекулярных фенотипах, основанных на различном уровне экспрессии маркеров локального

иммунного статуса, определена 100% положительная ядерная экспрессия ER и PR, со статистически значимыми различиями в количестве окрашенных клеток железистого компартмента и стромы и интенсивности окрашивания.

Показатели экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов здоровых фертильных женщин (умеренные – в эпителиоцитах желез, преобладание PR в строме эндометрия в сравнении с ER) при сравнительном анализе в группах с молекулярными фенотипами выделять рецептивный и нерецептивный профиль.

Эти особенности позволяют утверждать о допустимости не только меж-, но и внутригрупповых различий рецептивного профиля эндометрия (Таблица 74).

Таблица 74 – Экспрессия рецепторов к эстрадиолу и прогестерону в период предполагаемого «окна имплантации»

Группы/Фенотипы		N	Рецептивный профиль	Нерецептивный профиль
Пролиферативный	абс.	40	5	35
	%		12,5	87,5
Диспластический	абс.	47	4	43
	%		8,5	91,5
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	6	26
	%		18,8	81,2
Хроническое воспаление	абс.	30	0	30
	%		0,0	100,0
Нормальный эндометрий	абс.	22	22	0
	%		100,0	0,0

Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Рецептивный профиль эндометрия выявлен у 22-х женщин (10 здоровых фертильных, составляющих группу сравнения, и 12 – с фенотипом нормы из группы с ТПБ), 13,3% – с пролиферативным, диспластическим и фенотипом нарушенного иммунного статуса.

Нерецептивный профиль определен у всех женщин с фенотипом хронического воспаления, 89,5% с пролиферативным и диспластическим, в 1,4 раза реже, чем с нарушенным иммунным статусом, однако без достоверных различий.

При пролиферативном и диспластическом фенотипе отличную от группы сравнения экспрессию рецепторов в ядрах эпителиоцитов желез и стромы отмечали достоверно чаще, чем в других группах – в 1,4 раза ($p < 0,001$).

Особенности экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов при фенотипах эндометрия приведены с выделением рецептивного и нерецептивного профиля (Таблица 75).

Таблица 75 – Профиль экспрессии ER и PR при фенотипах эндометрия (H-Score, баллы)

Группы/Фенотипы	N	Эстрогеновые рецепторы		Прогестероновые рецепторы	
		железы	строма	железы	строма
Нарушенный иммунный статус нерецептивный	26	130(120;140)	130(125;135)	220(210;260)	270(265;275)
Диспластический фенотип нерецептивный	43	75(70;80)	90(80;95)	100(90;115)	130(120;135)
Пролиферативный фенотип нерецептивный	35	215(210;220)	155(145;165)	135(120;145)	130(120;160)
Хроническое воспаление нерецептивный	30	115(100;130)	125(110;135)	142,5(125;160)	137,5(130;145)
Группа сравнения и нормальный фенотип при ТПБ рецептивный	22	120(120;130)	132,5(130;140)	155(150;165)	285(280;290)
Рецептивный эндометрий в группах всего	15	120(110;125)	130(125;130)	160(145;165)	270(265;280)

Примечание – статистически значимые межгрупповые различия приведены в таблицах ниже

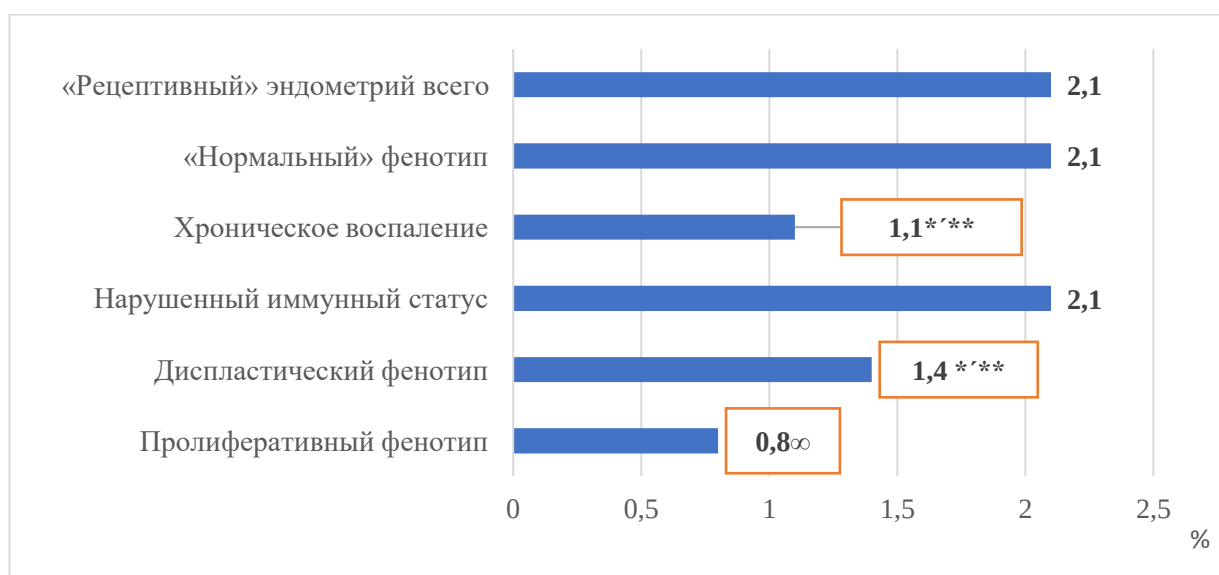
Анализ экспрессии рецепторов стероидных гормонов при различном иммунном профиле осуществляли по отношению к группе сравнения. При фенотипе нарушенного иммунного статуса экспрессия рецепторов в железистом компартменте эндометрия была повышена, PR – в большей степени – в 1,4 раза ($p < 0,001$), чем ER – в 1,1 раза ($p < 0,001$). Экспрессия при данном фенотипе ER и PR в строме эндометрия достоверно не отличалась от таковой у здоровых женщин.

Достоверным отличием женщин с диспластическим фенотипом оказалась более низкая, чем в группе сравнения экспрессия ER и PR в обоих компонентах эндометрия ($p < 0,001$).

Женщин с пролиферативным фенотипом отличала значимо повышенная в отличие от группы сравнения экспрессия ER в эпителиоцитах маточных желез – в 1,8 раза ($p < 0,001$), в строме – в 1,2 раза ($p < 0,001$) и сниженная – PR в обоих компартментах эндометрия, в строме – в большей степени – в 2,3 раза ($p < 0,001$), чем в железистом – в 1,1 раза ($p < 0,001$).

При фенотипе хронического воспаления снижение экспрессии рецепторов половых гормонов прослеживалось в обоих компартментах эндометрия, в большей степени за счет PR в строме – в два раза в отличие от варианта нормы ($p < 0,001$).

Индексы ER/PR в строме эндометрия в период «имплантационного окна» при различных фенотипах представлены на Рисунке 56.



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): * – от группы с рецептивным эндометрием всего, фенотипом нормального эндометрия, ** – с нарушенным иммунным статусом, ∞ – от всех групп

Рисунок 56 – Экспрессия ER/PR в строме эндометрия при различных фенотипах

Нарушение рецептивности эндометрия подтверждает более низкий индекс ER/PR: при пролиферативном фенотипе – в 2,6 раза ($p < 0,05$), фенотипе хронического воспаления – в 1,5 раза ($p < 0,05$), диспластическом – в 1,9 раза ($p < 0,05$) в отличие от группы с рецептивным профилем.

Особенности экспрессии ER и PR при фенотипах эндометрия с градацией рецептивного/нерецептивного профиля представлены в Таблице 76.

Таблица 76 – Экспрессия ER в железистом и стромальном компартментах эндометрия (H-Score, баллы)

Группы/Фенотипы	N	Эстрогеновые рецепторы (железы)	p	Эстрогеновые рецепторы (строма)	p
Нарушенный иммунный статус нерецептивный	26	132,5(120;140)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–6=0,01	132,5(130;140)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4=0,04
Диспластический фенотип нерецептивный	43	75(70;80)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001 2–6<0,001	95(80;95)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001 2–6<0,001
Пролиферативный фенотип нерецептивный	35	215(210;220)	3–4<0,001 3–5<0,001 3–6<0,001	155(145;165)	3–4<0,001 3–5<0,001 3–6<0,001
Хроническое воспаление нерецептивный	30	115(100;130)	4–5=0,02	125(110;135)	4–5=0,006
Группа сравнения и нормальный фенотип при ТПБ рецептивный	22	120(120;130)		132,5(130;140)	
Рецептивный эндометрий в группах всего	15	120(110;127,5)		130(125;135)	

В группе с пролиферативным фенотипом экспрессия ER в железистом компартменте оказалась достоверно выше, чем при других фенотипах – в 1,6 раза в отличие от показателя при нарушенном иммунном статусе ($p<0,001$), практически в два раза – фенотипе хронического воспаления ($p<0,001$), в строме эндометрия – различия с группой сравнения и нарушенным иммунным статусом были статистически значимы, однако повышение было незначительным ($p<0,001$).

Выраженное снижение экспрессии ER в железистом компартменте было значимым отличием женщин с диспластическим фенотипом от группы с пролиферативным – практически в три раза ($p<0,001$) и 1,6 раза – в стромальном ($p<0,001$), при меньших различиях с фенотипом хронического воспаления ($p<0,001$).

При фенотипе нарушенного иммунного статуса экспрессия ER оказалась ниже показателя женщин с пролиферативным вариантом – в 1,6 раза в железистом компартменте эндометрия ($p<0,001$), в 1,2 раза – строме ($p<0,001$).

В группе с фенотипом хронического воспаления экспрессия ER в эпителиоцитах желез достоверно превышала показатель при диспластическом ($p<0,001$) и ниже, чем в остальных группах, с наибольшей разницей при пролиферативном – в два раза в железистом компартменте ($p<0,001$), в 1,2 раза – в строме ($p<0,001$).

В Таблице 77 представлены результаты экспрессии PR при фенотипах эндометрия с учетом рецептивности.

Таблица 77 – Экспрессия PR в железистом и стромальном компартментах эндометрия (H-Score, баллы)

Группы/Фенотипы	N	Прогестероновые рецепторы (железы)	p	Прогестероновые рецепторы (строма)	p
Нарушенный иммунный статус нерецептивный	26	220(210;260)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001 1–6<0,001	270(265;275)	1–2<0,001 1–3<0,001 1–4=0,002 1–5<0,001
Диспластический фенотип нерецептивный	43	100(90;115)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001 2–6<0,001	130(120;135)	2–4=0,01 2–5<0,001 2–6<0,001
Пролиферативный фенотип нерецептивный	35	135(120;145)	3–4=0,04 3–5<0,001 3–6<0,001	125(110;145)	3–5<0,001 3–6=0,01
Хроническое воспаление нерецептивный	30	142,5(125;160)	4–5=0,01 4–6=0,02	137,5(130;145)	4–5<0,001 4–6<0,001
Группа сравнения и нормальный фенотип при ТПБ рецептивный	22	155(150;165)		285(280;290)	
Рецептивный эндометрий в группах всего	15	152,5(145;160)		270(265;280)	

Экспрессия PR в обоих компартментах эндометрия в группе с пролиферативным фенотипом оказалась ниже, чем при фенотипе нарушенного

иммунного статуса ($p < 0,001$) достоверно не отличалась от показателей при хроническом воспалении ($p > 0,05$). Различия показателей PR группы с диспластическим фенотипом от нарушенного иммунного статуса в обоих компартментах эндометрия были достоверно ниже – в два раза ($p < 0,001$).

Профиль женщин с фенотипом нарушенного иммунного статуса в период «окна имплантации» достоверно отличался уровнем экспрессии PR в сравнении с другими: с пролиферативным – в 1,6 раза в эпителиоцитах желез, в 2,2 раза – в строме эндометрия, фенотипе хронического воспаления – соответственно в полтора и два раза ($p < 0,001$).

При фенотипе хронического воспаления показатель экспрессии PR в структурах эндометрия был статистически значимо ниже, чем в группе сравнения ($p < 0,001$), в строме – не отличался от аналогичного женщин с пролиферативным фенотипом.

Избыточная пролиферативная активность эндометрия при ПЭ/ГЭ, сочетании процессов с ХЭ (при пролиферативном фенотипе) подтверждалась достоверным повышением экспрессии протеина Ki-67. Диапазон экспрессии маркера варьировал от 6,0% до 19,0% [норма: эпителий желез – 0,7 (1,0%); строма – 3,7 (3,0%)].

Данные сравнительного анализа патоморфологических характеристик нерецептивного эндометрия при фенотипах представлены в Таблице 78.

В группе с пролиферативным фенотипом в образцах нерецептивного эндометрия достоверно преобладала поздняя стадия фазы пролиферации – в пять раз ($p_{1-4} < 0,001$, $\chi^2 = 15,2$), у трети – неполноценная секреторная трансформация стромы с железами пролиферативного типа – практически в четыре раза чаще, чем с диспластическим фенотипом ($p_{1-4} < 0,001$, $\chi^2 = 15,2$). Диссоциированный вариант развития желез эндометрия выявлен в 9,8% образцов. В группе с диспластическим фенотипом варианты гормонально неактивного эндометрия достоверно чаще соответствовали гипопластически–диспластическому типу.

Таблица 78 – Патоморфологические особенности нерецептивного эндометрия при фенотипах

Группы/Фенотип		N	Всего	Поздняя стадия фазы пролиферации	Неполноценная секреторная трансформация стромы с железами пролиферативного типа	Неполноценная секреторная трансформация стромы с диссоциированным развитием желез	Гипопластически–диспластический тип	Средняя стадия фазы секреции	Ранняя стадия фазы секреции
Пролиферативный	абс. %	40							
Диспластический	абс. %	47	43 91,5	0 0,0	4 8,5	3 6,4	36 ⁴ 76,6	0 0,0	0 0,0
Нарушенный иммунный статус	абс. %	32	26 81,2	0 0,0	0 0,0	2 6,2	0 0,0	19 59,4	5 15,6
	Хроническое воспаление		абс. %	30	30 100,0	3 10,0	6 20,0	5 16,7	6 20,0
Нормальный эндометрий	абс. %	22	0 0,0		0 0,0	0 0,0	0 0,0	0 0,0	0 0,0
				p ₁₋₄ <0,001 χ ² = 15,2	p ₁₋₂ =0,006 χ ² = 7,9	p>0,05	p ₂₋₄ <0,001 χ ² =23,7	p>0,05	p>0,05

При фенотипе нарушенного иммунного статуса полноценную секреторную трансформацию эндометрия выявляли чаще других вариантов, в сравнении с фенотипом воспаления – практически в два раза, однако без статистически значимых отличий. Обращает внимание разнообразие патоморфологических характеристик в образцах нерцептивного эндометрия при фенотипе хронического воспаления.

Особенности экспрессии маркера VDR в выборке с фенотипами эндометрия представлены в Таблице 79.

Таблица 79 – Варианты распределения VDR в строге эндометрия

Группы/Фенотипы		N	Диффузный	Очаговый
Пролиферативный	абс.	40	12 ^{2,4,5}	28 ^{2,4,5}
	%		30,0	70,0
Диспластический	абс.	47	2 ^{3,4,5}	45 ^{3,4,5}
	%		4,3	95,7
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	18 ⁵	14 ⁵
	%		56,2	43,8
Хроническое воспаление	абс.	30	22	8
	%		73,3	26,7
Нормальный эндометрий	абс.	22	20	2
	%		90,9	9,1
			p ₁₋₂ =0,002 χ ² = 10,6 p ₁₋₄ <0,001 χ ² = 12,8 p ₁₋₅ <0,001 χ ² = 21,0 p ₂₋₃ <0,001 χ ² = 27,2 p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 40,7 p ₂₋₅ =0,002 χ ² = 10,6 p ₃₋₅ =0,007 χ ² = 7,5	

Достоверным отличием женщин с фенотипом хронического воспаления в сравнении с другими оказался преимущественно диффузный тип распределения VDR ($p<0,05$). В группе с диспластическим фенотипом мультифокальный тип экспрессии VDR выявляли значимо чаще, чем при остальных фенотипах – практически в два раза, чем при нарушенном иммунном статусе ($p<0,001$, $\chi^2=27,2$), в четыре – с хроническим воспалением ($p<0,001$, $\chi^2=40,7$), в полтора – с пролиферативным ($p=0,002$, $\chi^2=10,6$), неоднократно – в сравнении с вариантом нормы ($p=0,002$, $\chi^2=10,6$).

Результаты ИГХ исследования характера экспрессии VDR в период «имплантационного окна» в зависимости от рецептивного статуса эндометрия приведены в Таблице 80, Рисунках 57–58.

Таблица 80 – Экспрессия VDR при различных фенотипах эндометрия (%)

Группы/Фенотипы	N	VDR железы	p	VDR строма	p
Нарушенный иммунный статус	26	7,4 (6,5–8,4)	1–2<0,001 1–3=0,009 1–5<0,001	7,1 (6,2–8,2)	1–2<0,001 1–3=0,04 1–4=0,04 1–5<0,001
Диспластический	43	4,2 (3,8–4,7)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001	4,0 (3,5–4,4)	2–3<0,001 2–4<0,001 2–5<0,001
Пролиферативный	35	8,4 (7,7–8,6)	3–4<0,001 3–5<0,001	7,8 (6,9–8,3)	3–4<0,001 3–5<0,001
Хроническое воспаление	30	7,4 (6,8–7,7)	4–5<0,001	6,1 (5,8–6,8)	4–5<0,001
Нормальный эндометрий	22	5,6 (4,9–6,0)		5,2 (4,2–5,8)	
Рецептивный эндометрий в группах всего	15	6,0 (5,2–6,3)		5,2 (4,6–5,6)	

Молекулярный профиль эндометрия женщин с пролиферативным фенотипом в период «имплантационного окна» достоверно отличался от остальных групп повышением экспрессии VDR в эпителиоцитах желез и строме ($p<0,001$).

Количество VDR–позитивных клеток в железистом компартменте эндометрия женщин этой группы было сопоставимо с показателем при фенотипе хронического воспаления, однако с достоверными межгрупповыми различиями – только в стромальном компартменте ($p=0,04$).

При диспластическом фенотипе эндометрия количество клеток, экспрессирующих VDR в обоих компартментах, оказалось значимо меньше, чем в группе сравнения ($p<0,001$) и остальных ($p<0,001$). Экспрессия VDR при фенотипе воспаления была достоверно выше показателя здоровых фертильных женщин ($p<0,001$), причем в эпителиоцитах желез выше, чем в строме эндометрия.

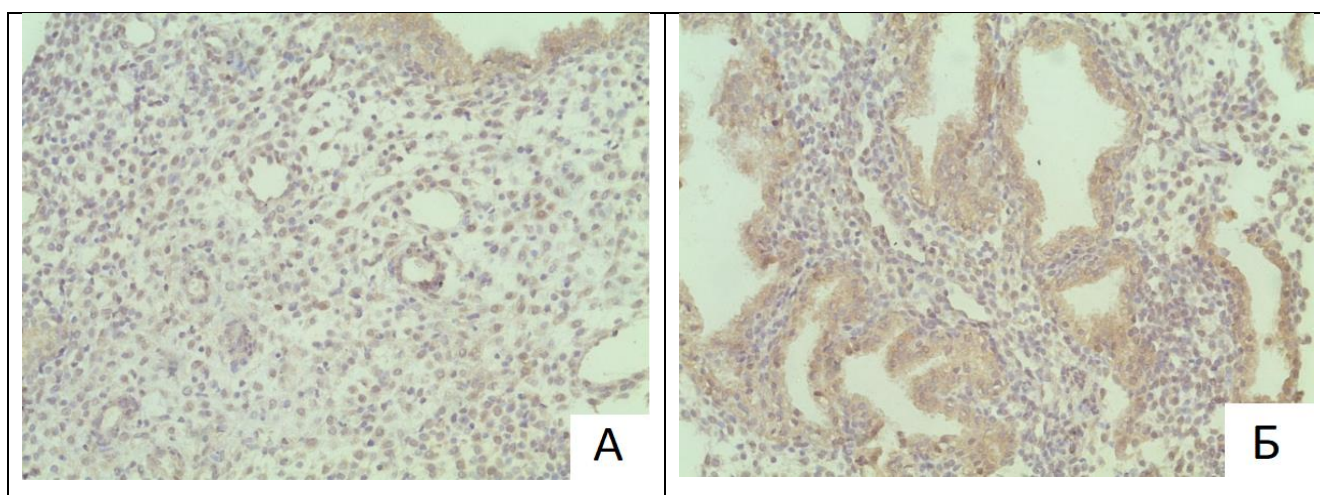


Рисунок 57 – Иммуногистохимическая экспрессия VDR в эндометрии здоровых фертильных женщин: А x200 (железы), Бx200 (строма)

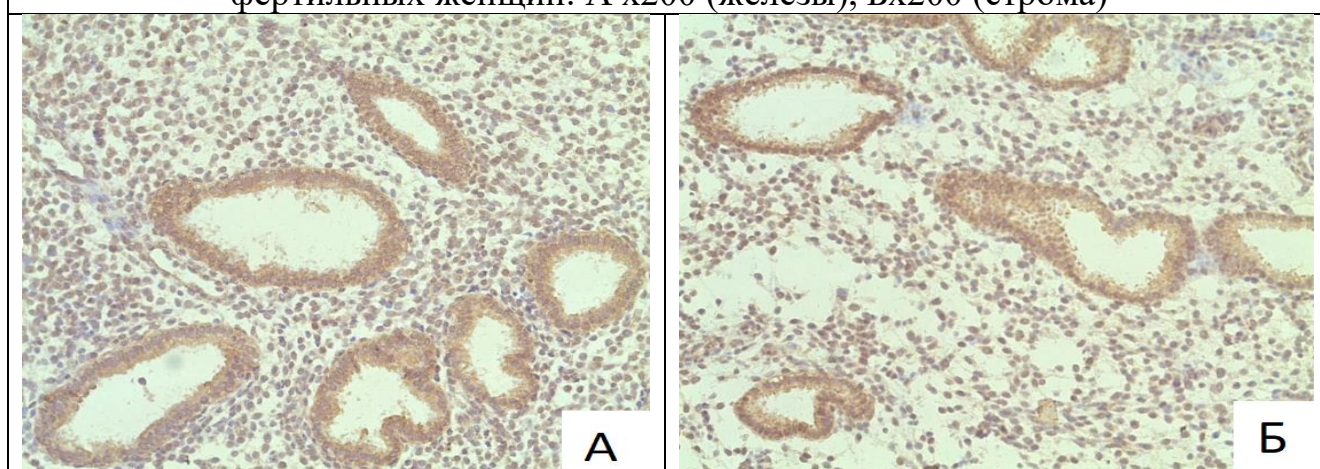


Рисунок 58 – Иммуногистохимическая экспрессия VDR в нерепетивном эндометрии А x200 (железы), Бx200 (строма)

Результаты исследования экспрессии NOXA10 и NOXA11 в строме эндометрия в период «имплантационного окна» с учетом профиля рецептивности приведены в Таблице 81.

При сравнении параметров экспрессии NOXA10 достоверных межгрупповых различий не выявлено.

Таблица 81 – Экспрессия НОХА10 и НОХА11 при различных фенотипах эндометрия (%), Рисунках 59–60.

Группы/Фенотипы	N	НОХА10	НОХА11	p для НОХА11
Нарушенный иммунный статус	26	7,9 (3,8;8,3)	7,9(6,6;9,2)	1–2<0,001 1–4<0,001 1–5<0,001
Диспластический	43	6,8(3,8;8,2)	4,6(3,5;5,5)	2–3<0,001 2–4=0,005 2–6=0,048
Пролиферативный	35	5,8(1,9;8,7)	8,3(6,1;9,1)	3–4<0,001 3–5<0,001 3–6<0,001
Хроническое воспаление	30	7,6(5,5;8,5)	5,7(4,6;7,0)	
Группа сравнения + нормальный фенотип при ТПБ рецептивный	22	7,0(3,6;9,1)	5,2(4,5;5,9)	
Рецептивный эндометрий в группах всего	15	6,4(3,8;8,1)	5,2(4,5;5,8)	

В группах с фенотипом нарушенного иммунного статуса и пролиферативным экспрессия НОХА11 оказалась достоверно выше, чем в группе сравнения ($p<0,001$) и у женщин с нормальным фенотипом при ТПБ ($p<0,001$).

Различий в показателях экспрессии маркера в группе с фенотипом хронического воспаления и нормы не выявлено, при диспластическом – таковой оказался ниже, чем в остальных группах ($p<0,001$) (Рисунок 59–60).

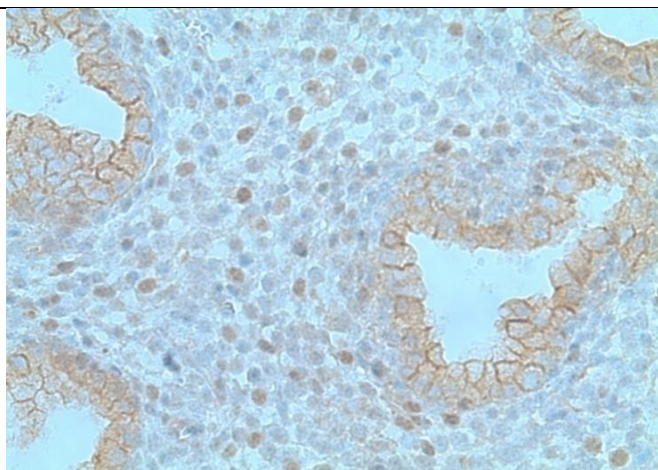


Рисунок 59 –
Иммуногистохимическая
экспрессия NOXA11 в строме
эндометрия при рецептивном профиле.
Ув. х 400

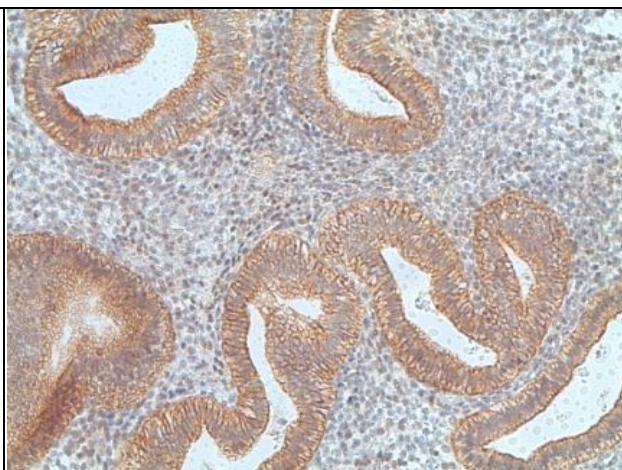


Рисунок 60 –
Иммуногистохимическая
экспрессия NOXA11 в строме
эндометрия при пролиферативном
фенотипе. Ув. х 400

Результаты исследования экспрессии иммунных маркеров CD4+/CD8+ в зависимости от рецептивности профиля эндометрия представлены в Таблице 82.

Таблица 82 – Экспрессия CD4+ и CD8+ при фенотипах эндометрия с маркерами ХЭ (%)

Группы/Фенотипы	N	CD4+	CD8+	p
Диспластический	10	0,78 (0,72–0,9)	0,9 (0,65–1,0)	1–4<0,001
Пролиферативный	10	0,81 (0,68–1,0)	1,0 (0,87–1,2)	1–4<0,001
Хроническое воспаление	30	0,89 (0,73–1,1)	0,97 (0,86–1,3)	1–4<0,001
Рецептивный эндометрий в группах всего	15	1,0 (0,86–1,22)	1,0 (0,77–1,1)	

При исследовании экспрессии CD4+/CD8+ при фенотипах выявлено достоверное возрастание цитотоксических кластеров CD8+ в отличие от группы сравнения.

В Таблице 83 представлен структурно–функциональный «паспорт» фенотипов эндометрия.

Таблица 83 – Структурно–функциональный «паспорт» фенотипов эндометрия

Фенотипы	Морфологический профиль		ER железы stroma	PR железы stroma	VDR железы stroma	HOXA11	Иммунный профиль (ИГХ маркеры)
Пролиферативный	ПЭ, ГЭ	поздняя стадия фазы пролиферации, неполноценная секреторная трансформация стромы с железами пролиферативного типа					GM-CSF _ж ≥ 225 TNF-α _ж ≥ 225
Диспластический	Фибропластическая трансформация стромы неполная патоморфологическая форма ХЭ: очаговая воспалительная инфильтрация стромы, гипопластически–диспластический тип	гипопластически–диспластический тип					TGF-β
Нарушенный иммунный статус	Патологии нет	полноценная секреторная трансформация стромы и желез	N N	 	 N		GM-CSF _{железы} ≤ 190 TNF-α _{железы} ≤ 200 stroma ≤ 195 CXCL16 _{железы} ≤ 195
Хроническое воспаление	полная патоморфологическая форма ХЭ: диффузное распределение лимфоцитов вокруг желез и сосудов, скопление плазмоцитов, гистиоцитов, нейтрофилов, ворсинчатых и микрососочковых разрастаний поверхностного эпителия размером до одного мм	неполноценная секреторная трансформация стромы с диссоциированным развитием желез	 	 	N	N	GM-CSF _{железы} ≥ 250 TNF-α _{stroma} ≥ 250 BCA _{железы} ≥ 215 CXCL16 _{железы} ≥ 257,5 CXCL16 _{stroma} ≥ 255
Нормальный эндометрий	Отсутствие патологических образований	полноценная секреторная трансформация	ER/PR = 2,1		N	N	Th1–регулируемое воспаление

При стратификации особенностей фенотипов эндометрия учитывались данные комплекса исследований [морфологический и молекулярный (ИГХ)] профиль.

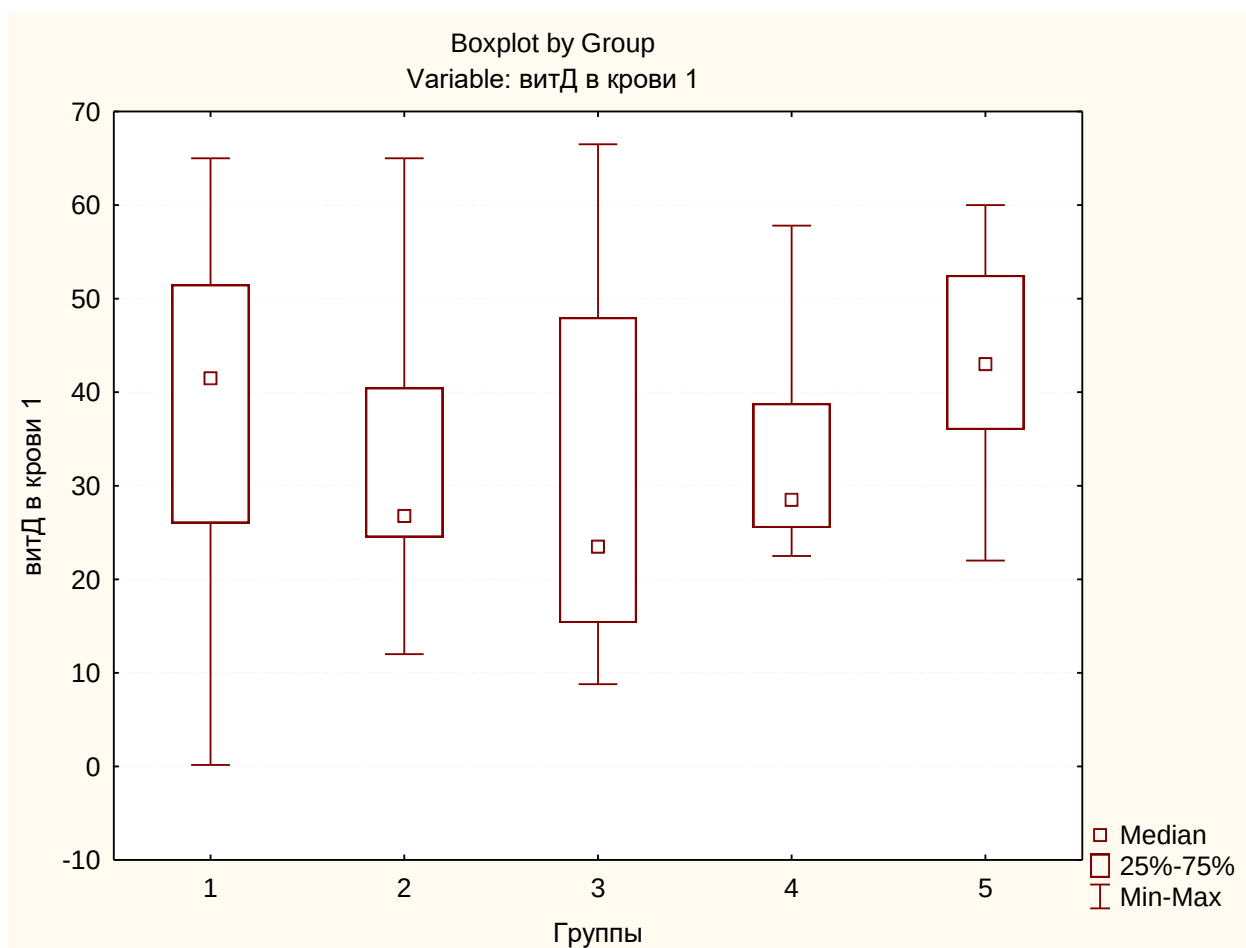
Определены ключевые звенья патогенеза полипоидного эндометрия: возрастание пролиферативного потенциала (гиперэкспрессия ER, VDR железы/строма, HOXA11, Ki-67 и сниженная – PR) с развитием хронического оксидативного стресса:

- ПЭ – гиперэкспрессия GM-CSF ($p < 0,001$) и TNF- α в железистом компартменте ($p < 0,001$);
- ПЭ (13,3%) на фоне хронического воспаления – гиперэкспрессия GM-CSF ($p < 0,001$) и CXCL16 ($p < 0,001$) в железистом компартменте, угнетение экспрессии NRF2 – в стромальном ($p < 0,001$);
- микрополипов на фоне хронического воспаления (50,0%) – гиперэкспрессия GM-CSF в железах ($p < 0,001$), TNF- α в строме ($p < 0,001$), BCA1 (CXCL13), CXCL16 в обоих компартментах ($p < 0,001$); угнетение экспрессии NRF2 в строме ($p < 0,001$).

5.7 Результаты исследований содержания в периферической крови витамина D при фенотипах эндометрия

Данные об уровне 25(OH)D в сыворотке крови женщин с различными фенотипами эндометрия представлены на Рисунке 61.

При оценке диапазона вариабельности сывороточного 25 (OH) D у женщин с фенотипами эндометрия достоверно больший средний показатель был выявлен в группе с нарушенным иммунным статусом [41,5(26;51,5)], практически в полтора раза, чем с диспластическим [26,8(24,5;40,5)] ($p = 0,04$) и пролиферативным [23,5(15,3;48,0)] ($p = 0,03$).



Примечание – фенотипы: 1 – нарушенный иммунный статус, 2 – диспластический, 3 – пролиферативный, 4 – хроническое воспаление, 5 – нормальный эндометрий

Рисунок 61 – Содержание витамина D в периферической крови женщин с фенотипами эндометрия (нг/мл)

Достоверные отличия значений параметра от группы сравнения [43(36;52,5)] отмечены при диспластическом фенотипе ($p=0,005$), пролиферативном ($p=0,009$) и фенотипе хронического воспаления [28,5(25,5;38,8)] ($p=0,02$).

Результаты исследования содержания витамина D в сыворотке крови при вариантах эхографических характеристик и фенотипах эндометрия в период «окна имплантации» представлены в Таблице 84.

Таблица 84 – Сонографические особенности эндометрия в зависимости от содержания 25(OH)D (нг/мл)

Группы/Фенотипы		N	М-эхо эндометрия					
			несоответствие			соответствие фазе МЦ		
			Витамин Д норма	Недостаток	Дефицит	Витамин Д норма	Недостаток	Дефицит
Пролиферативный	абс.	40	0	0	0	11 ⁵	13 ³	16
	%		0,0	0,0	0,0	27,5	32,5	40,0
Диспластический	абс.	47	4	34 ⁴	9	0	0	0
	%		8,5	72,3	19,1	0,0	0,0	0,0
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	0	0	4	4 ⁵	24 ⁵	0
	%		0,0	0,0	12,5	12,5	75,0	0,0
Хроническое воспаление	абс.	30	0	10	0	4 ⁵	16 ⁵	0
	%		0,0	33,3	0,0	13,3	53,3	0,0
Нормальный эндометрий	абс.	22	0	0	0	17	5	0
	%		0,0	0,0	0,0	77,3	22,7	0,0
			p>0,05	p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 11,4	p>0,05	p ₁₋₅ <0,001 χ ² = 14,2 p ₃₋₅ =0,004 χ ² =8,3 p ₄₋₅ =0,00 χ ² =21,5	p ₁₋₃ =0,02 χ ² = 6,4 p ₁₋₄ =0,01 χ ² = 6,4 p ₄₋₅ =0,04 χ ² = 4,9	p>0,05

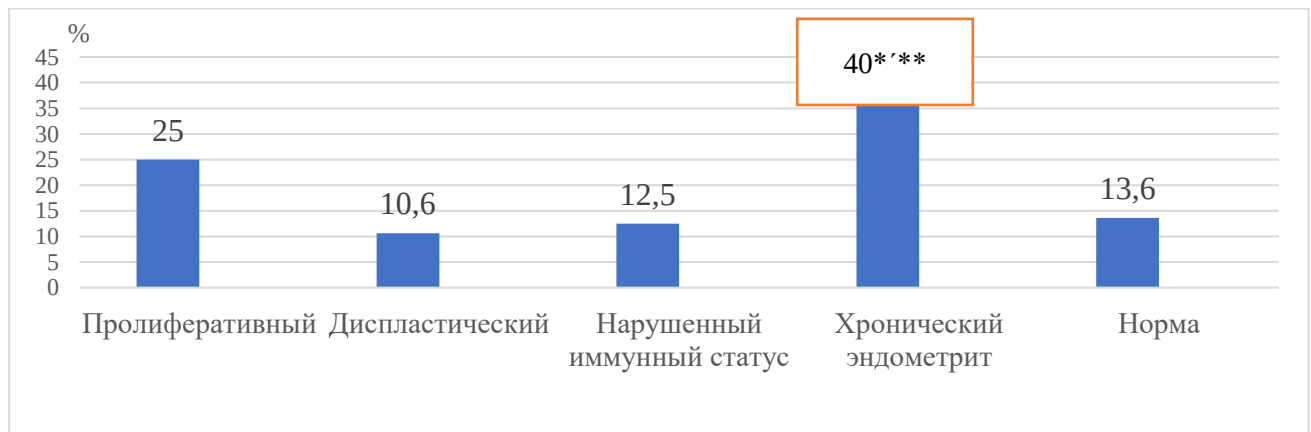
Женщин с толщиной и эхогенностью эндометрия, не соответствующими фазе МЦ, отличало преобладание недостатка и дефицита витамина D в сыворотке крови. Недостаток витамина D при несоответствии параметров эндометрия фазе МЦ достоверно чаще имели женщины с диспластическим фенотипом – практически в два раза, чем с хроническим воспалением ($p<0,001$; $\chi^2=11,4$).

В выборке с соответствием эхо-характеристик эндометрия фазе МЦ адекватный нормативным значениям уровень витамина D достоверно чаще определен у женщин с фенотипом «нормы» – в три раза, чем с пролиферативным ($p<0,001$, $\chi^2=14,2$), практически в шесть – с нарушенным иммунным статусом и хроническим воспалением ($p<0,05$). Нормальные эхо-параметры эндометрия при недостатке витамина D выявлены у большинства женщин с фенотипом

нарушенного иммунного статуса, половины – с хроническим воспалением, трети – с пролиферативным фенотипом ($p<0,05$), 22,5% – в группе сравнения.

5.8 Нарушения вагинального, цервикального и микробиоценоза матки при молекулярно-адаптационных фенотипах эндометрия

Данные о нарушениях вагинального биотопа при фенотипах эндометрия представлены на Рисунке 62.



Примечание — различия статистически значимы ($p<0,05$): * – от группы с диспластическим фенотипом, ** – с нарушенным иммунным статусом

Рисунок 62 – Нарушения микробиоты влагалища при фенотипах эндометрия суммарно

Женщин с фенотипом хронического воспаления отличала достоверно большая частота нарушений микробиоты влагалища, в 3,5 раза в сравнении с диспластическим фенотипом ($p=0,04$, $\chi^2=9,2$) и нарушенным иммунным статусом ($p=0,02$, $\chi^2=6,1$).

Результаты анализа влияния на характеристики вагинальной микробиоты женщин с фенотипами эндометрия анамнестических факторов (эпизодов контаминации эндоцервикса и вмешательств на шейке матки) представлены в Таблице 85.

Таблица 85 – Характеристики биотопа влагалища при фенотипах эндометрия в зависимости от анамнестических факторов

Группы/Фенотипы			N	Инфекции, передаваемые половым путем	Условно–патогенные штаммы в высоких диагностических титрах	ВПЧ высокого онкогенного риска	Вмешательства на шейке в анамнезе
Пролиферативный	Нарушение микробиоты	абс.	10	7 ²	6	10 ²	6
		%		70,0	60,0	100,0	60,0
	Нормоценоз	абс.	30	7	10	14	18
		%		23,3	33,3	46,7	60,0
Диспластический	Нарушение микробиоты	абс.	5	3 ⁴	3	1	3
		%		60,0	60,0	20,0	60,0
	Нормоценоз	абс.	42	3	7	3	5
		%		7,1	16,7	7,1	11,9
Нарушенный иммунный статус	Нарушение микробиоты	абс.	4	3	2	1	1
		%		75,0	50,0	25,0	25,0
	Нормоценоз	абс.	28	7	8	3	9
		%		25,0	28,6	10,7	32,1
Хроническое воспаление	Нарушение микробиоты	абс.	12	9	10	9 ⁸	7 ⁸
		%		75,0	83,3	75,0	58,3
	Нормоценоз	абс.	18	10	14	5	2
		%		55,6	77,8	27,8	11,1
Нормальный эндометрий	Нарушение микробиоты	абс.	3	0	2 ¹⁰	1	1
		%		0,0	66,7	33,3	33,3
	Нормоценоз	абс.	19	0	1	2	3
		%		0,0	5,3	10,5	15,8
				p _{1–2} =0,02 χ ₂ = 7,2 p _{3–4} =0,01 χ ₂ = 11,2	p _{9–10} =0,04 χ ₂ = 8,3	p _{7–8} =0,02 χ ₂ =6,4	p _{7–8} =0,01 χ ₂ = 7,6

При сравнительном исследовании частота контаминации отделяемого цервикального канала оказалась достоверно выше после перенесенных ИППП.

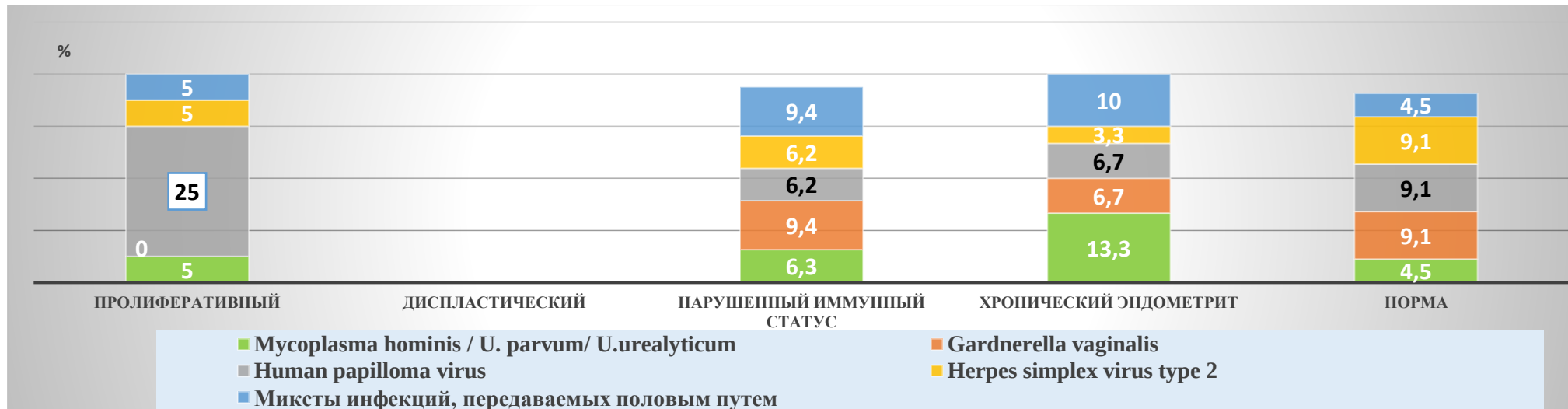
У женщин с пролиферативным фенотипом нарушения вагинальной микробиоты определяли значимо чаще – в три раза ($p=0,02$, $\chi^2=7,2$), персистенцию ВПЧ ВР – в 100,0%, а при диспластическом фенотипе многократно реже констатировали нормоценоз влагалища ($p=0,01$, $\chi^2=11,2$).

При фенотипе с нарушенным иммунным статусом не было установлено взаимосвязи характеристик биотопа влагалища и эндоцервикса, вмешательств на шейке матки.

В группе женщин с фенотипом хронического воспаления нарушение микробиоты влагалища отмечали достоверно чаще при эпизодах инфицирования ВПЧ ВР в анамнезе – в три раза ($p=0,02$, $\chi^2=6,4$) и вмешательствах на шейке матки – в пять раз ($p=0,01$, $\chi^2=7,6$). Обусловленность изменений вагинальной микробиоты эпизодами предшествующей контаминации условно–патогенной флорой в значимых диагностических титрах ($>10^4$) и хирургическим лечением шейки матки представлена и при фенотипе нормального эндометрия, причем различия показателей с аналогичными при нормоценозе были многократными ($p=0,04$, $\chi^2=8,3$). При других фенотипах эндометрия частота инфицирования биотопа эндоцервикса достоверно не отличалась, несмотря на меньшую встречаемость нормоценоза влагалища на момент включения в исследование.

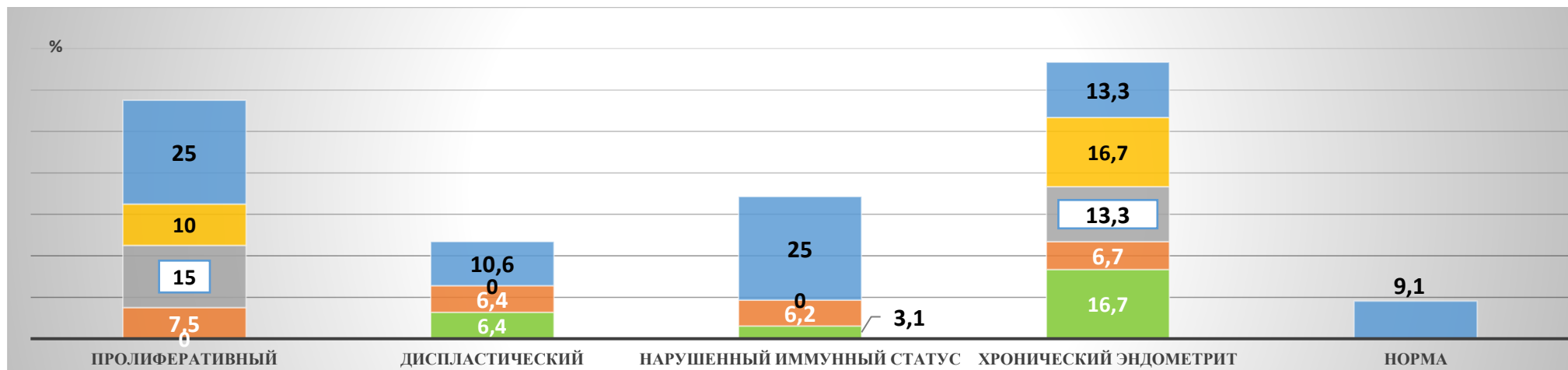
Варианты контаминации отделяемого цервикального канала (по результатам ПЦР–диагностики на ИППП и бактериологического исследования на флору и чувствительность к антибиотикам) при фенотипах эндометрия представлены ниже (Рисунок 63–64).

Достоверных различий в частоте выявленных возбудителей ИППП и их сочетания с условно–патогенными штаммами в высоких диагностических титрах ($>10^4$) в группах не было. Примечателен факт снижения инфицирования ВПЧ ВР в сравнении с таковым в анамнезе, вероятно, после радиоволнового лечения заболеваний шейки матки и противовирусной терапии. Среди представителей микрофлоры в образцах исследования отделяемого цервикального канала практически с сопоставимой частотой определяли *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella* spp. в титре 10^5 – 10^7 . В группе с диспластическом фенотипом выявляли только микробные миксты, при пролиферативном и фенотипе хронического воспаления сочетание ИППП и условно–патогенных штаммов встречалось чаще моноинфектов/монокультур.



Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 63 – Инфекции, передаваемые половым путем, при фенотипах эндометрия



Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 64 – Миксты инфекций, передаваемых половым путем, с условно-патогенными штаммами в значимых диагностических титрах

В группе с нормальным фенотипом эндометрия случаи инфицирования *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma parvum*/*Mycoplasma hominis*/*Ureaplasma urealyticum*, ВПЧ ВР были единичны.

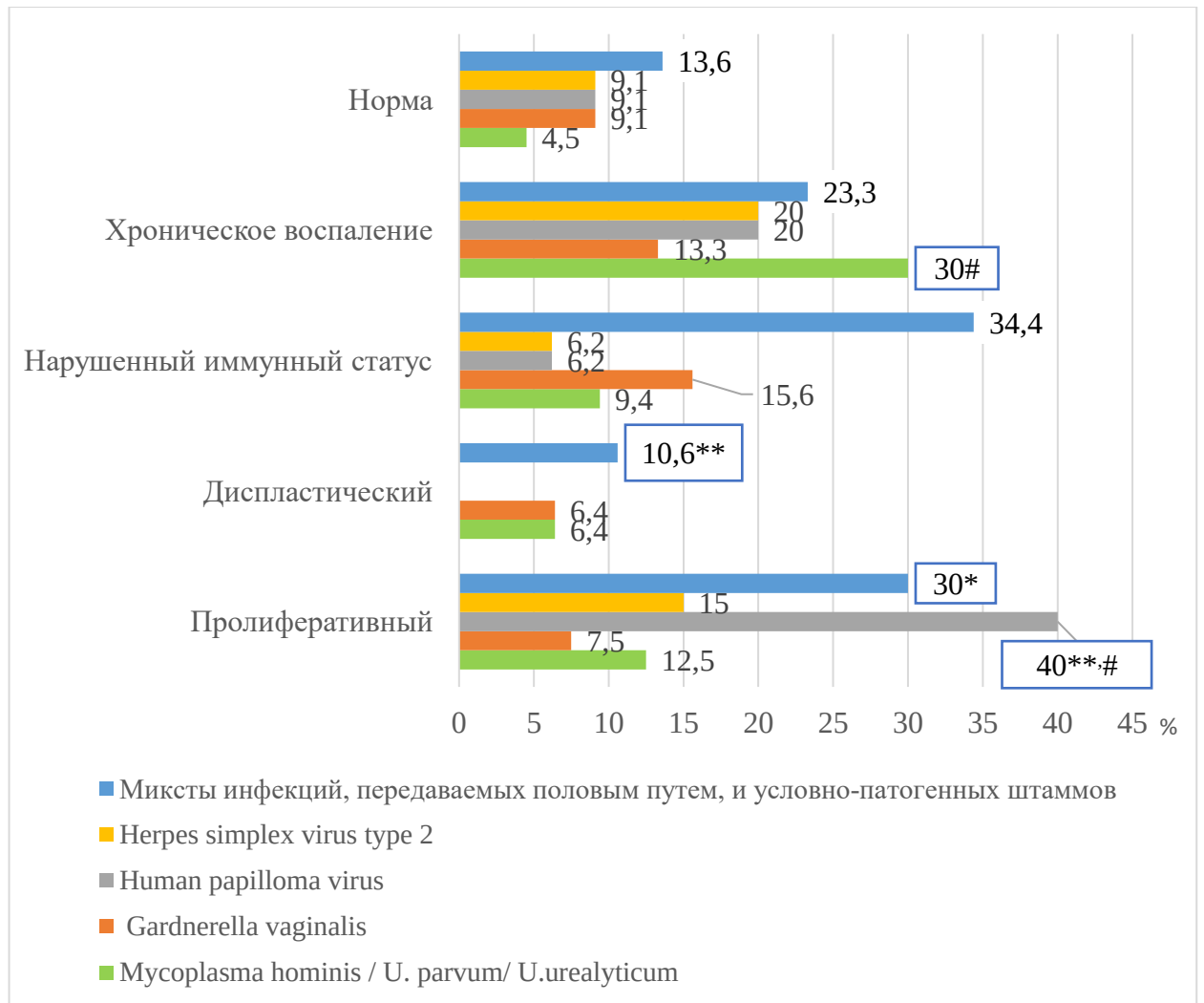
Ассоциации ИППП с условно–патогенными штаммами в значимых диагностических титрах при секреторном фенотипе определяли у двух женщин.

В группе с пролиферативным фенотипом изолированную персистенцию ВПЧ ВР выявляли у четверти женщин, в микстах – в 1,7 раза реже, при фенотипе хронического воспаления отмечена обратная тенденция (6,7% против 13,3%).

На Рисунке 65 представлены данные о всех эпизодах инфицирования цервикального отделяемого по результатам ПЦР–диагностики и бактериологического исследования на флору и чувствительность к антибиотикам.

При фенотипе хронического воспаления частота инфицирования *Ureaplasma urealyticum*/*parvum*/*Mycoplasma hominis* была достоверно выше, чем с диспластическим фенотипом и вариантом нормального эндометрия – в 5,5 раз ($p < 0,05$). Межгрупповых различий в частоте инфицирования *Gardnerella vaginalis* и HSV1,2 не выявлено.

Женщин с пролиферативным фенотипом отличала достоверно большая частота ВПЧ ВР в сравнении с нарушенным иммунным статусом и вариантом «нормы» – практически в пять раз ($p < 0,05$).



Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): * – от группы с диспластическим фенотипом, ** – фенотипом нарушенного иммунного статуса, ∞ – хронического воспаления, # – нормального эндометрия

Для рисунка статистически значимые отличия:

I: p1–2 (пролиферативный тип vs диспластический) ($p = 0,03$, $\chi^2 = 5,1$)

p1–3 (пролиферативный тип vs нарушенный иммунный статус) ($p = 0,02$, $\chi^2 = 6,6$)

III: p1–3 (пролиферативный тип vs нарушенный иммунный статус) ($p < 0,001$, $\chi^2 = 10,8$)

p1–5 (пролиферативный тип vs норма) ($p = 0,02$, $\chi^2 = 6,6$)

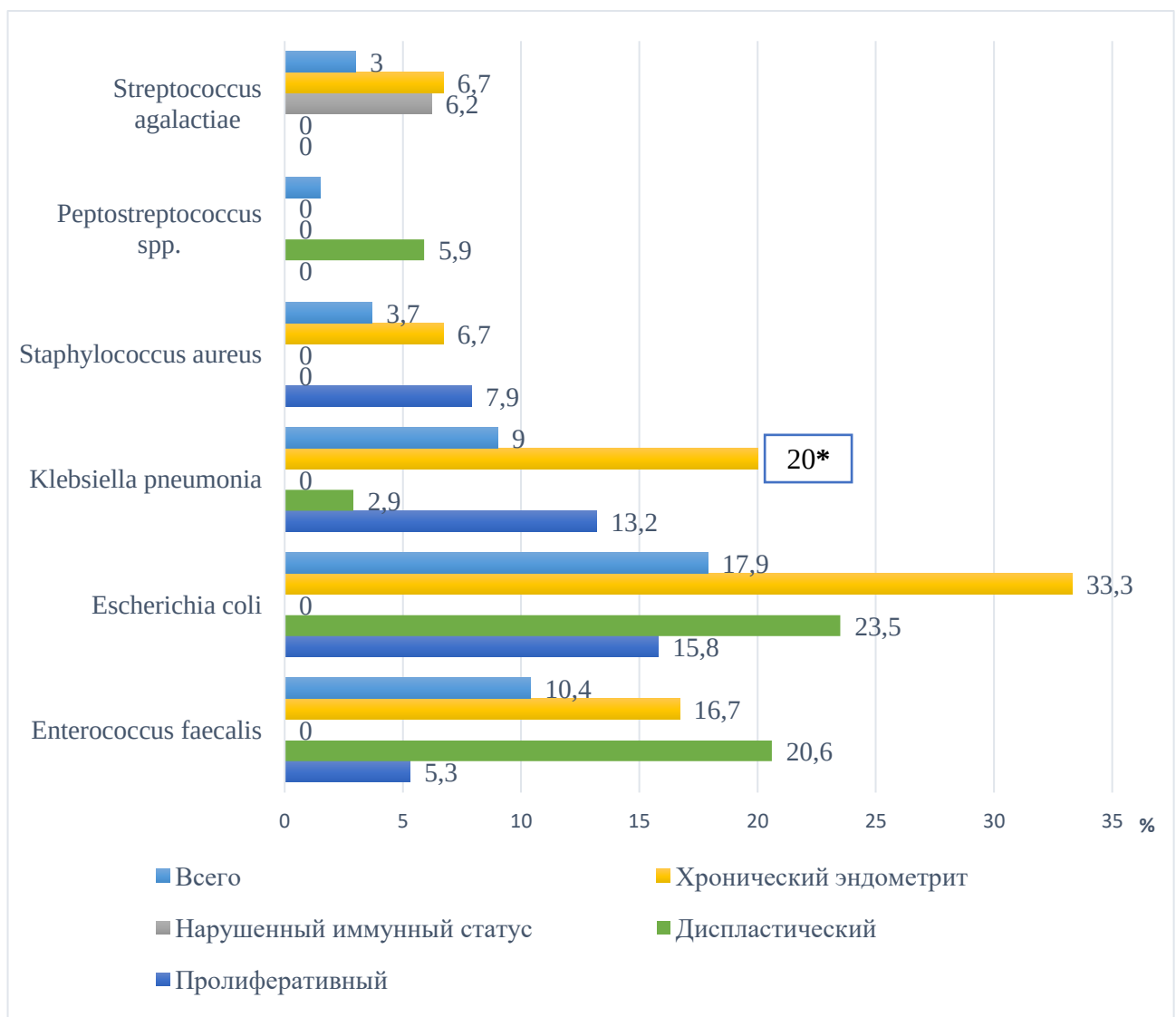
IV: p2–4 (диспластический тип vs фенотипа хронического воспаления) ($p = 0,008$, $\chi^2 = 7,8$)

p4–5 (нарушенный иммунный статус vs норма) ($p = 0,03$, $\chi^2 = 5,3$)

Рисунок 65 – Сумма эпизодов инфицирования отделяемого цервикального канала при фенотипах эндометрия

В группах с пролиферативным фенотипом и нарушенным иммунным статусом значительно чаще, чем с диспластическим фенотипом выявляли миксты ИППП – в три раза ($p < 0,05$).

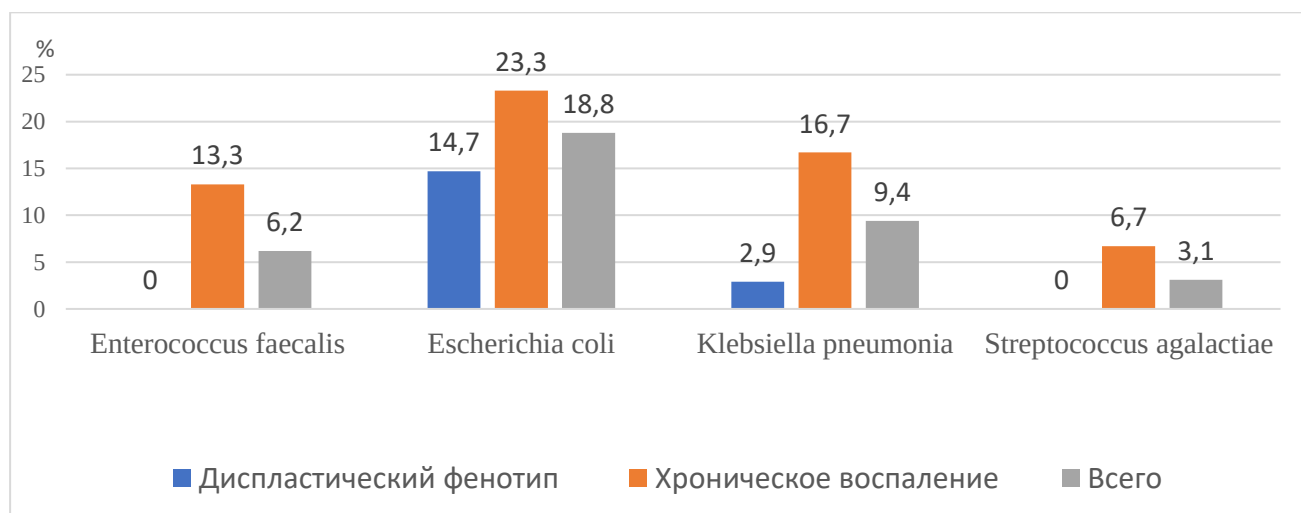
Данные о результатах бактериологического исследования образцов эндометрия при различных фенотипах показали сопоставимо высокую частоту в группах *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli* (Рисунок 66).



Примечание – различия статистически значимы: * – от фенотипа хронического воспаления ($p = 0,04$, $\chi^2 = 7,8$)

Рисунок 66 – Микробный состав эндометрия по результатам бактериологического исследования на флору суммарно (титр штаммов 10^3 – 10^6) при фенотипах

На Рисунке 67 представлены данные об эпизодах инфицирования эндометрия микроорганизмами в высоких титрах ($>10^4$) при диспластическом и фенотипе хронического воспаления.



Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p>0,05$)

Рисунок 67 – Контаминация эндометрия при диспластическом и фенотипе хронического воспаления (данные бактериологического исследования)

Преобладание среди микробных агентов *E. coli* не приводило к достоверным меж- и внутригрупповым отличиям. Обращает внимание наличие контаминированных образцов эндометрия у 6 женщин с диспластическим фенотипом (17,6%).

5.8.1 Состав микробиоты эндометрия при фенотипах

Результаты исследования микробиоты эндометрия методом ПЦР–РВ (Фемофлор–16) представлены в Таблице 86.

При фенотипе нормального эндометрия лактобациллярный тип микробиоты был определен во всех исследованных образцах; с нарушенным иммунным статусом достоверно чаще, чем фенотипе хронического воспаления – в 2,2 раза ($p<0,001$, $\chi^2=12,7$) и в полтора – диспластическом ($p=0,015$, $\chi^2=5,9$). Доминантный пул лактобацилл в микробиоте эндометрия женщин с пролиферативным фенотипом выявляли практически вдвое чаще, чем при воспалении ($p=0,01$, $\chi^2=6,8$).

Достоверным отличием женщин с фенотипом хронического воспаления оказался нелактобациллярный тип микробиоты, который отмечали в два раза чаще, чем с пролиферативным ($p=0,01$, $\chi^2=6,8$), в 3,4 раза – нарушенным иммунным статусом ($p<0,001$, $\chi^2=12,7$).

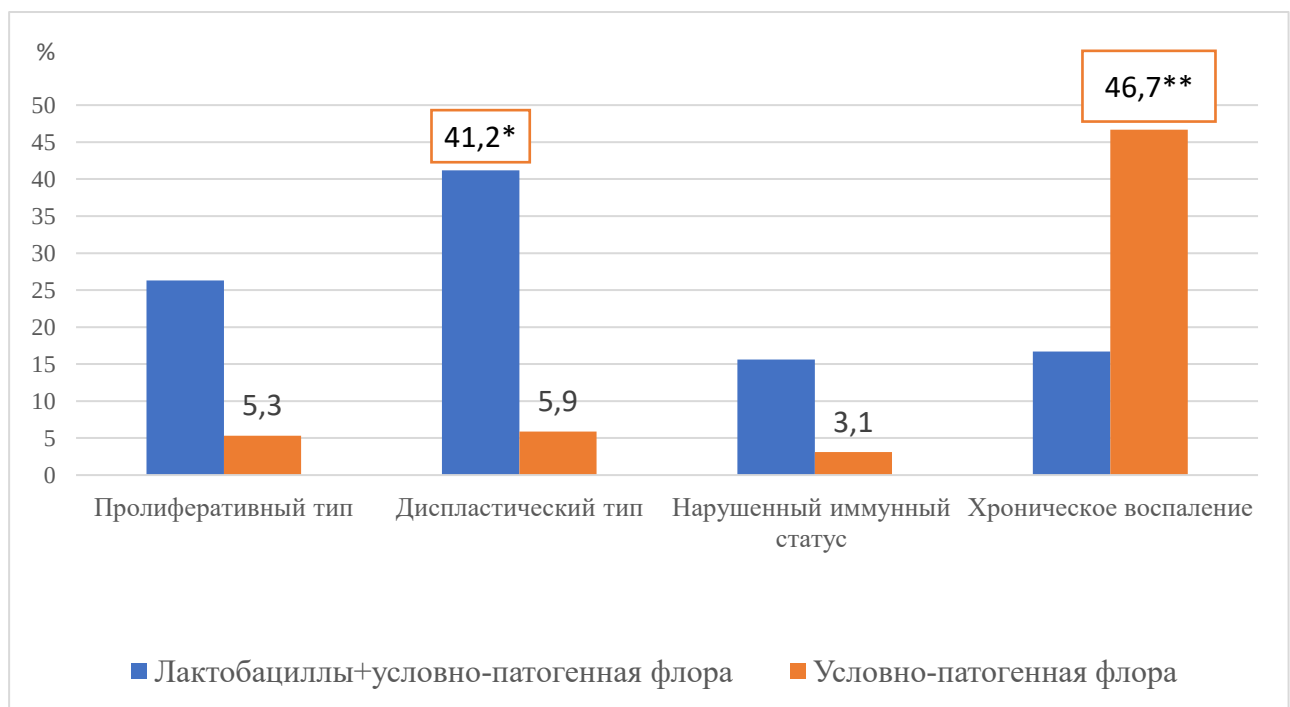
Таблица 86 – Характеристики микробиоты эндометрия (расчет на 144 образца)

Группы/Фенотипы		N	Лактобациллы	Нелактобациллярный тип	Нелактобациллярный тип		Соотношение лактобацилл/ нелактобациллярной флоры
					Лактобациллы+ условно-патогенная флора	Условно-патогенная флора	
Пролиферативный	абс.	38	26 ⁴	12 ⁴	10	2 ⁴	2,2
	%		68,4	31,6	26,3	5,3	
Диспластический	абс.	34	18 ³	16 ³	14 ³	2 ⁴	1,1
	%		52,9	47,1	41,2	5,9	
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	26 ⁴	6 ⁴	5	1 ⁴	4,3
	%		81,2	18,8	15,6	3,1	
Хроническое воспаление	абс.	30	11	19	5	14	0,6
	%		36,7	63,3	16,7	46,7	
Нормальный эндометрий	абс.	10	10	0	0	0	1:0
	%		100,0	0,0	0,0	0,0	
			p ₁₋₄ =0,01 χ ² = 6,8 p ₂₋₃ =0,015 χ ² = 5,9 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 12,7	p ₁₋₄ =0,01 χ ² = 6,8 p ₂₋₃ =0,015 χ ² = 5,9 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 12,7	p ₂₋₃ =0,022 χ ² = 5,2	p ₁₋₄ <0,001 χ ² = 15,9 p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 14,1 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 16,0	p>0,05

В группе с диспластическим фенотипом нелактобациллярный тип имели практически половина женщин, что в 2,5 раза чаще, чем с нарушенным иммунным статусом ($p=0,015$, $\chi^2=5,9$). Доминанту лактобациллярного типа над нелактобациллярным (снижение удельного веса лактобактерий на фоне умеренного роста условно-патогенной флоры) в группе с нарушенным иммунным статусом подтверждал индекс 4,3. Наименьший индекс соотношения типов

микробиоты эндометрия отличал женщин с фенотипом хронического воспаления (0,6).

Распределение вариантов нелактобациллярного типа микробиоты эндометрия (смешанный профиль – снижение удельного веса лактобактерий при умеренном титре условно–патогенных штаммов; дисбиотический – исключительно условно–патогенная флора) при различных фенотипах представлены на Рисунке 68.



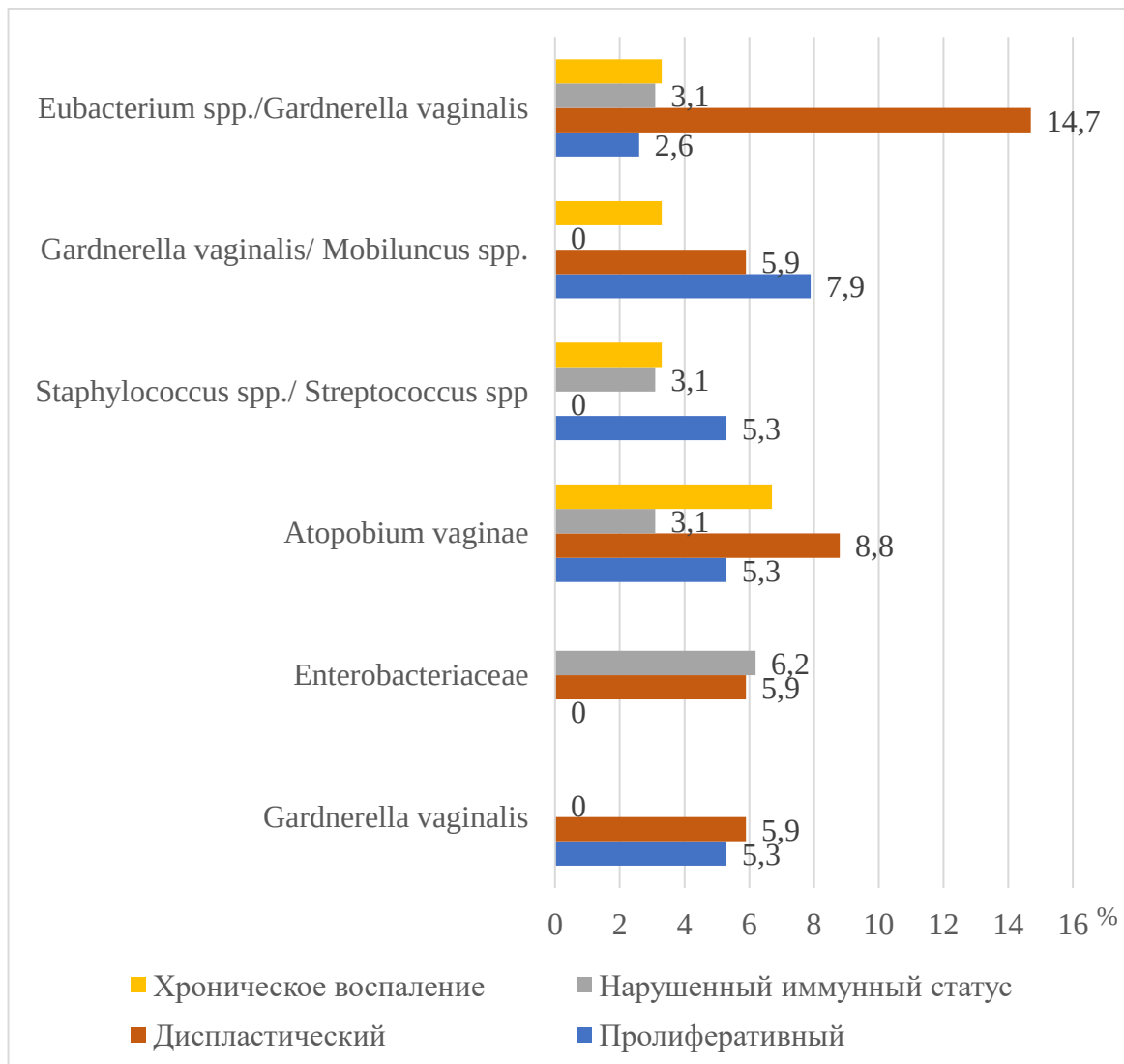
Примечание – различия статистически значимы ($p < 0,05$): * – между диспластическим фенотипом и нарушенным иммунным статусом, ** – хронического воспаления от всех групп

Рисунок 68 – Варианты нелактобациллярного типа микробиоты при фенотипах эндометрия

Достоверное преобладание низкого удельного веса лактобактерий при умеренном титре условно–патогенных штаммов выявлено при диспластическом фенотипе – в 2,6 раза, чем с нарушенным иммунным статусом ($p = 0,02$, $\chi^2 = 5,2$).

В микробиоте эндометрия женщин с фенотипом хронического воспаления значимо преобладали представители условно–патогенной флоры, многократно чаще, чем в остальных группах (4,8%) ($p < 0,05$).

Спектр микроорганизмов, составляющих основу нелактобациллярного типа микробиоты эндометрия, представлен на Рисунке 69.

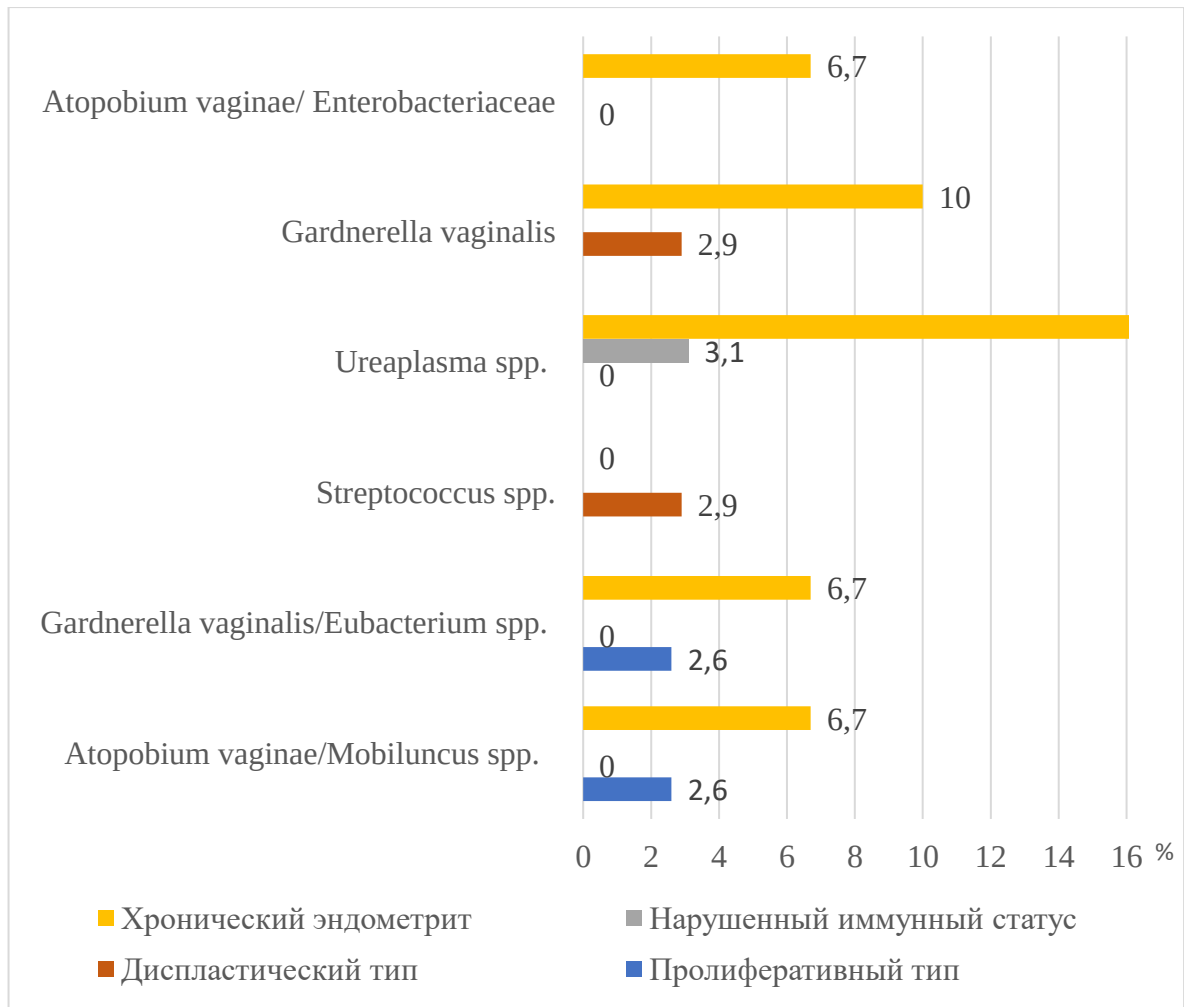


Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 69 – Условно–патогенные микроорганизмы в низкой концентрации на фоне снижения титра лактобацилл при фенотипах эндометрия (смешанный профиль микробиоты)

Варианты условно–патогенных штаммов в низкой концентрации при фенотипах эндометрия встречались с сопоставимой частотой.

Титр лактобактерий на фоне монокультур и микробных микстов был снижен (от 10^4 до 10^5 ГЭ/мл). Основу нелактобациллярного типа микробиоты эндометрия составляли инфекции, ассоциированные с БВ (Рисунок 70).

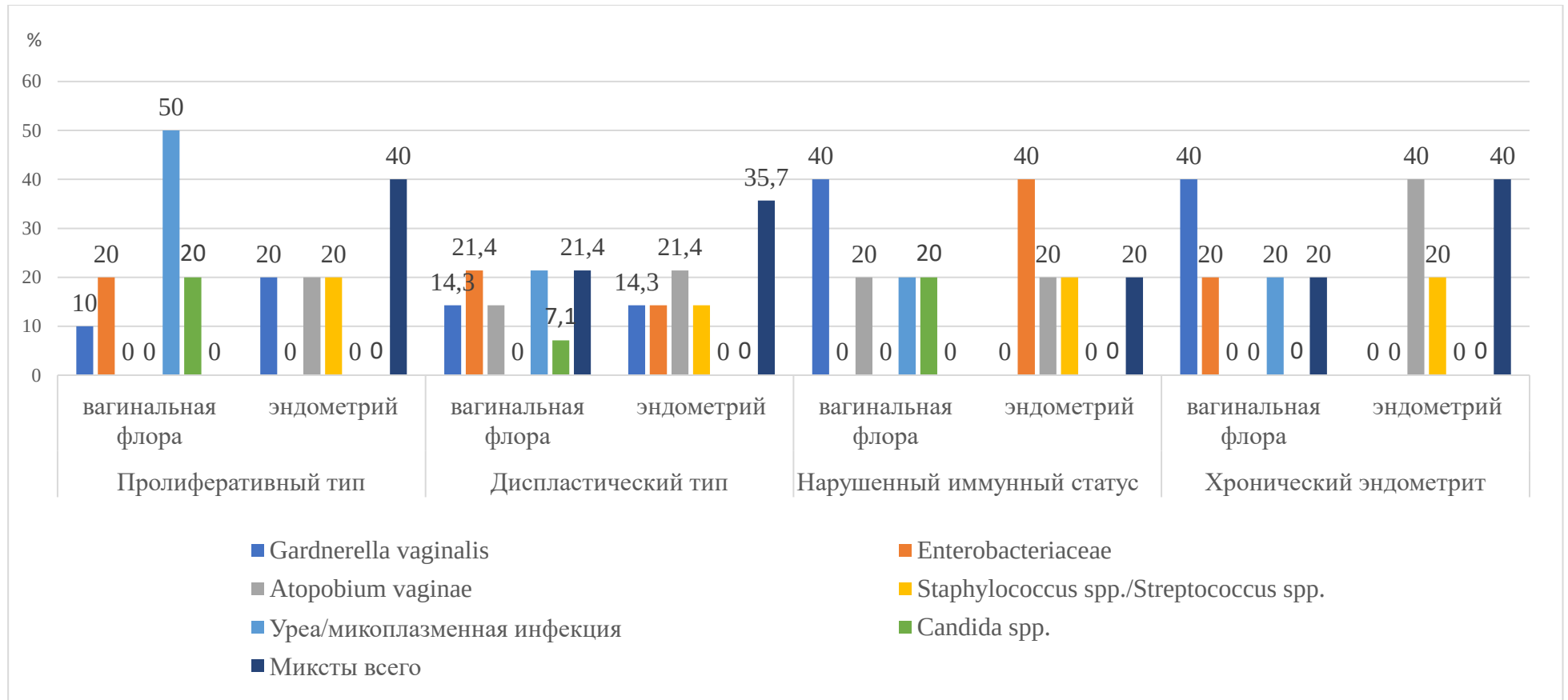


Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 70 – Условно–патогенные микроорганизмы в значимых титрах в эндометрии (дисбиотический тип микробиоты)

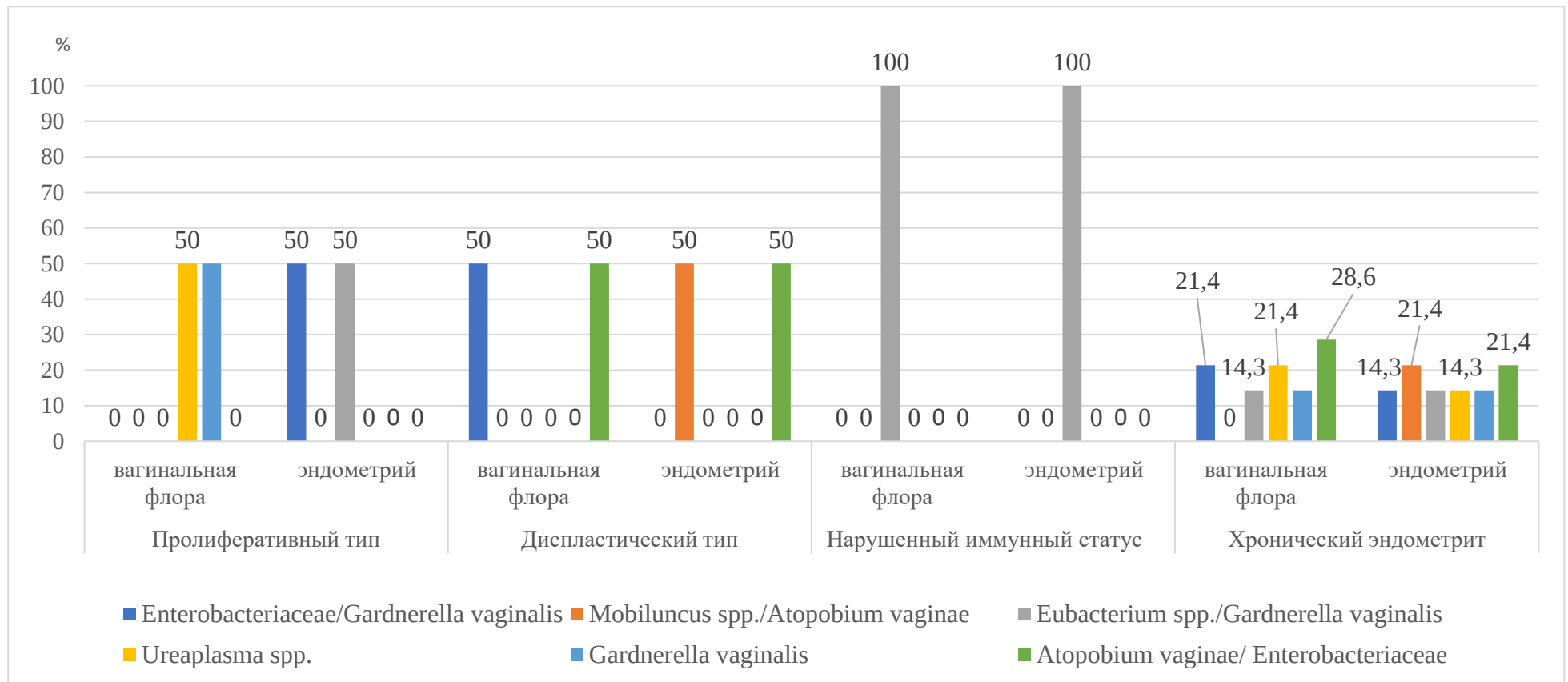
Концентрация выявленных инфектов варьировала в диапазоне от 10^6 до 10^8 ГЭ/мл, без достоверных межгрупповых различий.

Результаты сравнительного анализа микробиоты влагалища и нелактобациллярного типа эндометрия (смешанного и дисбиотического профиля) представлены на Рисунках 71–72.



Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 71 – Структура микробиоты влагалища и эндометрия при смешанном профиле (по результатам ПЦР–РВ – наличие условно–патогенной флоры на фоне снижения титра лактобацилл)



Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 72 – Структура микробиоты влагалища и эндометрия при дисбиотическом профиле (по результатам ПЦР–РВ – наличие только условно–патогенной флоры)

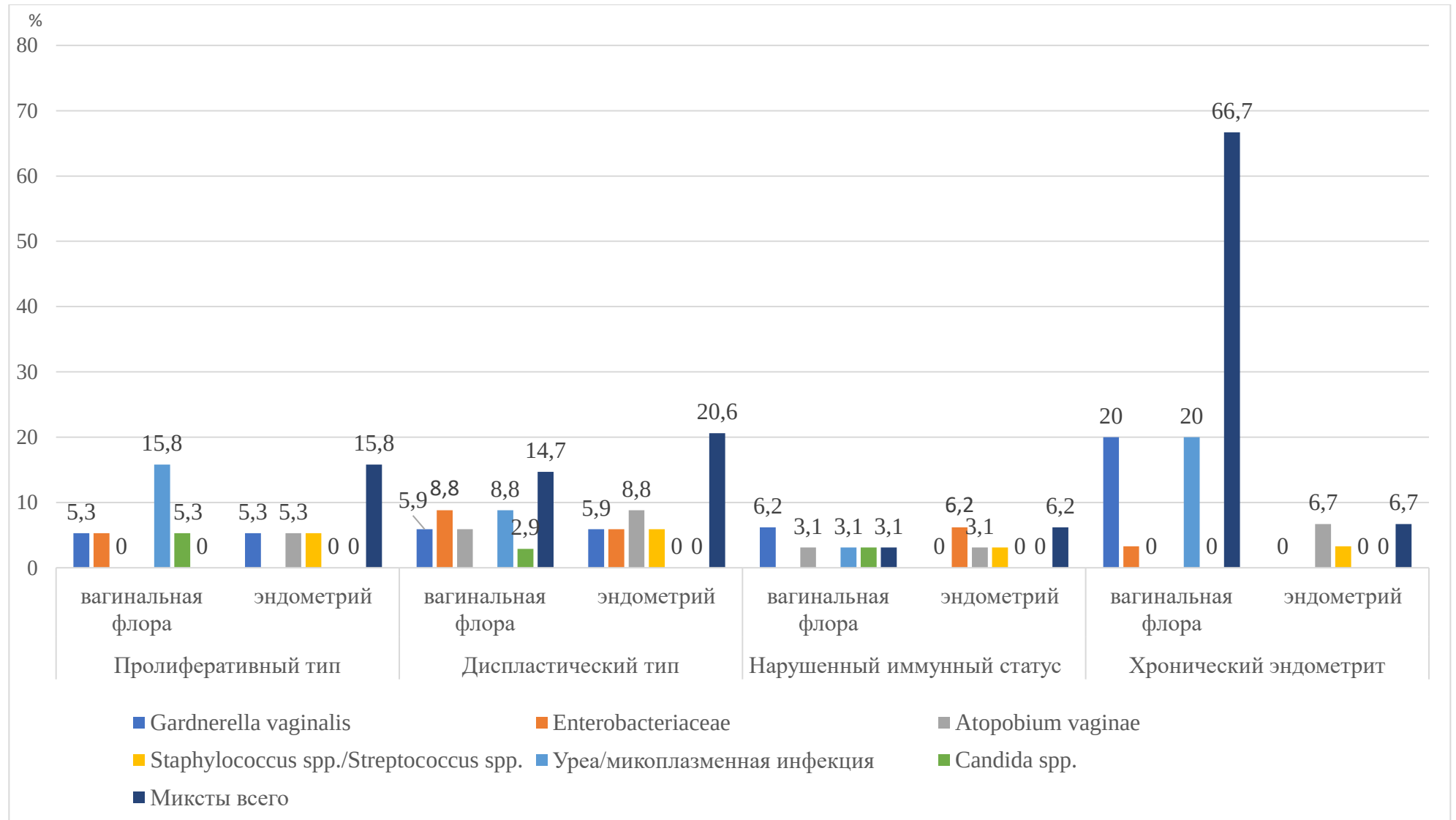
В группах с фенотипом нарушенного иммунного статуса, хронического воспаления и пролиферативным у женщин со смешанным типом микробиоты отмечено отсутствие конкордантности микроорганизмов биотопов влагалища и эндометрия.

Совпадения состава и количества выделяемых в титре 10^4 – 10^5 ГЭ/мл в биотопах генитального тракта микроорганизмов при дисбиотическом профиле с диспластическим фенотипом (*Atopobium vaginae*) и нарушенного иммунного статуса (*Eubacterium* spp./*Gardnerella vaginalis*) были единичны, с фенотипом хронического воспаления – определено наибольшее количество совпадений.

Детализация видового разнообразия биотопов генитального тракта женщин с нелактобациллярным типом микробиоты эндометрия (Рисунок 73) показала преимущественную сопоставимость состава и количества микроорганизмов только при диспластическом фенотипе.

Частота совпадений в биотопе влагалища и эндометрия в этой группе микроорганизмов *Enterobacteriaceae* spp., *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* была наибольшей в сравнении с остальными.

Дискордантность характеристик исследованной микробиоты при фенотипе нарушенного иммунного статуса, хронического воспаления и пролиферативном позволяет отрицать вероятность контаминации эндометрия при заборе биоматериала из нижних отделов генитального тракта.

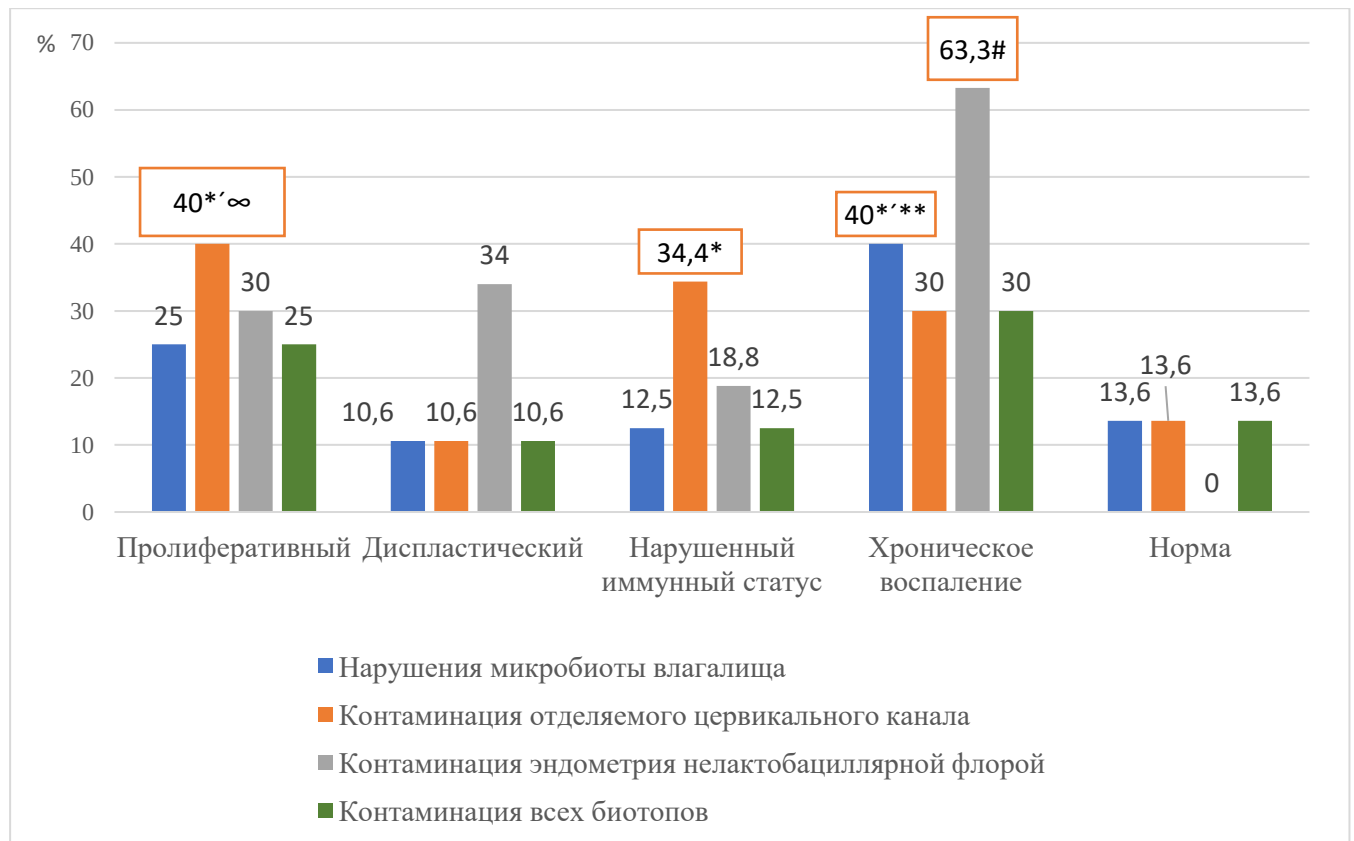


Примечание – статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 73 – Выделенные представители биоценоза влагалища и эндометрия по результатам ПЦР–РВ при нелактобациллярном типе микробиоты (сумма вариантов смешанного и дисбиотического профиля)

В группе с хроническим воспалением во влагалище достоверно чаще, чем при остальных фенотипах ($p<0,05$) и в микробиоте эндометрия выявляли микст-инфекции ($p<0,05$).

Результаты контаминации биотопов генитального тракта при фенотипах эндометрия представлены на Рисунке 74.



Примечание – различия статистически значимы от групп ($p<0,05$): * – с диспластическим фенотипом, ** – с нарушенным иммунным статусом, # – от всех, ∞ – с фенотипом нормального эндометрия

Рисунок 74 – Контаминация биотопов генитального тракта при фенотипах эндометрия

В группе с пролиферативным фенотипом достоверно преобладали нарушения биотопа вагинального ($p<0,05$), цервикального канала – в 3,3 раза чаще, чем при диспластическом фенотипе ($p=0,002$; $\chi^2=10,2$) и нормальном ($p=0,04$; $\chi^2=4,6$).

Женщин с фенотипом хронического воспаления отличала значимо большая, чем в остальных группах частота нелактобациллярного типа микробиоты эндометрия ($p < 0,05$) и инфицирования других отделов (40,0% – влагалища, 30,0% – содержимого цервикального канала). Более высокий показатель контаминации эндометрия выявлен и при диспластическом фенотипе (34,0% против 10,6% в нижележащих отделах генитального тракта).

В группе с пролиферативным фенотипом микробный концентрат преобладал в содержимом эндоцервикса (40,0%), диспластическим – оказался меньше (34,4%). Частота сочетанной контаминации биотопов репродуктивного тракта в группах была сопоставима (18,3%).

5.8.2 Сравнительный анализ иммуногистохимических характеристик эндометрия, типа микробиоты и перенесенных половых инфекций

В серии Таблиц 87–89 выведены результаты анализа возможного влияния перенесенных ИППП, доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки при персистенции ВПЧ ВР, типа микробиоты эндометрия на рецепторный профиль фенотипов (экспрессию рецепторов стероидных гормонов и VDR в период «имплантационного окна»).

В Таблице 87 представлены особенности рецепторного профиля фенотипов эндометрия (экспрессии ER и PR) с учетом перенесенных инфекций (хламидийной и генитального герпеса) и инфицирования эндоцервикса ВПЧ ВР / хирургического лечения лейкоплакии шейки матки/ CIN I, II.

У женщин с пролиферативным фенотипом эндометрия в выборке с ВПЧ ВР / лейкоплакией шейки матки/ CIN I, II нерцептивный профиль встречался в три раза чаще, чем с фенотипом хронического воспаления ($p = 0,002$, $\chi^2 = 10,6$) и многократно – с диспластическим и нарушенным иммунным статусом ($p < 0,05$), а также – рецептивным ($p < 0,001$, $\chi^2 = 12,1$).

Таблица 87 – Особенности рецепторного профиля эндометрия при фенотипах в зависимости от факторов анамнеза

Группы/Фенотипы		N	ВПЧ высокого риска /лейкоплакия шейки матки/ CIN I, II				Хламидийная инфекция/ВПГ 2 типа			
			Рецептивный профиль	Нерецептивный профиль	Диффузный тип распределения VDR	Очаговый тип распределения VDR	Рецептивный профиль	Нерецептивный профиль	Диффузный тип распределения VDR	Очаговый тип распределения VDR
Пролиферативный	абс.	40	2	22 ^{2,3,4}	6	18 ^{2,3,4,5}	3	7	1	9
	%		5,0	55,0	15,0	45,0	7,5	17,5	2,5	22,5
Диспластический	абс.	47	2	2 ⁴	0	4	0	0	0	0
	%		4,3	4,3	0,0	8,5	0,0	0,0	0,0	0,0
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	2	2 ⁴	2	2	1	2 ⁴	0	3
	%		6,2	6,2	6,2	6,2	3,1	6,2	0,0	9,4
Хроническое воспаление	абс.	30	0	5	0	5	0	8	2	6
	%		0,0	16,7	0,0	16,7	0,0	26,7	6,7	20,0
Нормальный эндометрий	абс.	22	0	0	0	2	0	0	0	0
	%		0,0	0,0	0,0	9,1	0,0	0,0	0,0	0,0
			p>0,05	p ₁₋₂ <0,001 χ ² = 27,9 p ₁₋₃ <0,001 χ ² = 19,0 p ₁₋₄ =0,002 χ ² = 10,6	p>0,05	p ₁₋₂ =0,001 χ ² = 15,2 p ₁₋₃ =0,001 χ ² =13,3 p ₂₋₄ =0,01 χ ² = 6,2 p ₁₋₅ =0,004 χ ² = 8,4	p>0,05	p ₃₋₄ =0,04 χ ² = 4,8	p>0,05	p>0,05

В группе с пролиферативным фенотипом мультифокальный тип распределения VDR выявляли достоверно чаще, чем в остальных группах ($p < 0,05$).

При фенотипе хронического воспаления нерцептивный вариант достоверно преобладал в выборке с перенесенной хламидийной инфекцией/ВПГ2 типа (рецидивами заболеваний) – в четыре раза в сравнении с нарушенным иммунным статусом ($p = 0,04$; $\chi^2 = 4,8$). Рцептивный профиль после перенесенных ИППП имели только 5,8% женщин.

Частота диффузного типа распределения VDR в выборках с различным базовым заболеванием (как при ВПЧ высокого риска /лейкоплакия шейки матки/ CIN I, II, так и хламидийной инфекции/ВПГ 2 типа) достоверно не отличалась.

Данные сравнительного анализа ИГХ характеристик рцептивности эндометрия в зависимости от типа микробиоты представлены в Таблице 88.

При нелактобациллярном типе микробиоты рцептивный профиль выявлен в 7,5%. Нелактобациллярный тип микрофлоры и нерцептивный профиль эндометрия достоверно преобладал при фенотипе хронического воспаления – в пять раз чаще, чем с нарушенным иммунным статусом ($p < 0,001$, $\chi^2 = 17,1$), практически у половины женщин с диспластическим и трети – пролиферативным фенотипом (34,9%).

В выборке с лактобациллярным типом микробиоты рцептивный профиль определен у всех женщин с нормальным фенотипом эндометрия, трети – с нарушенным иммунным статусом и 12,5% – в остальных группах.

Таблица 88 – Взаимосвязь рецептивности эндометрия с типом микробиоты
(расчет на 144 исследования микробиоты матки методом ПЦР–РВ)

Группы/Фенотипы		N	Нелактобациллярный тип			Лактобациллярный тип		
			Рецептивный профиль	Нерецептивный профиль	Доминантная микробиота	Рецептивный профиль	Нерецептивный профиль	Доминантная микробиота
Пролиферативный	абс.	38	0	12 ⁴	12 ⁴	5	21	26 ^{4,5}
	%		0,0	31,6	31,6	13,2	55,3	68,4
Диспластический	абс.	34	0	16 ³	16 ³	4	14	18 ^{3,5}
	%		0,0	47,1	47,1	11,8	41,2	52,9
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	2	4 ⁴	6 ⁴	10	16	26 ^{4,5}
	%		6,2	12,5	18,8	31,2	50,0	81,2
Хроническое воспаление	абс.	30	0	19	19	0	11	11 ⁵
	%		0,0	63,3	63,3	0,0	36,7	36,7
Нормальный эндометрий	абс.	10	0	0	0	10	0	10
	%		0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
			p>0,05	p ₁₋₄ =0,01 χ ² = 6,8 p ₂₋₃ =0,003 χ ² = 9,3 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 17,1	p ₁₋₄ =0,01 χ ² = 6,8 p ₂₋₃ =0,02 χ ² = 5,9 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 12,8	p>0,05	p>0,05	p ₁₋₄ =0,01 χ ² = 6,8 p ₂₋₃ =0,015 χ ² = 5,9 p ₃₋₄ <0,001 χ ² = 12,7

Нерецептивный эндометрий отличал 45,8% женщин с лактобациллярным типом микробиоты.

В Таблице 89 представлены данные о вариантах распределения VDR (диффузный, очаговый) при различных типах микробиоты и фенотипах эндометрия.

При нелактобациллярном типе эндометрия у женщин с фенотипом хронического воспаления статистически значимо чаще, чем в остальных группах выявляли диффузный тип распределения VDR в стромальном компартменте – практически в пять раз ($p < 0,05$). Межгрупповых различий показателей очагового типа распределения VDR не было.

Женщин с диспластическим фенотипом отличало преобладание в эндометрии очагового распределения клеток, экспрессирующих рецепторы к витамину D, практически в 6 раз реже, чем при нарушенном иммунном статусе ($p < 0,001$, $\chi^2 = 10,9$).

При лактобациллярном типе в группах с пролиферативным и фенотипом нарушенного иммунного статуса статистически значимо чаще выявляли очаговый тип распределения VDR (44,2%), в четыре раза, чем с хроническим воспалением ($p < 0,05$).

В группе с фенотипом нарушенного иммунного статуса в образцах эндометрия с лактобациллярным типом микробиоты сопоставимо часто выявляли диффузный и очаговый типы распределения VDR (40,6%).

Таблица 89 – Особенности рецепторного профиля эндометрия в зависимости от типа микробиоты
(количество исследований – n=144)

Группы/Фенотипы		N	Нелактобациллярный тип микробиоты/тип распределения VDR		Лактобациллярный тип микробиоты/тип распределения VDR	
			диффузный	очаговый	диффузный	очаговый
Пролиферативный	абс.	38	3 ⁴	9	9 ⁵	16 ⁴
	%		7,9	23,7	23,7	42,1
Диспластический	абс.	34	2 ⁴	14 ³	0	18 ⁴
	%		5,9	41,2	0,0	52,9
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	4 ⁴	2	14 ⁵	12 ⁴
	%		12,5	6,2	43,8	37,5
Хроническое воспаление	абс.	30	14	5	8 ⁵	3
	%		46,7	16,7	26,7	10,0
Нормальный эндометрий	абс.	10	0	0	10	0
	%		0,0	0,0	100,0	0,0
			p ₁₋₄ <0,001 χ ² = 13,4 p ₂₋₄ <0,001 χ ² = 14,1 p ₃₋₄ =0,004 χ ² = 8,7	p ₂₋₃ <0,001 χ ² = 10,9	p ₁₋₅ <0,001 χ ² = 19,2 p ₃₋₅ =0,003 χ ² = 8,8 p ₄₋₅ <0,001 χ ² = 16,2	p ₁₋₄ =0,004 χ ² = 8,6 p ₂₋₄ =0,001 χ ² = 13,3 p ₃₋₄ =0,01 χ ² = 6,4

При лактобациллярном типе микробиоты диффузный тип распределения VDR в строме эндометрия выявлен у всех женщин с вариантом нормального фенотипа.

5.9 Корреляционные связи между иммуногистохимическими маркерами локального иммунитета при фенотипах эндометрия

Анализ корреляционных связей между экспрессией иммунных маркеров, рецепторов стероидных половых гормонов, HOXA11 и VDR представлен в серии Рисунков (75–79).

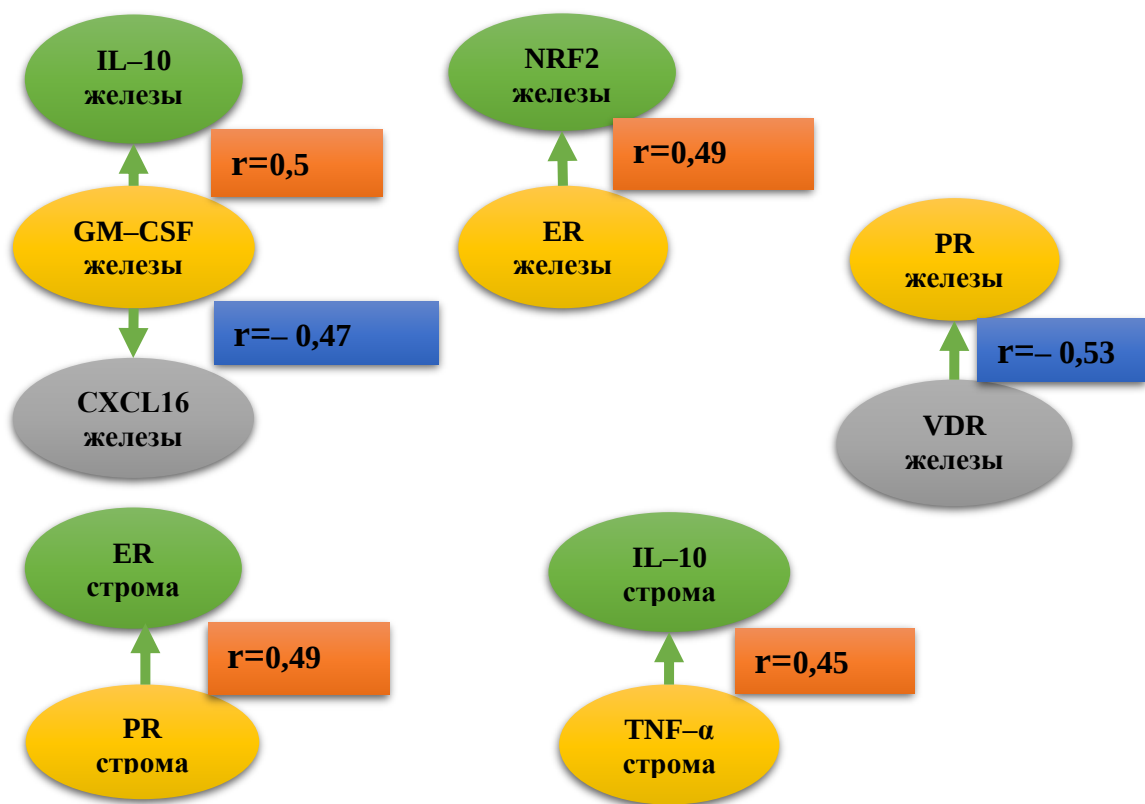


Рисунок 75 – Корреляционные связи в группе сравнения (фенотип нормального эндометрия) ($p < 0,05$)

При феномене «фертильного» эндометрия определены достоверные корреляционные связи ($p < 0,05$) между экспрессией маркеров:

- в железистом компартменте: средняя положительная – GM-CSF и IL-10, $r=0,5$; средняя отрицательная – VDR и PR, $r=-0,53$; слабая положительная – NRF2 и ER, $r=0,49$; слабая отрицательная – GM-CSF и CXCL16, $r=-0,47$;

- в стромальном компартменте – слабая положительная: CXCL16 и PR, $r=0,43$; PR и ER, $r=0,49$; TNF- α и IL-10, $r=0,45$.

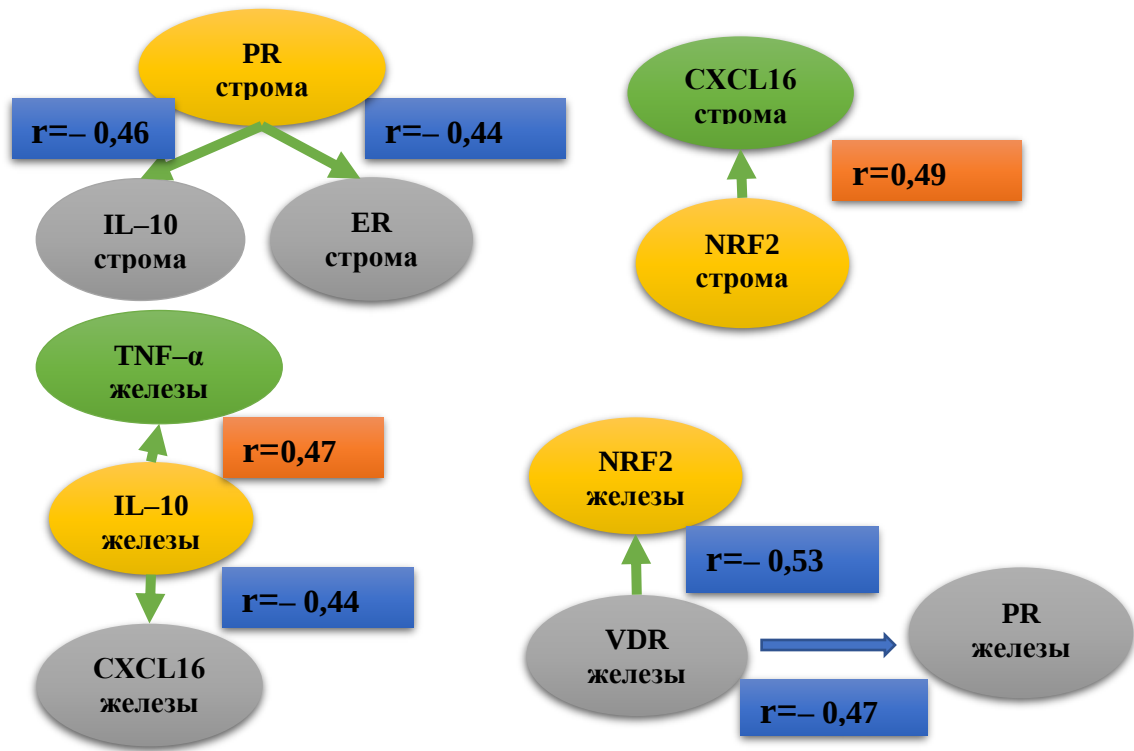


Рисунок 76 – Корреляционные связи при пролиферативном фенотипе эндометрия ($p<0,05$)

При пролиферативном фенотипе эндометрия определены достоверные корреляционные связи ($p<0,05$) между экспрессией маркеров:

- в железистом компартменте: слабая положительная – TNF- α и IL-10, $r=0,47$; слабая отрицательная – CXCL16 и IL-10, $r=-0,44$; средняя отрицательная – VDR и NRF2, $r=-0,53$, VDR и PR, $r=-0,47$;
- в стромальном компартменте: слабая положительная – NRF2 и CXCL16, $r=0,49$; слабая отрицательная – IL-10 и PR, $r=-0,46$; ER и PR, $r=-0,44$.

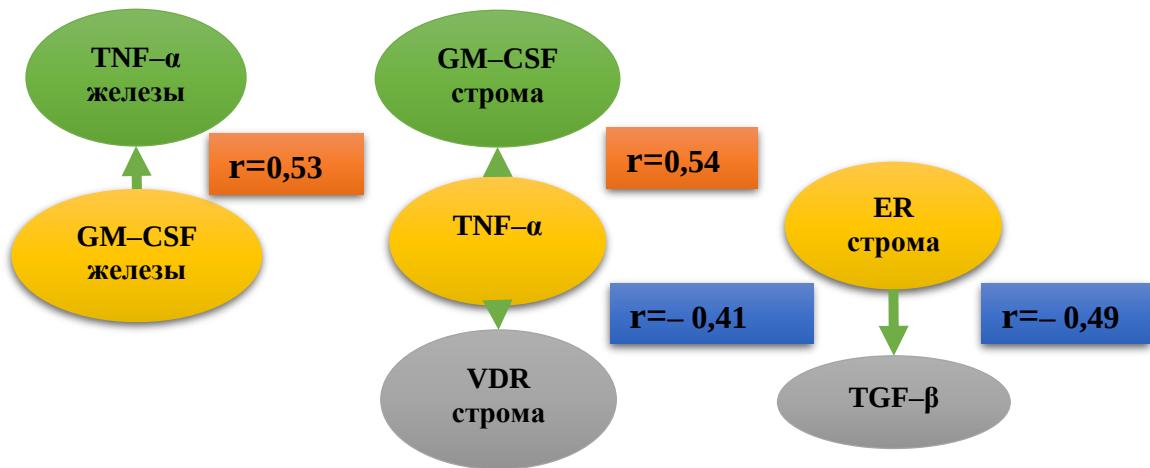


Рисунок 77 – Корреляционные связи при диспластическом фенотипе эндометрия ($p < 0,05$)

При диспластическом фенотипе эндометрия определены достоверные корреляционные связи между экспрессией маркеров:

- в железистом компартменте: средняя положительная – TNF- α и GM-CSF, $r = 0,53$;
- в стромальном компартменте: средняя положительная – TNF- α и GM-CSF, $r = 0,54$; слабая отрицательная – TNF- α и VDR, $r = -0,41$, ER и TGF- β , $r = -0,49$.

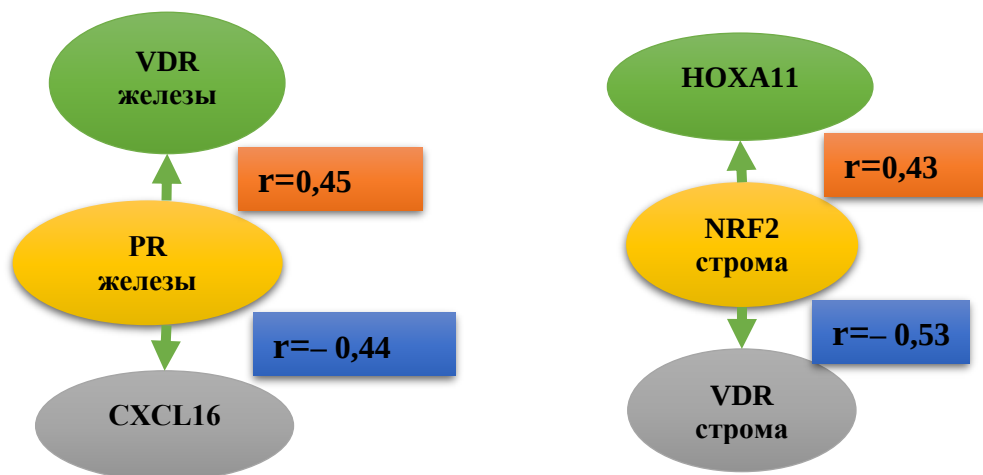


Рисунок 78 – Корреляционные связи при фенотипе нарушенного иммунного статуса эндометрия

При фенотипе нарушенного иммунного статуса эндометрия выявлены достоверные корреляционные связи ($p < 0,05$) между экспрессией маркеров:

- в железистом компартменте: слабая положительная – VDR и PR, $r = 0,45$; слабая отрицательная – CXCL16 и PR, $r = -0,44$; в строме: слабая положительная – NRF2 и HOXA11, $r = 0,43$; средняя отрицательная – NRF2 и VDR, $r = -0,53$.

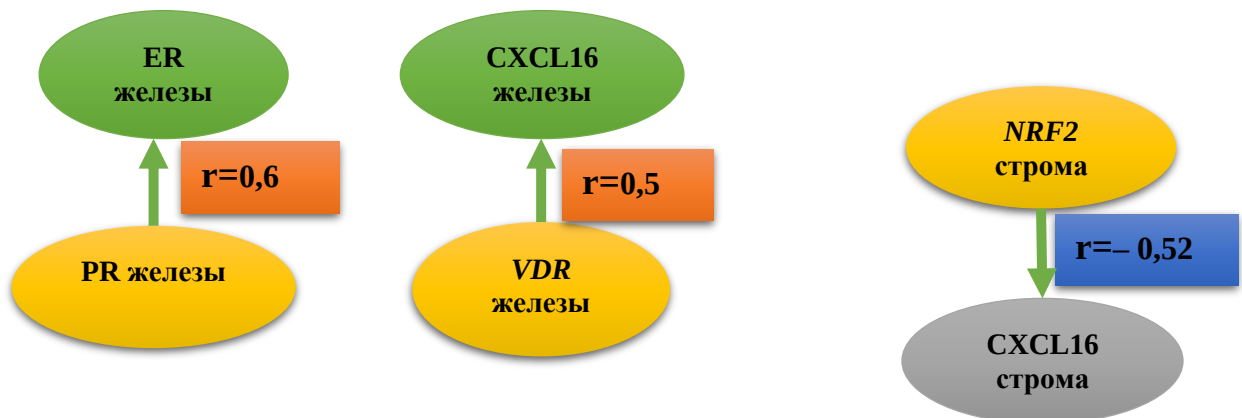


Рисунок 79 – Корреляционные связи при фенотипе хронического воспаления эндометрия ($p < 0,05$)

При фенотипе хронического воспаления эндометрия выявлены достоверные корреляционные связи ($p < 0,05$) между экспрессией маркеров:

- в железистом компартменте: средняя положительная – PR и ER, $r = 0,6$; средняя положительная – VDR и хемокина CXCL16, $r = 0,5$;
- в стромальном компартменте: средняя отрицательная – NRF2 и CXCL16, $r = -0,52$.

РЕЗЮМЕ

Фенотипы иммунного профиля эндометрия (нарушенный иммунный статус, пролиферативный, диспластический, хроническое воспаление, норма), определяемые экспрессией факторов локального иммунного статуса, отличаются патоморфологической основой и микроокружением – рецепторным статусом, кофакторами рецептивности, типом микробиоты.

Детерминантами иммунных фенотипов эндометрия выступали различные клиничко–анамнестические факторы, гистероскопические и патоморфологические типы (пролиферативный, диспластический, хроническое воспаление, норма).

- Объединяющим выбором бесплодных женщин признаком стало преобладание нерецептивного профиля (всех с фенотипом воспаления, 89,5% с пролиферативным и диспластическим фенотипом, в 1,4 раза реже, чем с нарушенным иммунным статусом) при выявленной вариабельности (очевидно, на фоне компенсаторных реакций) рецептивного статуса внутри каждого фенотипа;
- разнонаправленность патобиологических реакций доказывает характер экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов при различных фенотипах;
- нерецептивный профиль эндометрия при фенотипах отличался разнообразием гистологического строения: при пролиферативном – поздняя стадия пролиферации (55,0%), ранняя стадия фазы секреции (32,5%); диспластическом – ранняя стадия фазы секреции (8,5%), диссоциированное развитие – 6,4%; гипопластически–диспластический тип (76,6%); хроническом воспалении – спектр вариантов; нарушенном иммунном статусе – ранняя стадия фазы секреции – 15,6%, диссоциированное развитие – 6,2%, средняя стадия – 59,4%;
- диссонанс патоморфологических (средняя стадия фазы секреции) и молекулярных особенностей (нерецептивный эндометрий): в группе с фенотипом хронического воспаления – 33,3%, нарушенным иммунным статусом – 59,4%;

Особенности фенотипов эндометрия:

- различная экспрессия кофакторов рецептивности – VDR, тип распределения рецепторов (очаговый, диффузный, единичный); HOXA11;

- сывороточного содержания 25(OH)D в периферической крови;
- тенденции взаимосвязи нарушений биотопа влагалища с перенесенными инфекциями (ИППП, ВПЧ ВР, их сочетание с условно–патогенными микроорганизмами в высоких диагностических титрах), вмешательствами на шейке матке;
- конкордантность микробиома матки и влагалища при дисбиотическом профиле, преимущественно при фенотипе хронического воспаления; суммирование результатов при нелактобациллярном типе микробиоты показало идентичность качественных характеристик биоты дистантных отделов генитального тракта при диспластическом и фенотипе хронического воспаления.
- определена коррелятивность рецептивности эндометрия, распределения VDR (диффузный, очаговый) с перенесенными инфекциями, заболеваниями шейки матки на фоне ВПЧ ВР, типа микробиома матки при различных фенотипах.
- Таким образом, рецептивность эндометрия определяется ресурсом интерфейса «ткань–микробиота–локальный иммунитет» и доказывает сложность биомолекулярной коммуникационной системы, координируемой эндокринными, паракринными и иммунорегуляторными факторами. Доминанта лактобациллярного пула определяет дифференцировку иммунных клеток и достоверно большую реализацию «фертильных» свойств («рецептивности») эндометрия.

Неполноценность компонента «тригона» приводит к дисбалансу микроэкологии матки, микробного сообщества, дисфункции эндометрия и риску неудач имплантации. Процесс вариантов адаптации эндометрия (фенотипов) является следствием типа и длительности воздействия триггера и влияет на молекулярный профиль в период «окна имплантации». Гистологическое строение эндометрия может диссонировать с молекулярно–клеточными паттернами, определяющими рецептивность и пластические ресурсы.

Несостоятельность специфического этапа иммунного ответа в связи со структурными и/или функциональными дефектами иммунокомпетентных клеток

коррелировала с аберрантной экспрессией генов, регулирующих активность клеточного цикла, контролируемого физиологического воспаления и экспрессию ER и PR в период «окна имплантации». Вероятно, нарушение локального иммунного надзора сопряжено с активацией молекулярных сигнальных каскадов, связанных с неудачами имплантации.

Феномен иммунометаболической адаптации заключается в изменении продукции цитокинов, АФК, процессов фагоцитоза, пролиферации, апоптоза и эффекторных функций всех типов иммунных клеток. Нарушение строго регулируемой секреции провоспалительных цитокинов сопряжено с патоморфологической картиной воспаления, аномальной имплантацией и нарушением инвазии трофобласта и репродуктивными неудачами.

Развитие воспаления обусловлено не типом микробиоты, а характером экспрессируемых медиаторов, соотношением реакций отторжения и иммунной толерантности. Следовательно, взаимодействие между микроорганизмами, метаболитами и локальной иммунной системой влияет на молекулярно–биологические события, приводящие к активации/репрессии специфических сигнальных путей, тем самым регулируя экспрессию генов и синтез/деградацию белка.

При фенотипе нарушенного иммунного статуса эндометрия выявлена достоверно большая частота:

- первичного бесплодия (62,5%) – в два раза, чем в остальных группах (30,6%) ($p < 0,05$);
- рецидивирующих бактериальных вагинозов (43,8%) – практически в четыре раза ($p < 0,05$), чем с пролиферативным фенотипом и вариантом нормы (10,8%);
- гистероскопической нормы (75,0%) в сравнении с другими фенотипами ($p < 0,05$);
- морфологически неизменной слизистой матки (100,0%);

- лактобациллярного типа микробиоты (81,2%) – в полтора раза, чем при диспластическом фенотипе ($p < 0,05$), практически в два раза – с фенотипом хронического воспаления ($p < 0,05$).

Достоверные отличия молекулярно–адаптационного профиля фенотипа нарушенного иммунного статуса от группы сравнения:

- иммунного профиля: в железистом компартменте: сниженные значения маркеров GM-CSF, BCA1, CXCL16 – в 1,4 раза, TNF- α – в 1,3 раза, IL-10 – в 1,2 раза, при умеренном повышении NRF2 ($p = 0,02$); соотношение TNF- α /IL-10 = 1,0; в строме: тенденция аналогична: снижение экспрессии GM-CSF, TNF- α , CXCL16 – в 1,3 раза, IL-10 – в 1,2 раза; индекс TNF- α /IL-10 = 0,94;

- более редкая встречаемость нерцептивного профиля (62,5%), чем в остальных группах ($p < 0,05$);

- гиперэкспрессия рецепторов к стероидным гормонам только в железистом компартменте: PR – в 1,4 раза ($p = 0,00$), ER – в 1,1 раза ($p = 0,00$);

- диффузный тип распределения VDR–маркированных клеток (56,2%) ($p < 0,05$); повышенная экспрессия VDR в эпителиоцитах желез и строме ($p = 0,00$); NOXA11 – в строме ($p = 0,00$);

- пиноподии созревающего типа – практически в два раза чаще (71,9%), чем при пролиферативном и нормальном фенотипах (32,1%) ($p < 0,05$);

При диспластическом фенотипе выявлена достоверно большая частота:

- многократных неэффективных попыток ЭКО (более трех) (63,8%) – в 2,7 раза, чем с нарушенным иммунным ответом и пролиферативным фенотипом (21,9%) ($p < 0,05$);

- неоднократных внутриматочных вмешательств (80,9%) – практически в два раза, чем при фенотипе воспаления ($p < 0,05$) и четыре (18,8%) – в остальных группах ($p < 0,05$);

- недостатка 25(OH)D в периферической крови у женщин с несоответствием эндометрия фазе МЦ (72,3%) – в два раза, чем при фенотипе хронического воспаления (33,3%) ($p < 0,05$);

- сонографических стигм [фиброз стромы/гиперэхогенные включения в базальном слое (55,3%), картины «тонкого» эндометрия (78,7%), при диспластическом варианте ХЭ – истончение слизистой <7 мм (33,3%)];
- гистероскопических стигм [истончение и бледность слизистой матки (80,9%), из которых 21,3% – на фоне ХЭ; внутриматочные синехии – соответственно 29,7% и 10,6%];
- нелактобациллярного типа микробиоты эндометрия (снижение титра лактобактерий при умеренном титре условно–патогенных штаммов) (41,2%) – в 2,5 раза, чем с нарушенным иммунным статусом (15,6%) ($p < 0,05$).

Достоверные отличия молекулярно–адаптационного профиля диспластического фенотипа эндометрия от группы сравнения:

- иммунного профиля: выраженное снижение экспрессии маркеров в железистом компартменте: GM–CSF – в 3,7 раза, TNF– α – в два раза, IL–10 – в 1,8 раза, CXCL16 – в два раза, BCA1 – в 2,6 раза, NRF2 – в 1,1 раза; индекс TNF– α /IL–10 = 1,0; в стромальном компартменте: тенденция аналогична: GM–CSF – в 2,7 раза, TNF– α – в 4,6 раза, IL–10 – в 2,9 раза, CXCL16 – в 3,3 раза, NRF2 – в 1,2 раза наряду с наибольшим в сравнении с остальными фенотипами показателем TGF– β 1 (3 балла); соотношение TNF– α /IL–10 = 0,7;
- преобладание нерецептивного профиля (91,5%);
- низкая экспрессия ER и PR в обоих компартментах ($p = 0,00$);
- низкая экспрессия VDR ($p < 0,05$);
- преобладание пиноподий с диссоциированным развитием – практически в четыре раза, чем при пролиферативном фенотипе и нарушенном иммунном статусе (55,9% против 14,6%) ($p < 0,05$).

При фенотипе хронического воспаления выявлена достоверно большая частота признаков, чем в остальных группах:

- ациклических кровянистых выделений – в пять раз (30,0% против 6,2% при нарушенном иммунном статусе) ($p < 0,05$);
- анамнестических факторов:

- неоднократные эпизоды НБ (46,7% против 6,8%) ($p < 0,05$), репродуктивных потерь (60,0%) – в 2,6 раза, чем при диспластическом фенотипе, в пять – пролиферативном и с нарушенным иммунным статусом (12,2%)($p < 0,05$);
- болезней пищеварительной системы – в четыре раза (60,0%), чем с фенотипом нормального эндометрия, пролиферативным и диспластическим фенотипом (14,9%) ($p < 0,05$);
- хронических воспалительных заболеваний матки и придатков (53,3%) – в 2,4 раза, чем с пролиферативным фенотипом (22,5%) ($p < 0,05$);
- хронического цервицита (46,7%) против 16,5% в группах с диспластическим фенотипом, нарушенным иммунным статусом и вариантом «нормы» ($p < 0,05$);
- эктропиона шейки матки при персистенции ВПЧ ВР более трех лет без лечения (43,3%) – многократно чаще, чем при диспластическом фенотипе ($p < 0,05$);
- ✓ инфицированности биотопов генитального тракта в анамнезе:
 - рецидивирующих вагинитов (80,0%) – практически в три раза, чем с нарушенным иммунным статусом (25,0%) ($p < 0,05$), 7,7% – в остальных группах ($p < 0,05$);
 - отделяемого цервикального канала (80,0%) – в два раза, чем с пролиферативным фенотипом (40,0%) ($p < 0,05$), в 2,6 раза – с нарушенным иммунным статусом (32,2%) ($p < 0,05$), в 4,6 раза – в остальных группах (17,4%) ($p < 0,05$);
 - эндоцервикса в сочетании с рецидивами БВ (60,0%) – в три раза, чем с пролиферативным фенотипом и нарушенным иммунным статусом (20,9%) ($p < 0,05$) и в пять – с диспластическим фенотипом и вариантом нормы (12,1%) ($p < 0,05$);
 - ИППП (63,3%) – практически в два раза, чем с пролиферативным фенотипом и нарушенным иммунным статусом (33,1%) ($p < 0,05$);
 - вирусной нагрузки (ВПЧ ВР) – в четыре раза, чем с диспластическим и фенотипом нормы, нарушенным иммунным статусом (46,7% против 11,5%) ($p < 0,05$);

- инфицированности биотопов генитального тракта на момент обследования:

- нарушений микробиоты влагалища (40,0%) – в 3,5 раза, чем при диспластическом фенотипе и нарушенном иммунном статусе ($p < 0,05$); у женщин с преобладанием в анамнезе ВПЧ ВР (75,0% против 27,8% при нормоценозе) ($p < 0,05$); хирургических вмешательств на шейке матки (58,3% против 11,1% при нормоценозе) ($p < 0,05$);
- персистенции ВПЧ ВР в сочетании с ИППП (20,0%) ($p < 0,05$);
- сочетания условно–патогенных штаммов в значимых титрах и *Mycoplasma hominis* / *Ureaplasma parvum/urealyticum* (30,0%) ($p < 0,05$);
- нелактобациллярного типа микробиоты эндометрия (смешанный профиль + дисбиотический) по данным ПЦР–РВ (63,3%) – в два раза, чем с пролиферативным фенотипом (31,6%) ($p < 0,05$), в 3,4 раза – с нарушенным иммунным статусом (18,8%) ($p < 0,05$); дисбиотического (46,7% против 4,8% в остальных группах) ($p < 0,05$).

Достоверные отличия молекулярно–адаптационного фенотипа хронического воспаления эндометрия от группы сравнения:

- в железистом компартменте: избыточная экспрессия провоспалительных цитокинов (TNF- α , GM-CSF, CXCL16 – в 1,2 раза, BCA1 – в 1,7 раза) на фоне снижения IL-10 – в 2 раза; иммунорегуляторный индекс TNF- α /IL-10 = 2,5;
- в строме: повышение экспрессии GM-CSF, TNF- α , CXCL16 – в 1,2 раза, снижение – IL-10 – в 1,8 раза и TGF- β 1 (1 балл);
- нерецептивный профиль – 100,0%;
- низкая экспрессия рецепторов стероидных гормонов в обоих компартментах, причем в строме в большей степени за счет PR – в два раза ($p = 0,00$);
- диффузный тип распределения VDR в строме (73,3%) – в 2,5 раза чаще, чем при пролиферативном фенотипе (30,0%) ($p < 0,05$) и многократно – диспластическом ($p < 0,05$); при нелактобациллярном типе микробиоты – практически в пять раз чаще (46,7% против 8,8% при остальных фенотипах) ($p < 0,05$);

- большая частота нерецептивного эндометрия при нелактобациллярном типе микробиоты – практически в пять раз, чем с нарушенным иммунным статусом (63,3% против 12,5%) ($p < 0,05$);

- молекулярный профиль хронического воспаления был обусловлен экспрессией маркеров (CD 138+, HLA–DR, CD4+, CD8+);

При пролиферативном фенотипе эндометрия выявлена достоверно большая частота:

- доброкачественных заболеваний молочных желез (45,0%) – в 4,6 раза, чем в остальных группах (9,7%) ($p < 0,05$), ЖДА – в семь раз, чем с диспластическим фенотипом и нарушенным иммунным статусом (35,0% против 5,2%) ($p < 0,05$), доброкачественных заболеваний шейки матки – практически в шесть раз, чем в остальных группах, кроме фенотипа воспаления (62,5% против 10,4%) ($p < 0,05$); ПЭ/ГЭ в анамнезе (62,5%) – в шесть раз чаще, чем в остальных группах (10,5%) ($p < 0,05$);

- ✓ инфицированности биотопов генитального тракта в анамнезе:

- ВПЧ ВР – практически в пять раз, чем в остальных группах (11,5%), кроме фенотипа воспаления ($p < 0,05$); вмешательств на шейке матки по поводу лейкоплакии/CIN I, II на фоне ВПЧ ВР (60,0%) – в два раза, чем с фенотипом воспаления и нарушенным иммунным статусом (30,6%) ($p < 0,05$), в 3,4 раза – с диспластическим и фенотипом «нормы» (17,6%) ($p < 0,05$);

- ✓ инфицированности биотопов генитального тракта на момент обследования: нарушения микробиоты влагалища у 24% женщин, в анамнезе которых в 70,0% фигурировали ИППП, в 100,0% – ВПЧ ВР; ВПЧ ВР в сочетании с условно–патогенными микроорганизмами в значимых титрах – 40,0%, с ИППП – 30,0%;

при инструментальной диагностике достоверно большая частота:

- гистероскопических маркеров фенотипа (ПЭ – 62,5%, ГЭ – 37,5%), подтвержденных патоморфологически;

Достоверные отличия молекулярно–адаптационного пролиферативного фенотипа эндометрия от группы сравнения:

- иммунного профиля: повышенная экспрессия GM-CSF – в 1,2 раза, умеренная – TNF- α , CXCL16 – в 1,1 раза; снижение продукции IL-10 – в 1,3 раза, индекс TNF- α /IL-10 = 1,5; в строме – возрастание экспрессии GM-CSF – в 1,2 раза, IL-10 – в 1,6 раза; индекс TNF- α /IL-10 = 1,6;
- нерецептивный профиль – 87,5%;
- повышенная экспрессия ER в железистом компартменте – практически в два раза ($p=0,00$), строме – в 1,2 раза ($p=0,00$); снижение – PR: соответственно в 1,1 раза ($p=0,00$) и 2,3 раза ($p=0,00$);
- повышение экспрессии протеина Ki-67 (6,0% до 19,0%) [норма: эпителий – 0,7 (1,0%); строма – 3,7(3,0%)] как подтверждение избыточной пролиферативной активности эндометрия [ПЭ, ГЭ, их сочетание с ХЭ (33,3%)];
- повышенная экспрессия NOXA11 ($p=0,00$);
- нерецептивный профиль (55,0%) женщин с ВПЧ ВР / лейкоплакией шейки матки/CIN I, II – практически в три раза, чем с фенотипом воспаления (16,7%) ($p<0,05$), многократно – с диспластическим фенотипом и нарушенным иммунным статусом (5,2%) ($p<0,05$), а также – рецептивным эндометрием ($p<0,05$);
- мультифокальный характер экспрессии VDR (70,0%) – практически в три раза, чем при диспластическом фенотипе и фенотипе воспаления (24,9%) ($p<0,05$).

ГЛАВА 6. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ АЛГОРИТМА ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ ТАКТИКИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПАХ ЭНДОМЕТРИЯ И ОЦЕНКА ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ

6.1 Математические модели прогнозирования молекулярно-адаптационных фенотипов эндометрия

Массив результатов обследования [анамнез, патоморфологическое и ИГХ (ER, PR, VDR) исследования биоптатов эндометрия), микробиологический блок (ПЦР–РВ), содержание 25(OH)D в крови)] позволил выделить информативные для прогнозирования персонифицированного риска вариантов нарушений локального иммунного статуса признаки и разработать ряд математических моделей.

Риск снижения эндометриального резерва рассчитывали с помощью разработанной Модели А с нижеперечисленными предикторами по формуле:

$P = 1 / (1 + e^{-z})$, где

$$z = -3,913 + X_{СЭ} * 2,01 + X_{ЛБТ} * 2,083 + X_{РП} * 1,285 + VDR * 1,547 + NOXA11 * 1,924,$$

где факторы: $X_{СЭ}$ – секреторный эндометрий (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{РП}$ – ER/PR рецептивный профиль (0 – отсутствие, 1 – наличие), VDR – рецептор витамина D [0 – отсутствие (>5,6), 1 – наличие (5,6)], $X_{ЛБТ}$ – лактобациллярный тип микробиоты (0 – отсутствие, 1 – наличие), NOXA11 – ген гомеобокса (0 – отсутствие [>5,2), 1 – наличие (5,2)].

При значении функции $P < 0,5$ возможно достоверно прогнозировать снижение эндометриального резерва в период «окна имплантации», при $P > 0,5$ имеет место его сохранность. Данные ROC–анализа подтверждают прогностическую значимость модели (AUC выбранных предикторов – 0,68–0,8, чувствительность модели – 90,2%, специфичность – 77,4%, диагностическая эффективность – 84,2%). Модель признана статистически значимой ($p < 0,05$).

В ходе построения моделей методом бинарной логистической регрессии для каждой выборки осуществляли пошаговое отсеечение факторов, не имеющих прогностической значимости.

Концепция прогнозирования фенотипа эндометрия нарушенного иммунного статуса

Информативные для прогнозирования фенотипа признаки, использование которых возможно до этапа ИГХ исследования маркеров нарушения локального иммунного статуса представлены в Таблице 90.

Таблица 90 – Факторы риска и их значимость для построения модели

Параметры	В	Стд. ошибка	Вальд	р-уровень значимости	Exp(B)
Рецидивирующие бактериальные вагинозы	2,394	0,924	6,709	0,010	10,954
Лактобациллярный тип микробиоты эндометрия	1,976	0,739	7,148	0,008	7,210
Константа	-1,473	0,658	5,006	0,025	0,229

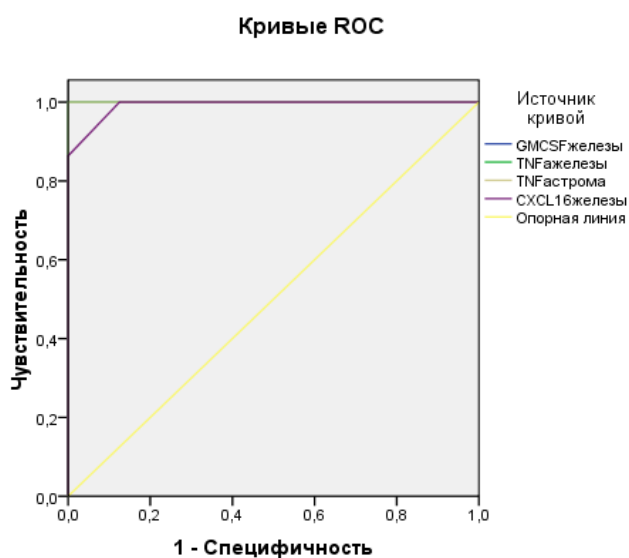
Расчет персонифицированного риска нарушений локального иммунного статуса осуществлялся по Модели 1: $P = 1 / (1 + e^{-z})$, где

$$z = -1,473 + 2,394 * X_{РБВ} + 1,976 * X_{ЛТМ},$$

где $X_{РБВ}$ – рецидивирующие бактериальные вагинозы (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{ЛТМ}$ – лактобациллярный тип микробиоты эндометрия (0 – отсутствие, 1 – наличие).

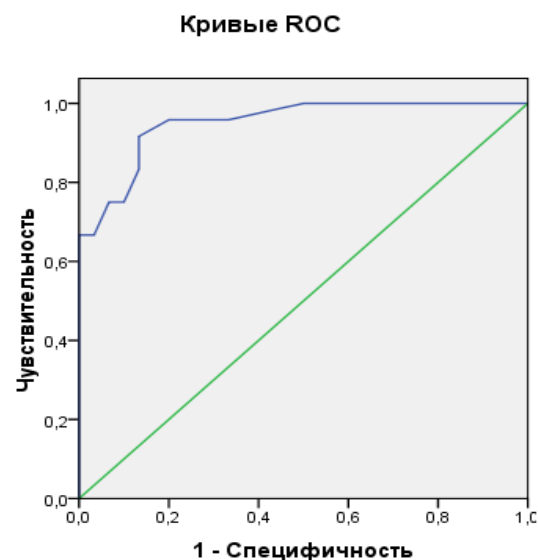
Показано, что при значении $P > 0,5$ достоверно ($p < 0,05$) прогнозируется дисрегуляция факторов локального иммунитета в период «окна имплантации» (чувствительность – 77,3%, специфичность – 96,7%, диагностическая эффективность – 88,5%). Для оценки информативности маркеров локального иммунитета и кофакторного влияния на рецептивность эндометрия HOXA11, VDR выполнен ROC-анализ пороговых величин параметров при различных фенотипах эндометрия.

Характеристики ROC–кривой прогнозирования фенотипа нарушенного иммунного статуса эндометрия и референсные значения иммуногистохимических маркеров представлены на Рисунках 80–82



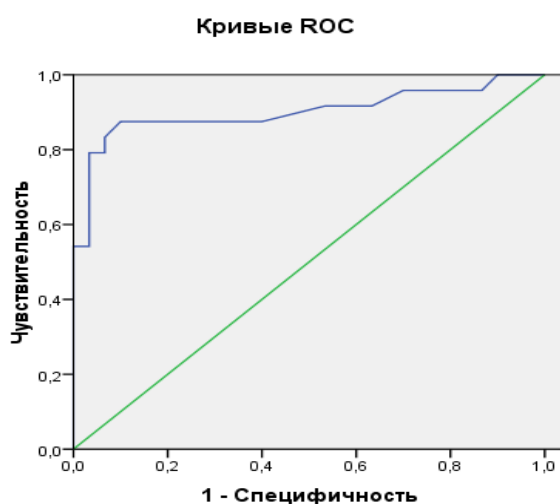
Диагональные сегменты формируются совпадениями.

Рисунок 80 — ROC–кривая прогнозирования фенотипа в зависимости от экспрессии маркеров локального иммунного статуса



Диагональные сегменты формируются совпадениями.

Рисунок 81 — ROC–кривая прогнозирования фенотипа в зависимости от экспрессии VDR в эпителиоцитах желез



Диагональные сегменты формируются совпадениями.

Рисунок 82 – ROC–кривая прогнозирования фенотипа в зависимости от экспрессии HOXA11 в строма

cut-off экспрессии маркеров:

GM-CSF железзы	$[\leq 190,0]$	Se – 100,0% Sp – 75,0%
TNF-α железзы	$[\leq 200,0]$	Se – 100,0% Sp – 100,0%
TNF-α строма	$[\leq 195,0]$	Se – 100,0% Sp – 100,0%
CXCL16 железзы	$[\leq 195,0]$	Se – 100,0% Sp – 87,5%
VDR железзы	$[\geq 6,1]$	Se – 95,8% Sp – 80,0%
HOXA11 строма	$[\geq 6,4]$	Se – 83,3% Sp – 93,3%

где Se – чувствительность,
Sp – специфичность

Диагностическую ценность маркеров доказывают значения площади под кривой AUC (Таблица 91).

Таблица 91 — Показатели площади AUC маркеров

Параметры	Площадь	Стд. ошибка	р-уровень значимости	95% Доверительный интервал	
				нижняя граница	верхняя граница
GM-CSF железы	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000
TNF-α железы	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000
TNF-α строма	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000
CXCL16 железы	0,991	0,008	0,000	0,000	1,000
VDR железы	0,951	0,026	0,000	0,897	1,000
НОХА11 строма	0,901	0,049	0,000	0,805	0,998

Риск развития фенотипа нарушенного иммунного статуса (Модель I) рассчитывался по разработанной математической модели на основании оценки экспрессии иммунных маркеров [GM-CSF железы, TNF-α железы/строма, CXCL16 железы (целые числа, баллы)] по формуле: $P = 1 / (1 + e^{-z})$, где

$$z = 3,57 + \text{GM-CSF железы} * (-0,006) + \text{TNF-}\alpha \text{ железы} * (-0,003) + \text{TNF-}\alpha \text{ строма} * (-0,004) + \text{CXCL16 железы} * (-0,003)$$

При значении $P > 0,71$ (0,67; 0,76) достоверно ($p < 0,05$) (чувствительность – 100,0%, специфичность – 100,0%) констатируют развитие данного фенотипа.

Концепция прогностической модели диспластического фенотипа эндометрия

В Таблице 92 представлены факторы, информативные для прогнозирования фенотипа до ИГХ исследования маркеров локального иммунного статуса.

Таблица 92 – Факторы риска и их значимость для построения модели

Параметры	В	Стд. ошибка	Вальд	р–уровень значимости	Exp(B)
Недостаток витамина D в сыворотке крови	2,969	1,239	5,744	0,017	19,468
Нерецептивный профиль эндометрия (индекс PR/ER в строге <2)	4,809	1,231	15,25	0,000	122,590
Неоднократные внутриматочные вмешательства	2,241	1,105	4,111	0,043	9,401
Константа	–4,145	1,340	9,567	0,002	0,016

На основании выделенных статистически значимых предикторов была разработана математическая Модель 2: $P = 1 / (1 + e^{-z})$, где

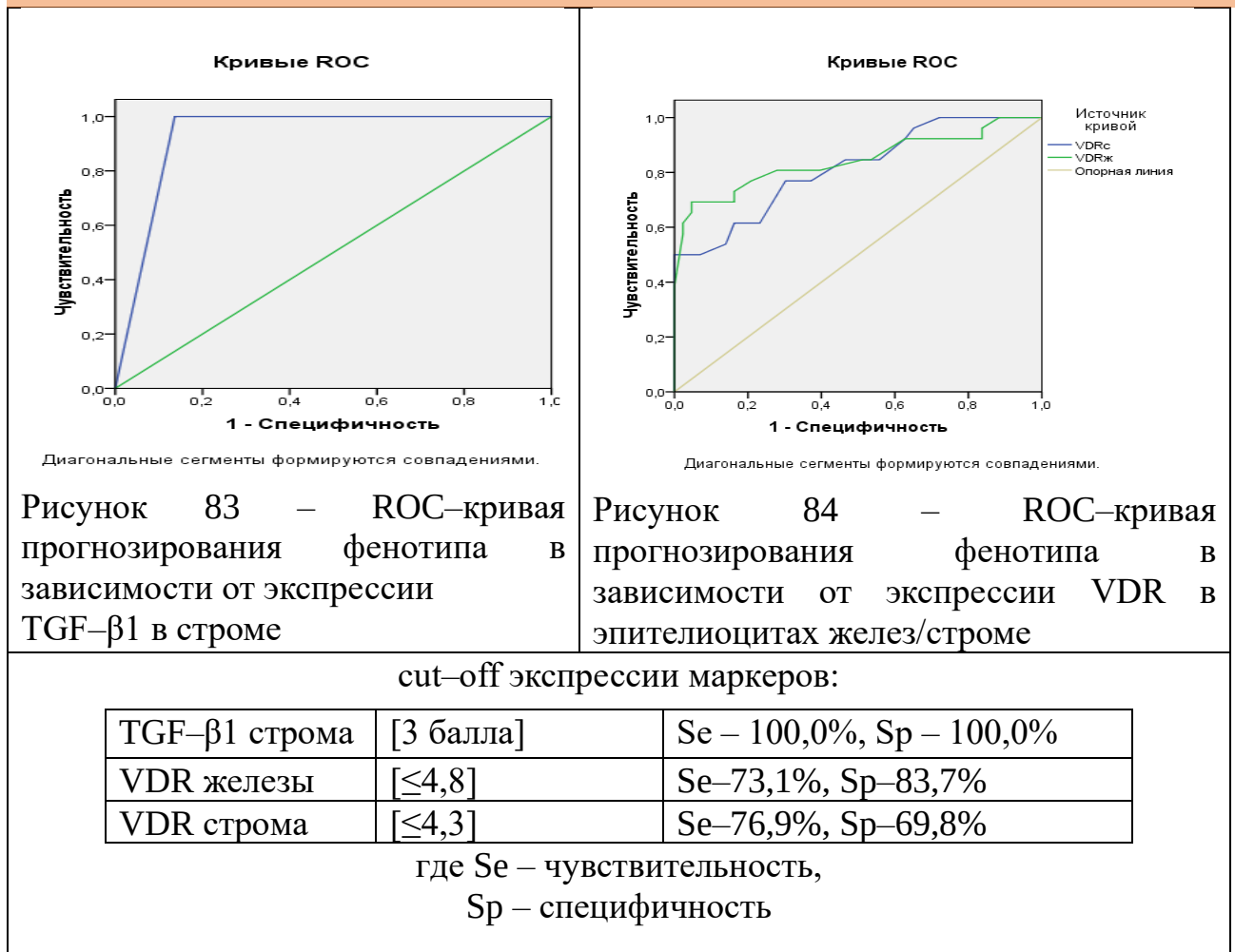
$$z = -4,145 + 2,969 * X_{25(OH)D} + 4,8 * X_{НР} + 2,241 * X_{ВМВ},$$

где $X_{25(OH)D}$ – недостаток 25(OH)D в сыворотке крови (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{НР}$ – нерецептивный профиль эндометрия (PR/ER в строге <2) (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{ВМВ}$ – неоднократные внутриматочные вмешательства (0 – отсутствие, 1 – наличие), которая

при значении $P > 0,1$ достоверно ($p < 0,05$) с высокой чувствительностью (86,4%), специфичностью (93,8%) и диагностической эффективностью (75,9%) позволяет прогнозировать низкоиммунный ответ в период «окна имплантации».

С целью унификации прогностических коэффициентов низкоиммунного ответа эндометрия выполнены расчеты для каждого варианта диспластического типа ввиду вариабельности величин некоторых маркеров (Медиана [Q25; Q75] (Глава 5): без хронического воспаления; на фоне; суммарно).

Характеристики ROC–кривой прогнозирования диспластического фенотипа (с и без хронического воспаления эндометрия) и референсные значения иммуногистохимических маркеров представлены на Рисунках 83–84



Совпадение пороговых величин экспрессии маркера TGF– β 1 в эндометрии при вариантах диспластического фенотипа (с/без хронического воспаления), позволяет утверждать о едином механизме фибропластической трансформации.

Диагностическую ценность маркеров доказывают значения AUC (Таблица 93).

Таблица 93 — Показатели площади AUC экспрессии маркеров

Параметры	Площадь	Стд. ошибка	р-уровень значимости	95% Доверительный интервал	
				нижняя граница	верхняя граница
TGF-β1	0,932	0,044	0,000	0,000	1,000
VDR железы	0,814	0,053	0,000	0,710	0,919
VDR строма	0,843	0,055	0,000	0,736	0,951

Риск развития диспластического фенотипа (Модель II) прогнозируется на основании оценки экспрессии TGF-β1 (целые числа, баллы) по формуле: $P = 1 / (1 + e^{-z})$, где

$$z = -0,67 + \text{TGF-}\beta 1 * 0,53$$

при значении $P > 0,72$ (значимость модели – $p < 0,05$, чувствительность – 86,4%, специфичность – 95,7%, точность – 92,8%).

Концепция прогностической модели пролиферативного фенотипа эндометрия

Информативные для прогнозирования фенотипа признаки (до оценки экспрессии маркеров локального иммунитета) представлены в Таблице 94.

Таблица 94 — Факторы риска и их значимость для построения модели

Параметры	В	Стд. Ошибка	Вальд	р-уровень значимости	Exp(B)
Носитель ВПЧ высокого онкогенного риска	1,809	0,908	3,975	0,046	6,107
Очаговый тип распределения VDR в эндометрии	2,754	0,984	7,829	0,005	15,703
Лейкоплакия шейки матки/CIN I, II при наличии ВПЧ высокого онкогенного риска в анамнезе	2,188	1,067	4,205	0,040	8,914
Полипы/ гиперплазия эндометрия в анамнезе	2,157	0,928	5,400	0,020	8,641
Константа	-2,582	0,806	10,254	0,001	0,076

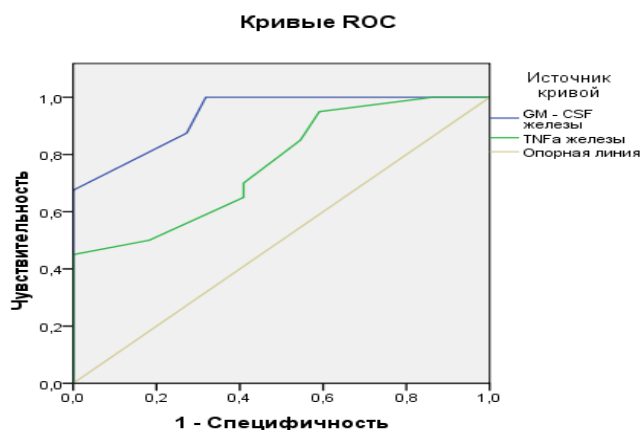
Разработанная Модель 3 по формуле: $P = 1 / (1 + e^{-z})$, где

$$z = -2,582 + 1,8 * X_{\text{ВПЧ ВР}} + 2,754 * X_{\text{оVDR}} + 2,188 * X_{\text{ЛШМ}} + 2,157 * X_{\text{ПЭ/ГЭ}},$$

где $X_{\text{ВПЧ ВР}}$ – носитель ВПЧ ВР (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{\text{оVDR}}$ – очаговый тип распределения VDR в эндометрии (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{\text{ЛШМ}}$ – лейкоплакия шейки матки/CIN I, II при ВПЧ ВР (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{\text{ПЭ/ГЭ}}$ – ПЭ/ГЭ в анамнезе (0 – отсутствие, 1 – наличие)

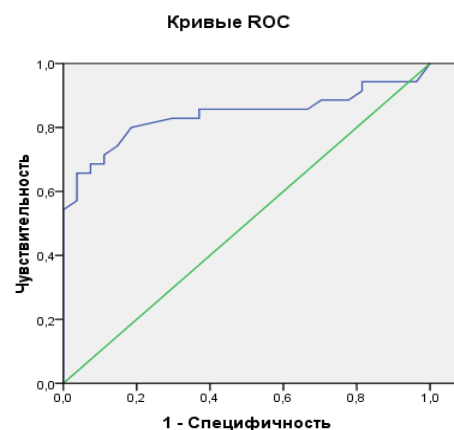
позволяет при значении $P > 0,5$ достоверно ($p < 0,05$), с высокой чувствительностью (86,4%), специфичностью (92,5%) и диагностической эффективностью (90,3%) предсказывать гиперактивный иммунный ответ в эндометрии в период «окна имплантации».

Характеристики ROC–кривой прогнозирования пролиферативного фенотипа эндометрия и референсные значения иммуногистохимических маркеров представлены на Рисунках 85–87



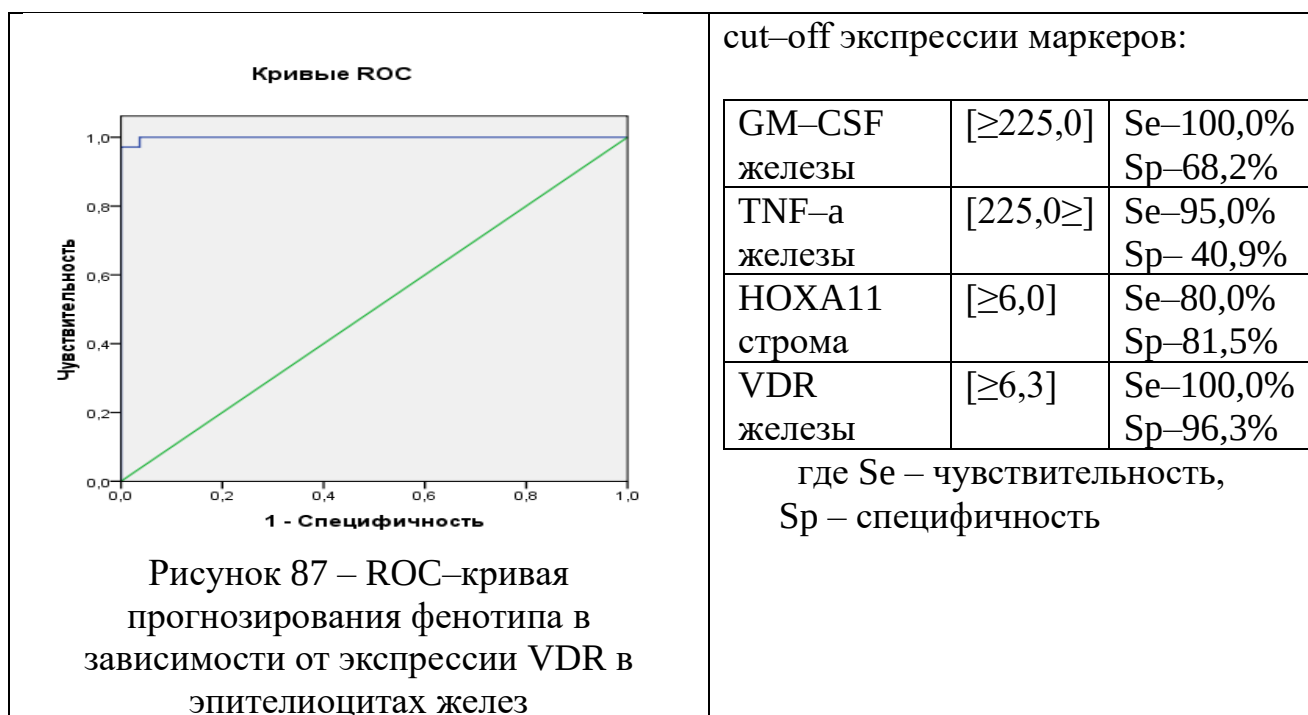
Диагональные сегменты формируются совпадениями.

Рисунок 85 – ROC–кривая прогнозирования фенотипа в зависимости от экспрессии GM–CSF и TNF–α в эпителиоцитах желез



Диагональные сегменты формируются совпадениями.

Рисунок 86 – ROC–кривая прогнозирования фенотипа в зависимости от экспрессии HOXA 11 в строме



Диагностическую ценность маркеров доказывают значения AUC (Таблица 95).

Таблица 95 — Показатели площади AUC экспрессии маркеров локального иммунного статуса

Параметры	Площадь	Стд. ошибка	p–уровень значимости	95% Доверительный интервал	
				нижняя граница	верхняя граница
GM–CSF железы	0,936	0,029	0,000	0,879	0,992
TNF–α железы	0,766	0,060	0,001	0,648	0,884
НОХА11	0,839	0,054	0,000	0,734	0,944
VDR железы	0,999	0,002	0,000	0,000	1,000

Риск формирования пролиферативного фенотипа (Модель III) прогнозируется на основании оценки экспрессии маркеров GM–CSF железы, TNF–α железы (целые числа, баллы) по формуле: $P = 1 / (1 + e^{-z})$, где

$$z = -3,95 + \text{GM–CSF железы} \cdot (0,01) + \text{TNF–}\alpha \text{ железы} \cdot (0,006)$$

при значении $P > 0,55$ (чувствительность – 81,8%, специфичность – 95,0%, диагностическая эффективность – 90,3%). Модель признана статистически значимой ($p < 0,05$).

Концепция прогностической модели фенотипа хронического воспаления эндометрия

В Таблице 96 представлены предикторы фенотипа до исследования экспрессии маркеров локального иммунного статуса.

Таблица 96 – Факторы риска и их значимость для построения модели

Параметры	В	Стд. ошибка	Вальд	p-уровень значимости	Exp(B)
Рецидивирующие вагиниты	3,544	1,272	7,759	0,005	34,616
Нелактобациллярный тип микробиоты эндометрия	3,827	1,503	6,479	0,011	45,923
Контаминация отделяемого цервикального канала и рецидивы бактериального вагиноза в анамнезе	3,480	1,322	6,924	0,009	32,456
Константа	-3,011	1,033	8,499	0,004	,049

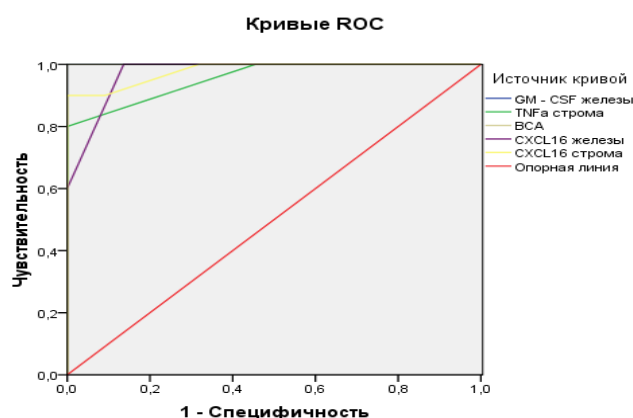
Разработанная Модель 4 позволяет прогнозировать избыточное иммунное воспаление в эндометрии в период «окна имплантации» по формуле:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где}$$

$$z = -3,011 + 3,544 * X_{РВТ} + 3,827 * X_{НЛЦ} + 3,48 * X_{КЦК+РБВ},$$

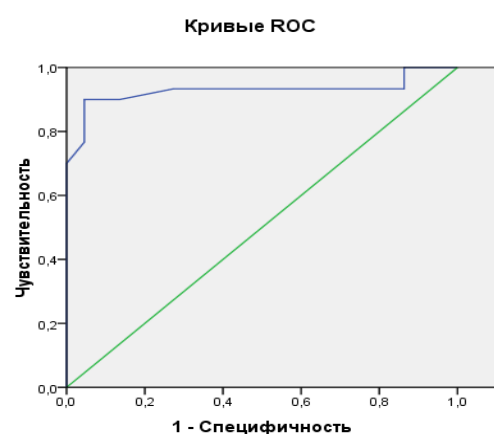
где $X_{РВТ}$ – рецидивирующие вагиниты, $X_{НЛЦ}$ – нелактобациллярный тип микробиоты эндометрия, $X_{КЦК+РБВ}$ – контаминация отделяемого цервикального канала и рецидивы БВ при значении $P > 0,5$ вероятность обоснована значимостью модели ($p < 0,05$), (чувствительность – 77,3%, специфичность – 96,7%, диагностическая эффективность – 88,5%).

Характеристики ROC–кривой прогнозирования фенотипа хронического воспаления эндометрия и референсные значения иммуногистохимических маркеров представлены на Рисунках 88–89



Диагональные сегменты формируются совпадениями.

Рисунок 88 – ROC–кривая прогнозирования фенотипа в зависимости от экспрессии маркеров локального иммунного статуса



Диагональные сегменты формируются совпадениями.

Рисунок 89 – ROC–кривая прогнозирования фенотипа в зависимости от экспрессии VDR в эпителиоцитах желез

cut–off экспрессии маркеров:

GM–CSF железы	[250,0]	Se – 100,0%/ Sp – 100,0%
TNF–а строма	[250]	Se – 80,0%/ Sp – 100,0%
BCA1 железы	[215,0]	Se – 100,0%/ Sp – 100,0%
CXCL16 железы	[257,5]	Se – 100,0%/ Sp – 86,4%
CXCL16 строма	[255,0]	Se – 90,0%/ Sp – 100,0%
VDR железы	[≥6,3]	Se–90,0%/ Sp–95,5%

где Se – чувствительность,
 Sp – специфичность

Диагностическую ценность выбранных маркеров доказывают значения площади под кривой AUC (Таблица 97).

Таблица 97 — Показатели площади AUC экспрессии маркеров

Параметры	Площадь	Стд. ошибка	p-уровень значимости	95% Доверительный интервал	
GM-CSF железы	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000
TNF-α строма	0,955	0,025	0,000	0,902	1,000
BCA1 железы	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000
CXCL16 железы	0,973	0,020	0,000	0,000	1,000
CXCL16 строма	0,980	0,015	0,000	0,000	1,000
VDR железы	0,928	0,041	0,000	0,833	1,000

Риск формирования фенотипа хронического воспаления (Модель IV) прогнозируется на основании оценки экспрессии маркеров [GM-CSF железы, TNF-α строма, BCA1, CXCL16 железы, строма (целые числа, баллы)] по формуле: $P = 1 / (1 + e^{-z})$, где

$$z = -3,05 + \text{GM-CSF железы} * 0,005 + \text{TNF-}\alpha \text{ строма} * 0,002 + \text{BCA1} * 0,005 + \text{CXCL16 железы} * 0,002 + \text{CXCL16 строма} * 0,001.$$

При значении $P > 0,73$ прогноз достоверен с высокой чувствительностью (100,0%) и специфичностью (100,0%).

Модель признана статистически значимой ($p < 0,05$).

6.2 Алгоритм дифференцированного подхода к тактике ведения женщин с болезнями эндометрия, ассоциированными с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения

Полученные результаты, существенно дополняющие представления об особенностях патогенеза нарушений состояния эндометрия при повторных неудачах ЭКО, позволяют на основании разработанных прогностических моделей (снижения эндометриального резерва; нарушенного локального иммунного статуса; развития специфических молекулярно-адаптационных фенотипов) (Рисунок 90) модифицировать алгоритм ранней диагностики (Рисунок 91) и предложить дифференцированный выбор лечебной стратегии (Таблица 98).

Приведены результаты комплексной оценки состояния эндометрия в период «окна имплантации» (сонография, гистероскопия, микробиологический контроль в выборках с нарушением биоценоза отделов генитального тракта, патоморфологического и ИГХ методов) после персонифицированной и традиционной лечебно–диагностической тактики.

Выявление заболеваний эндометрия сопровождалось хирургическими вмешательствами (аспирационное удаление слизистой при ГЭ, полипэктомия, разделение синехий).

Основой стратегии ведения женщин с повторными неудачами ЭКО и установленными фенотипами эндометрия является дополнение рутинного блока исследований оценкой тригона «ткань–микробиота–иммунное микроокружение».

Верификация молекулярно-адаптационных фенотипов эндометрия, ассоциированных с повторными неудачами ЭКО (пролиферативный, диспластический, нарушенного иммунного статуса, хроническое воспаление, нормальный) определяла возможность подбора персонифицированной терапии с учетом локального иммунного профиля, рецепторного профиля (ER/PR, NOXA11), «Д–статуса», активности интерфейса «25(OH)D–VDR», состояния биотопов генитального тракта/типа микробиоты матки, наличия оксидативного стресса.

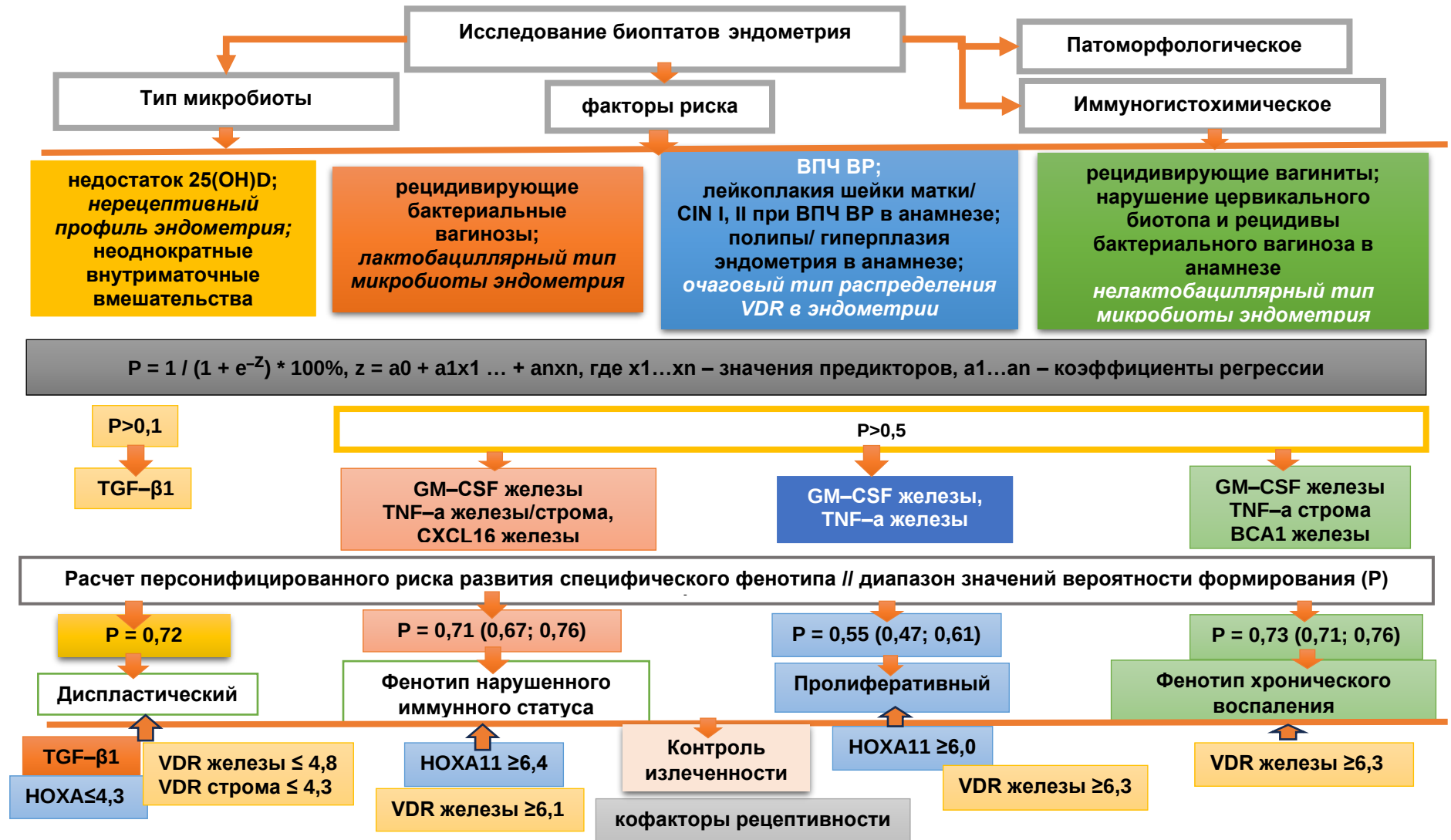


Рисунок 90 – Пошаговое прогнозирование нарушений локального иммунного статуса и формирования специфических молекулярно-адаптационных фенотипов

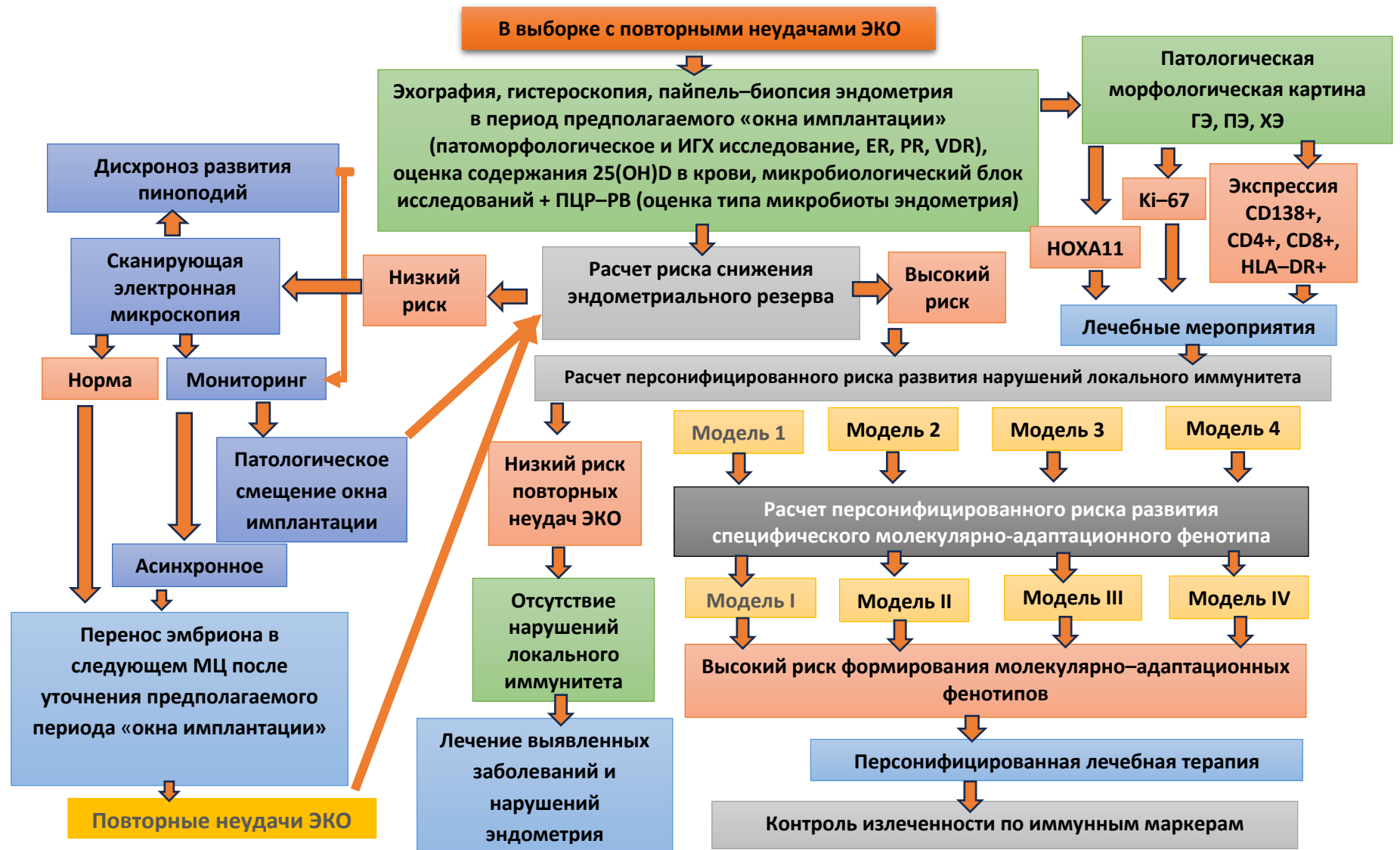


Рисунок 91 – Алгоритм ранней диагностики нарушений функции и заболеваний эндометрия и дифференцированного выбора тактики ведения женщин с повторными неудачами ЭКО

Таблица 98 – Схема подбора персонифицированной терапии при различных фенотипах эндометрия

Нарушенный иммунный статус	Пролиферативный	Диспластический	Хроническое воспаление
1. МИКРОБИОТА. Восстановление нормоценоза биотопов генитального тракта			
Антибактериальная терапия при высоком титре условно-патогенных штаммов (> 10 ⁴), абсолютных патогенов, дисбиотическом типе микробиоты эндометрия, дотация лактобактерий (ПРОБИОТИКИ)			
2. ТКАНЬ ЭНДОМЕТРИЯ. Восстановление архитектоники			
			Противовоспалительные препараты (целекоксиб 200 мг в сутки, 5-7 дней)
	Противовирусная терапия (Ацикловир, Валтрекс, Валвир, Изопринозин)		Противовирусная терапия (Ацикловир, Валтрекс, Валвир, Изопринозин)
		Дефиброзирующая терапия Физиолечение (низкочастотная электроимпульсная терапия, интерференц-токи, лазерная терапия)	
Метаболическая терапия (коррекция неадекватного сывороточного уровня 25(ОН)D, антиоксиданты (вит Е 400 МЕ, альфа-липоевая кислота 60 мг), фитомолекулы с таргентным воздействием			
	Индолкарбинол 200 мг 2 раза в сутки 2 мес.		Эпигаллокатехин-3-галлат 2 капсулы 2 раза в день 2 мес.
		17β-эстрадиол в дозе 2-4 мг в сутки в интервале от 1 до 28 день МЦ	
Поддержка лютеиновой фазы гестагенами (Дидрогестерон) 20 мг в сутки с 14го по 25 день МЦ			
3. ЛОКАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ. Восстановление иммунного статуса			
		Бовгиалуронидаза азоксимер, свечи и лиофилизат 3 000 МЕ № 10-20	
Топическая цитокинотерапия (Суперлимф 25 ЕД 20 дней вагинально)			Топическая цитокинотерапия (Суперлимф 25 ЕД 20 дней вагинально)
Иммуноглобулин человеческий, интерфероны, Аллокин-альфа №6-9 подкожные инъекции через день			Иммуноагрессивная терапия (пирогенал 10 или 25 мкг в/м, № 10)

6.3 Эффективность персонифицированной терапии при различных фенотипах эндометрия

Данные сравнительного анализа эхографических параметров различных фенотипов эндометрия до и после лечения представлены в Таблице 99.

Таблица 99 – Эхо–характеристики эндометрия при различных фенотипах

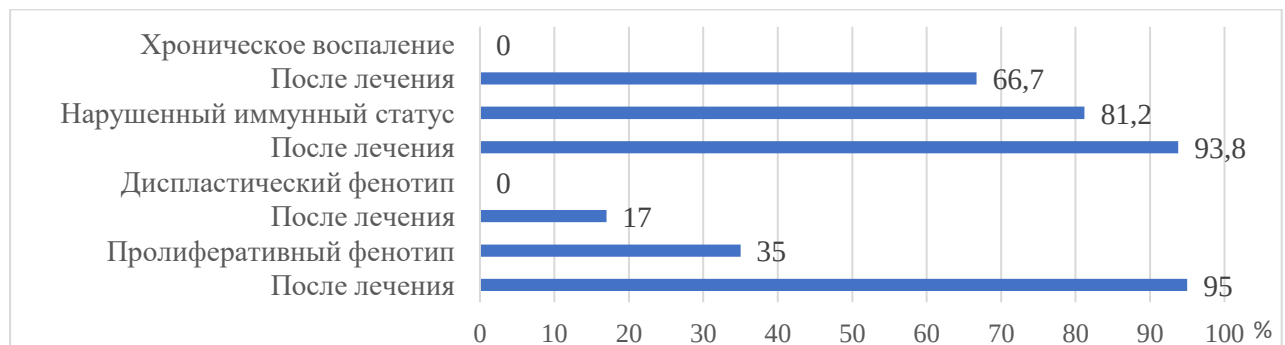
Группы/Фенотипы		N	Пролиферативный тип		Ассоциированные с хроническим эндометритом признаки			Диспластический тип		
			Полипы эндометрия	Гиперплазия эндометрия	Несоответствие М-эхо фазе МЦ	Расширение полости матки в верхней трети	Неравномерная толщина слизистой	Внутриматочные синехии	Фиброз стромы	«Тонкий» эндометрий
Пролиферативный (до лечения)	абс.	40	12 ²	9	0	0	0	0	0	0
	%		30,0	22,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Пролиферативный (после лечения)	абс.	40	2	0	0	0	0	0	0	0
	%		5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Диспластический (до лечения)	абс.	47	0	0	0	0	0	4	26	47
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,5	55,3	100,0
Диспластический (после лечения)	абс.	47	0	0	0	0	0	0	19	29
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	40,4	61,7
Нарушенный иммунный статус (до лечения)	абс.	32	0	0	0	0	6	0	0	0
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	18,8	0,0	0,0	0,0
Нарушенный иммунный статус (после лечения)	абс.	32	0	0	0	0	2	0	0	0
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	6,2	0,0	0,0	0,0
Хроническое воспаление (до лечения)	абс.	30	4	10	10	8	9	0	0	0
	%		13,3	33,3	33,3	26,7	30,0	0,0	0,0	0,0
Хроническое воспаление (после лечения)	абс.	30	3	0	4	0	3	0	0	0
	%		10,0	0,0	13,3	0,0	10,0	0,0	0,0	0,0
			p1-2=0,004 χ2=8,6	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

После лечения сонографические маркеры пролиферативного варианта выявляли достоверно реже исходных данных: рецидивы ПЭ имели место только в двух случаях ($p=0,004$, $\chi^2=8,6$). Рецидивов ГЭ не было. Среди маркеров

диспластического фенотипа эхо–признаки «тонкого» эндометрия после лечения встречались в полтора раза реже исходных показателей. Сохранность эпизодов фиброза стромы подтверждает необходимость поиска перспективных лечебно–восстановительных мероприятий при диспластическом фенотипе. Рецидивов внутриматочных синехий после эндоскопического разрушения не было.

При фенотипе нарушенного иммунного статуса выявлено сокращение признака неравномерной толщины эндометрия, однако значимых различий с исходными показателями не было. После лечения сократилось количество сонографических признаков воспаления (несоответствие эндометрия фазе МЦ, неравномерность толщины) и ПЭ. Эффективность персонифицированного подхода при ведении женщин с различными фенотипами эндометрия доказывает отсутствие сонографических признаков ГЭ, продуктивного воспаления (расширение полости матки в верхней трети).

На Рисунке 92 представлены результаты нормализации сонографических показателей после персонифицированного лечения фенотипов эндометрия.



Примечание – статистически значимых различий до и после лечения не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 92 – Эхо–признаки сонографической нормы» после лечения

Картина сонографической «нормы» эндометрия после терапии пролиферативного фенотипа встречалась втрое чаще исходных данных. Восстановление эндометрия (толщины и структуры) определено у двух третей женщин с хроническим воспалением.

В Таблице 100 представлены визуальные особенности эндометрия до и после персонифицированного лечения различных фенотипов эндометрия.

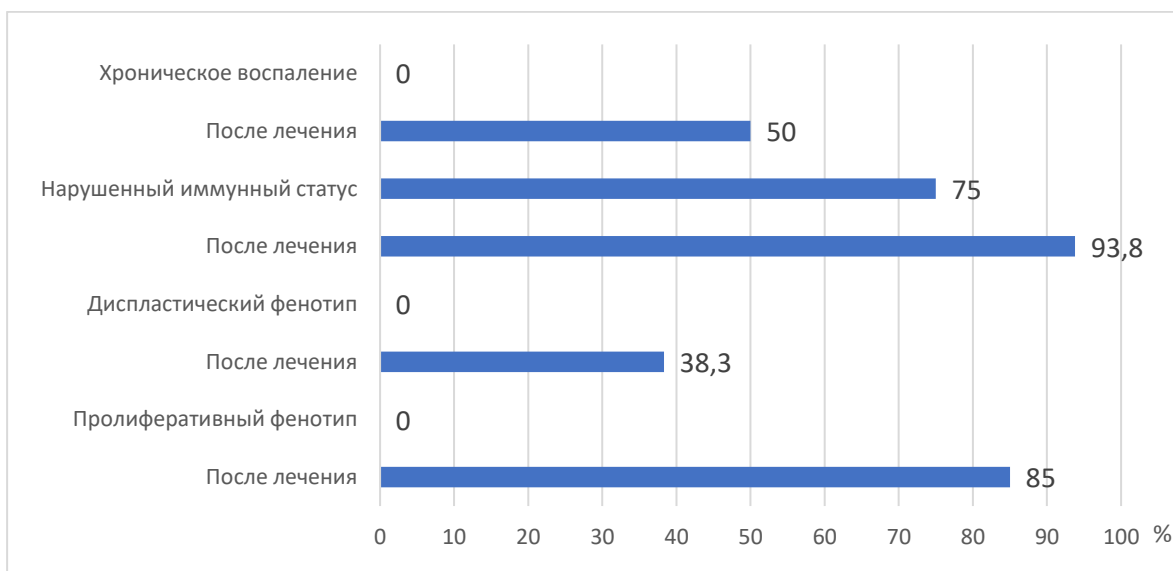
Таблица 100 – Гистероскопические характеристики эндометрия при различных фенотипах

Группы/Фенотипы		N	Пролиферативный тип			Диспластический тип		Признаки хронического воспаления		
			Полипы эндометрия	Гиперплазия эндометрия	Неравномерная толщина слизистой	Внутририматочные синехии	Истончение слизистой, бледная слизистая	Микрополипы	Неравномерная толщина слизистой	Истончение эндометрия
Пролиферативный (до лечения)	абс.	40	25 ²	15	14	0	0	0	0	0
	%		62,5	37,5	35,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Пролиферативный (после лечения)	абс.	40	2	0	4	0	0	0	0	0
	%		5,0	0,0	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Диспластический (до лечения)	абс.	47	0	0	0	9	38	0	0	0
	%		0,0	0,0	0,0	19,1	80,9	0,0	0,0	0,0
Диспластический (после лечения)	абс.	47	0	0	0	0	29	0	0	0
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	61,7	0,0	0,0	0,0
Нарушенный иммунный статус (до лечения)	абс.	32	0	0	8	0	0	0	0	0
	%		0,0	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Нарушенный иммунный статус (после лечения)	абс.	32	0	0	2	0	0	0	0	0
	%		0,0	0,0	6,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Хроническое воспаление (до лечения)	абс.	30	4	6	0	5	0	15 ⁸	12 ⁸	0
	%		13,3	20,0	0,0	16,7	0,0	50,0	40,0	0,0
Хроническое воспаление (после лечения)	абс.	30	2	0	0	0	0	4	3	0
	%		6,7	0,0	0,0	0,0	0,0	13,3	10,0	0,0
			p ₁₋₂ <0,001, χ^2 =29,6	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p ₇₋₈ =0,003, χ^2 =9,3	p ₇₋₈ = 0,008, χ^2 =7,2	p>0,05

В группе с пролиферативным фенотипом отмечены рецидивы только ПЭ (5,0%), однако частота его встречаемости в сравнении с показателем до лечения снизилась многократно ($p < 0,001$, $\chi^2 = 29,6$).

При анализе эффективности лечения диспластического фенотипа эндометрия наилучшие показатели выявлены после разрушения внутриматочных синехий. Различия в частоте констатации признаков сочетания истончения и бледности слизистой матки после лечебно–восстановительных мероприятий были недостоверны. В группе с хроническим воспалением определено сокращение неравномерной толщины слизистой матки – в четыре раза. Эффективность персонифицированного лечения хронического воспаления доказывает снижение практически в четыре раза визуализации микрополипов эндометрия ($p = 0,003$, $\chi^2 = 9,3$), неравномерной толщины, гиперемии и отека ($p = 0,008$, $\chi^2 = 7,2$), отсутствие рецидивов ГЭ и внутриматочных синехий.

На Рисунке 93 представлены результаты частоты выявления после персонифицированного лечения различных фенотипов эндометрия картины гистероскопической «нормы».



Примечание – статистически значимых различий до и после лечения не выявлено ($p > 0,05$)

Рисунок 93 – Маркеры гистероскопической «нормы» после лечения

Восстановление нормальной гистероскопической картины при пролиферативном фенотипе определено в 85,0%. Визуальные признаки нормального эндометрия отмечали вдвое чаще, чем при сонографии (38,3% против 17,0%) ($p < 0,05$). В группе с нарушенным иммунным статусом отмечен некоторый прирост показателей нормального эндометрия, однако без достоверных различий до и после лечения. Частота выявления нормального эндометрия при фенотипе нарушенного иммунного статуса при контрольной сонографии и гистероскопии была сопоставима (93,8%). Количество заключений о визуальном нормальном эндометрии после лечения хронического воспаления уступало данным эхографии (50,0% против 66,7%).

В Таблице 101 представлены данные о морфологических стигмах фенотипов эндометрия после персонафицированного и традиционного лечения.

Таблица 101 – Морфологические маркеры фенотипов эндометрия после лечения

Группы/Фенотипы		N	Очаговая воспалительная инфильтрация в базальном слое и во всех отделах	Диффузная лимфоцитарная инфильтрация стромы и клеток эндометрия	Очаговый фиброз стромы, стенок спиральных артерий	Дистрофические изменения базального и железистого слоев эндометрия	Очаговая гиперплазия базального слоя, гладкомышечных клеток	Дисхроноз железистого эпителия
Пролиферативный	абс.	40	0	0	0	0	4	4
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0
Диспластический	абс.	47	0	0	6	9	0	12
	%		0,0	0,0	12,8	19,1	0,0	25,5
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	0	0	0	0	0	4
	%		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5
Хроническое воспаление	абс.	30	6	4	2	3	3	5
	%		20,0	13,3	6,7	10,0	10,0	16,7
Всего в проспективной выборке	абс.	149	6 ⁶	4 ⁶	8 ⁶	12 ⁶	7	25
	%		4,0	2,7	5,4	8,1	4,7	16,8
Всего в ретроспективной выборке	абс.	98	19	17	15	23	11	26
	%		19,4	17,3	15,3	23,5	11,2	26,5
			p 5-6<0,001, χ ₂ =15,3	p 5-6<0,001, χ ₂ =16,3	p 5-6=0,009, χ ₂ =6,9	p 5-6<0,001, χ ₂ =11,5	p>0,05	p>0,05

По результатам аспирационной биопсии эндометрия после персонифицированного лечения женщин с хроническим воспалением на 7–10 день МЦ отмечена следующая динамика: очаговую воспалительную инфильтрацию стромы лимфоцитами, макрофагами, плазмócитами определяли в 20,0%, диффузную – 13,3%; эпизоды очагового фиброза стромы и стенок спиральных артерий, очаговой гиперплазии базального слоя, гладкомышечных клеток эндометрия были единичны.

Характеристики женщин с морфологическими стигмами хронического воспаления, выявленными после лечения у 9 женщин: неоднократные неэффективные попытки ЭКО, внутриматочные вмешательства, микробная контаминация локусов генитального тракта, микст-инфекции, нелактобациллярный тип микробиоты эндометрия.

Морфологическое исследование аспирата эндометрия женщин с диспластическим вариантом хронического воспаления в период «имплантационного окна» показало дистрофическое «повреждение» базального и железистого слоев в 10,0%, картину дисхроноза железистого слоя – 16,7%.

Преобладание дисхроноза железистого эпителия среди морфологических признаков диспластического фенотипа эндометрия (25,5%) (очаговый фиброз стромы, стенок спиральных артерий, дистрофические изменения базального слоя) позволяет дифференцировать женщин, составляющих категорию риска неэффективных попыток ЭКО. В группе с нарушенным иммунным статусом морфологическое несоответствие периоду «окна имплантации» встречалось у 12,5% женщин.

В проспективной выборке стигмы измененного эндометрия после персонифицированного лечения определяли достоверно реже в сравнении с исходными показателями: очаговую инфильтрацию базального слоя – практически в четыре раза ($p < 0,001$, $\chi^2 = 15,3$), диффузную – в шесть раз ($p < 0,001$, $\chi^2 = 16,3$), очаговый фиброз стромы – в три раза ($p = 0,009$, $\chi^2 = 6,9$), дистрофические изменения – в три раза ($p < 0,001$, $\chi^2 = 11,5$). Достоверных различий частоты гиперплазии

базального слоя и дисхроноза железистого эпителия в группах с различными лечебно–диагностическими подходами не выявлено.

Сравнительный анализ характеристик микробиоты отделов генитального тракта при различных фенотипах эндометрия до и после персонифицированной терапии представлен в Таблице 102.

Таблица 102 – Характеристики биотопов нижних отделов генитального тракта при различных фенотипах эндометрия

Группы/Фенотипы			N	Нарушения микробиоты влагалища	Бактериальная контаминация отделяемого цервикального канала
Пролиферативный	до лечения	абс.	40	10	16 ²
		%		25,0	40,0
	после	абс.	40	4	3
		%		10,0	7,5
Диспластический	до лечения	абс.	47	5	5
		%		10,6	10,6
	после	абс.	47	2	2
		%		4,3	4,3
Нарушенный иммунный статус	до лечения	абс.	32	4	11 ⁶
		%		12,5	34,4
	после	абс.	32	2	3
		%		6,2	9,4
Хроническое воспаление	до лечения	абс.	30	12	9
		%		40,0	30,0
	после	абс.	30	6	5
		%		20,0	16,7
Всего после лечения в проспективной выборке		абс.	14	14	13
		%	9	9,4	8,7
Всего после лечения в ретроспективной выборке		абс.	98	15	15
		%		15,3	15,3
				p>0,05	p ₁₋₂ = 0,001, χ^2 =11,7 p ₅₋₆ = 0,03, χ^2 =5,8

Достоверных различий в частоте нарушений микробиоты влагалища до и после лечения не было, несмотря на тенденцию снижения дисбиотических состояний. При пролиферативном фенотипе после персонифицированной терапии достоверно реже выявляли инфицирование отделяемого цервикального канала – практически в пять раз ($p=0,001$, $\chi^2=11,7$).

В группе с диспластическим фенотипом определена тенденция к снижению инфицированности биотопов отделов генитального тракта, однако значимых различий до и после лечения не было.

Отличием женщин с фенотипом нарушенного иммунного статуса оказалось значимое снижение эпизодов инфицирования эндоцервикса ($p=0,03$, $\chi^2=5,8$).

При мониторинге показателей инфицированности половых путей женщин в про- и ретроспективной выборках достоверных различий не выявлено.

Динамика изменений состава микробиоты эндометрия при смешанном и дисбиотическом профиле представлена в Таблице 103.

Таблица 103 – Нелактобациллярный тип микробиоты эндометрия до и после лечения

Группы/Фенотипы			N	Лактобациллярный тип+условно– патогенная флора	Условно– патогенная флора	Всего
Пролиферативный	до	абс.	38	10	2	12
		%		26,3	5,3	31,6
	после	абс.	38	4	1	5
		%		10,5	2,6	13,2
Диспластический	до	абс.	34	14	2	16
		%		41,2	5,9	47,1
	после	абс.	34	9	0	9
		%		26,5	0,0	26,5
Нарушенный иммунный статус	до	абс.	32	5	1	6
		%		15,6	3,1	18,8
	после	абс.	32	3	1	4 ⁷
		%		9,4	3,1	12,5
Хроническое воспаление	до	абс.	30	5	14 ⁸	19 ⁸
		%		16,7	46,7	63,3
	после	абс.	30	4	4	8
		%		13,3	13,3	26,7
Всего до лечения		абс.	134	34	19	53 ¹⁰
		%		25,4	14,2	39,6
Всего после лечения		абс.	98	20	6	23
		%		20,4	6,1	23,5
				p>0,05	p 7–8= 0,01 χ2=7,9	p 7–8=0,009 χ2=8,1 p 9–10 =0,01 χ2=6,6

В группе с хроническим воспалением частота контаминации эндометрия статистически значимо сократилась в сравнении с исходными данными: при дисбиотическом профиле микробиоты – в 3,5 раз ($p=0,01$, $\chi^2=7,9$), суммарно – в 2,4 раза ($p=0,009$, $\chi^2=8,1$). Исследование микробиоты эндометрия методом ПЦР–РВ проводили только в проспективной выборке, поэтому эффект персонифицированной терапии (коррекция дисбиотических нарушений в составе комплексной для фенотипа) оценивали до и после лечения. Количество образцов эндометрия с нелактобациллярным типом микробиоты в сравнении с исходным показателем достоверно уменьшилось в 1,7 раза ($p=0,01$, $\chi^2=6,6$).

Данные сравнительного анализа рецептивности эндометрия при различных лечебно–диагностических подходах представлены в Таблице 104.

Таблица 104 – Характеристики эндометрия при различных фенотипах до и после лечения

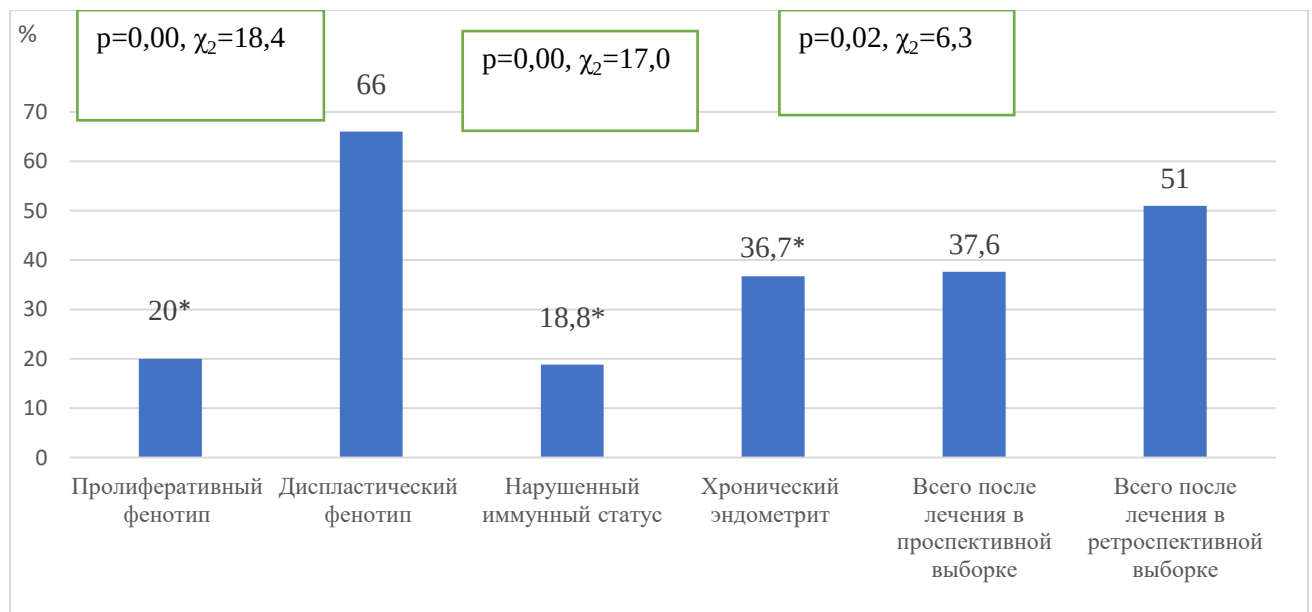
Группы/Фенотипы			N	Рецептивный	Нерецептивный
Пролиферативный	до лечения	абс.	40	5 ²	35
		%		12,5	87,5
	после	абс.	40	32	8
		%		80,0	20,0
Диспластический	до лечения	абс.	47	4 ⁴	43
		%		8,5	91,5
	после	абс.	47	16	31
		%		34,0	66,0
Нарушенный иммунный статус	до лечения	абс.	32	6 ⁶	26
		%		18,8	81,2
	после	абс.	32	26	6
		%		81,2	18,8
Хроническое воспаление	до лечения	абс.	30	0	30
		%		0,0	100,0
	после	абс.	30	19	11
		%		63,3	36,7
Всего до лечения		абс.	149	15 ¹⁰	134 ¹⁰
		%		10,1	89,9
Всего после лечения в проспективной выборке		абс.	149	93 ¹¹	56 ¹¹
		%		62,4	37,6
Всего после лечения в ретроспективной выборке		абс.	98	48	50
		%		49,0	51,0
				p ₁₋₂ < 0,001, χ ₂ =36,6 p ₃₋₄ = 0,005, χ ₂ =9,1 p ₅₋₆ < 0,001, χ ₂ =25,0 p ₉₋₁₀ < 0,001, χ ₂ =88,3 p ₁₀₋₁₁ = 0,04, χ ₂ =4,7	

Количество образцов рецептивного эндометрия после комплексной терапии в сравнении с исходными данными достоверно возросло – в шесть раз ($p<0,001$, $\chi^2=88,3$): при пролиферативном фенотипе – в 6,4 раза ($p<0,001$, $\chi^2=36,6$), с нарушенным иммунным статусом – практически в четыре раза ($p<0,001$, $\chi^2=25,0$), хронического воспаления – у 63,3% женщин.

В группе с диспластическим фенотипом вариант адекватной для периода «окна имплантации» экспрессии ER и PR встречался в четыре раза чаще в сравнении с исходным статусом ($p=0,005$, $\chi^2=9,1$).

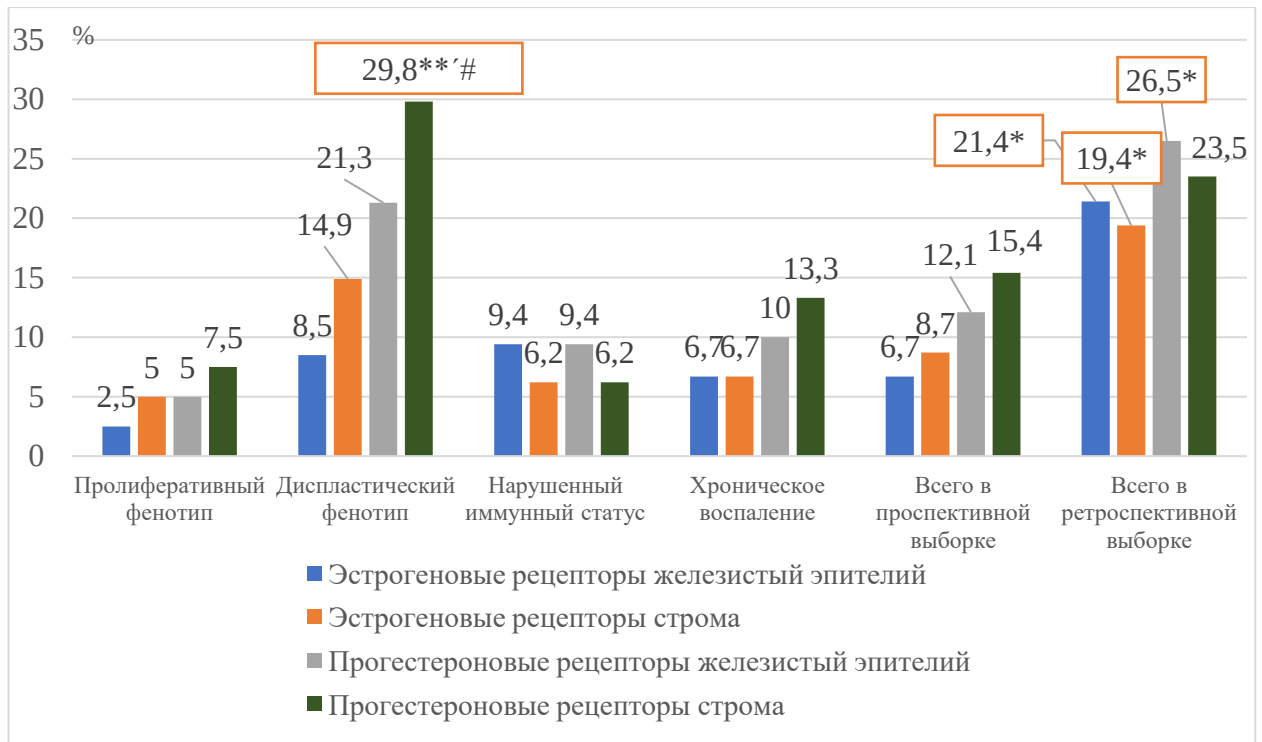
Персонализированный подход определил большую частоту рецептивного эндометрия – в 1,3 раза в сравнении с традиционным ($p=0,04$, $\chi^2=4,7$).

Динамика изменений рецептивности эндометрия после лечения представлена на Рисунках 94–95.



Примечание – различия статистически от диспластического фенотипа ($p<0,05$) *

Рисунок 94 – Частота нерецептивного эндометрия в группах после лечения



Примечание — различия статистически значимы в выборках ($p < 0,05$): *

для ER в эпителии желез: $p_{5-6} < 0,001$, $\chi^2 = 11,6$; в строме: $p_{5-6} = 0,015$, $\chi^2 = 5,9$;

для PR в эпителии: $p_{5-6} = 0,004$, $\chi^2 = 8,4$; в строме: ** – между диспластическим фенотипом и пролиферативным ($p_{1-2} = 0,009$, $\chi^2 = 6,8$) # – с нарушенным иммунным статусом ($p_{1-2} = 0,01$, $\chi^2 = 4,6$)

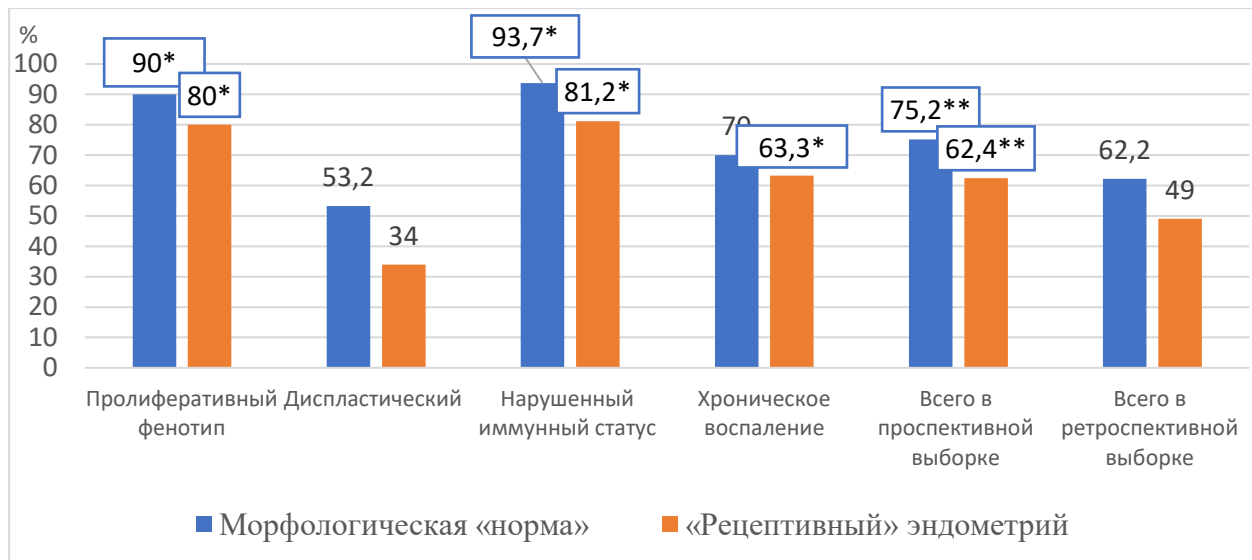
Рисунок 95 – Нарушение рецепторного профиля эндометрия после персонифицированного и традиционного курса лечения

Нарушение экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов после персонифицированной терапии достоверно преобладало при диспластическом фенотипе (66,0%, $p < 0,05$), в большей степени – к прогестерону: в эпителиоцитах маточных желез – в четыре раза, чем при пролиферативном ($p = 0,03$, $\chi^2 = 4,8$), в стромальном компартменте – в 4,4 раза ($p = 0,009$, $\chi^2 = 6,8$).

Варианты образцов эндометрия с аномальной экспрессией ER и PR в группах с нарушенным иммунным статусом и хроническим воспалением встречались с сопоставимой частотой. В проспективной выборке выявлено меньшее количество образцов эндометрия с нарушением рецептивности, чем в ретроспективной (51,0% против 37,6%). При детальном анализе определено снижение экспрессии ER в эпителиоцитах маточных желез – в три раза ($p < 0,001$,

$\chi^2=11,6$), в строме – в два раза ($p=0,01$, $\chi^2=5,9$), PR в железистом компартменте – в два раза ($p=0,004$, $\chi^2=8,4$).

Интегральные данные эффективности терапии оценивали на основании восстановления архитектоники до средней стадии фазы секреции и рецептивности эндометрия (Рисунок 96).



Примечание – ($p<0,05$) * – различия статистически от диспластического фенотипа, ** – с ретроспективной выборкой

для морфологической нормы: пролиферативный фенотип vs диспластический ($p<0,001$, $\chi^2=13,9$), диспластический vs нарушенный иммунный фенотип ($p<0,001$, $\chi^2=14,8$), нарушенный иммунный статус vs хроническое воспаление ($p=0,02$, $\chi^2=5,9$)

для рецептивного эндометрия: пролиферативный фенотип vs диспластический ($p<0,001$, $\chi^2=18,4$), диспластический vs нарушенный иммунный фенотип ($p<0,001$, $\chi^2=17,0$), диспластический vs нарушенный иммунный статус ($p=0,02$, $\chi^2=6,3$)

** для проспективной и ретроспективной выборок: для морфологической нормы ($p=0,03$, $\chi^2=4,7$), рецептивного эндометрия ($p=0,048$, $\chi^2=4,4$)

Рисунок 96 – Восстановление морфологической нормы и рецепторного профиля эндометрия

Критерии морфологически нормального эндометрия после лечения выявлены у большинства женщин с пролиферативным фенотипом (90,0%) и нарушенным иммунным статусом (93,7%), в 1,7 раза чаще, чем с диспластическим фенотипом ($p<0,05$) и в проспективной и ретроспективной выборках ($p=0,03$, $\chi^2=4,7$). Анализ рецептивности эндометрия показал меньшую частоту восстановления параметров в сравнении с морфологическими при сохранности

тенденций наилучших результатов при фенотипе нарушенного иммунного статуса и пролиферативном. В проспективной выборке частота рецептивного эндометрия была достоверно выше, чем в ретроспективной – в 1,3 раза ($p=0,048$, $\chi^2=4,4$).

Оценка эффективности патогенетической терапии заболеваний эндометрия, ассоциированных с повторными неудачами ЭКО, показала причины отсутствия эффекта при:

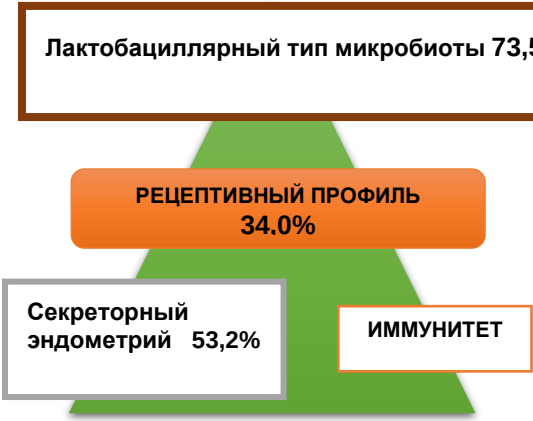
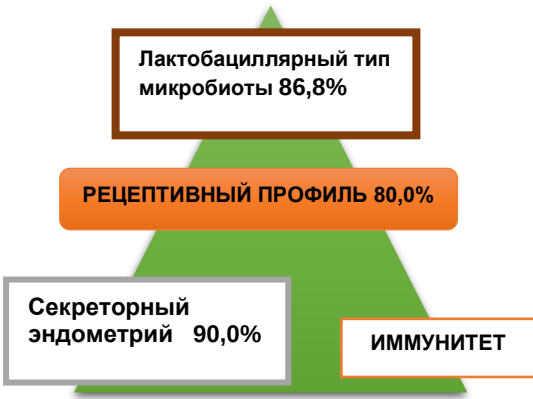
- диспластическом фенотипе и неоднократных неэффективных попытках ЭКО;
- аутоиммунном повреждении ткани (фенотип нарушенного иммунного статуса) после исключения асинхронного смещения «окна имплантации» эндометрия;
- хроническом воспалении и высоком уровне микробной контаминации в биотопах генитального тракта; дисбиотическом типе микробиоты эндометрия.

Перспективность стратегий лечения в этой выборке женщин полагаем возможным уточнить, используя оценку экспрессии маркеров локального иммунного профиля и рецептивности, персонифицированных для каждого фенотипа эндометрия:

- нарушенного иммунного статуса: GM-CSF и TNF- α в эпителиоцитах желез, TNF- α в строме, CXCL16 и VDR в железистом компартменте, HOXA11 в строме;
- диспластическом: TGF- β , VDR в эпителиоцитах желез/строме;
- хронического воспаления: GM-CSF в эпителиоцитах маточных желез, TNF- α в строме, BCA1 в эпителиоцитах желез, CXCL16 в обоих компартментах, VDR в эпителиоцитах желез;
- пролиферативного: GM-CSF и TNF- α в эпителиоцитах желез, HOXA11 в стромальном компартменте, VDR – в железистом.
- пролиферативного на фоне хронического воспаления: GM-CSF и CXCL16 в эпителиоцитах желез, HOXA11 в стромальном компартменте, VDR – в железистом.

Наглядные данные о биологических опциях восстановления резерва эндометрия, частоте и предполагаемых причинах неудач ЭКО, ЧНБ приведены в серии Рисунков 97–100.

Рисунок 97 – Восстановление резерва эндометрия при фенотипе нарушенного иммунного статуса	Отсутствие эффекта от лечения (n=6, 18,8%) предположительно обусловлено аутоиммунными процессами (показано обследование на генетические формы тромбофилии и антифосфолипидный синдром, аутоиммунные заболевания щитовидной железы. ЧНБ составила 46,9%.
Рисунок 98 – Восстановление резерва эндометрия при фенотипе хронического воспаления	Отсутствие эффекта от лечения (n=11, 36,7%) выявлено у женщин с неполной патоморфологической картиной ХЭ (n=5) (выраженный фиброз стромы и фибропластическая трансформация клеток стромы), контаминацией всех биотопов генитального тракта (n=3), дисбиотическим типом микробиоты матки (n=2). ЧНБ – 30,0%

 Рисунок 99 – Восстановление резерва эндометрия при диспластическом фенотипе	Отсутствие эффекта от лечения (n=31, 66,0%) отмечено у женщин с неоднократными неэффективными попытками ЭКО (три и более) (n=13). ЧНБ – 23,5%
 Рисунок 100 – Восстановление резерва эндометрия при пролиферативном фенотипе	Отсутствие эффекта от лечения (n=8, 20,0%) у женщин с вирусной инфекцией эндоцервикса (ВПЧ ВР/ВПГ2) связываем с показанием к исследованию вирома эндометрия. ЧНБ – 34,2%.

В Таблице 105 представлены данные об эффективности персонифицированной терапии при различных фенотипах эндометрия и исходах переноса эмбрионов в выборке женщин (n=97) с повторными неудачами ЭКО.

Таблица 105 – Исходы переноса эмбрионов в группах с эффектом от лечения

Группы/Фенотипы		N	Отсутствие эффекта от лечения	Частота имплантации	Частота наступления беременности	Роды
Пролиферативный	абс.	38	8 ²	21	13	12
	%		21,1	55,3	34,2	31,6
Диспластический	абс.	34	22 ³	10 ^{3,5}	8	8
	%		64,7	29,4	23,5	23,5
Нарушенный иммунный статус	абс.	32	6	22	15	12
	%		18,8	68,8	46,9	37,5
Хроническое воспаление	абс.	30	11	14	9	8
	%		36,7	46,7	30,0	26,7
Нормальный эндометрий	абс.	10	0	8	6	3
	%		0,0	80,0	60,0	30,0
Всего проспективная выборка	абс.	144	47 ⁷	75 ⁷	51 ⁷	43 ⁷
	%		32,6	52,1	35,4	29,9
Ретроспективная выборка	абс.	98	54	30	19	16
	%		55,1	30,6	19,4	16,3
			p 1-2 < 0,001 χ ² =14,1 p2-3 <0,001 χ ² = 14,2 p 6-7< 0,001 γ ² = 12.1	p2-3 = 0,002 χ ² = 10,2 p 2-5= 0,005 χ ² =8,2 p 6-7< 0,001 γ ² = 10.9	p 6-7= 0,007 χ ² = 7,3	p 6-7= 0,02 χ ² = 5,8

Обращает внимание наибольшая частота отсутствия эффекта от терапии, несмотря на персонифицированный подход, при диспластическом фенотипе – практически в три раза в сравнении с пролиферативным и фенотипом нарушенного иммунного статуса ($p < 0,05$). Достоверные различия в частоте имплантации выявлены при фенотипе нарушенного иммунного статуса и диспластическом – более чем в два раза ($p = 0,002$, $\chi^2 = 10,2$). Тенденция к превалированию ЧНБ и последующих родов отмечена при фенотипе нарушенного иммунного статуса, однако достоверных различий не было. В проспективной выборке отмечены статистически значимо большие показатели частоты имплантации, ЧНБ и родов, чем в ретроспективной ($p < 0,05$).

РЕЗЮМЕ

Мониторинг эффективности персонифицированной терапии фенотипов эндометрия показал различную частоту признаков заболеваний:

- при диспластическом: сокращение эхо–признаков: «тонкого» эндометрия – в полтора раза (100,0% против 61,7%), фиброза стромы (55,3% против 40,4%); при полной редукции внутриматочных синехий; восстановление сонографической «нормы» – 17,0%, визуальной (при гистероскопии) – 38,3%, морфологической – 53,2%, рецептивности – 34,0%;
- при пролиферативном: восстановление сонографической «нормы» – 95,0%, визуальной – 85,0%, морфологической – 90,0%, рецептивности – в 6,4 раза выше исходного показателя (12,5% против 80,0%, $p < 0,001$); сокращение контаминации отделяемого цервикального канала – практически в пять раз (40,0% против 7,5%, $p = 0,001$);
- при нарушенном иммунном статусе: сопоставимую частоту заключений о нормальном эндометрии при эхографии и гистероскопии (93,8%); восстановление морфологической нормы (93,7%), рецептивности эндометрия – практически в четыре раза (18,8% против 81,2%, $p = 0,005$); снижение показателя инфицирования отделяемого цервикального канала (34,4% против 9,4%, $p = 0,03$);
- при фенотипе хронического воспаления: восстановление сонографической нормы – 66,7%, визуальной – 50,0%; снижение частоты микрополипов (50,0% против 13,3%, $p = 0,003$), неравномерной толщины, гиперемии и отека (40,0% против 10,0%, $p = 0,008$); морфологической – 70,0%, рецептивности – 63,3%; сохранность стигм хронического воспаления – ($n=9$), 30,0%; сокращение эпизодов контаминации эндометрия: при дисбиотическом профиле (46,7% против 13,3%, $p = 0,01$) – в 3,5 раза, суммарно – в 2,4 раза (63,3% против 26,7%, $p = 0,009$); в сравнении с показателем до лечения – в 1,7 раза (39,6% против 23,5%, $p = 0,01$).

Эффект персонифицированной терапии доказывает большая частота восстановления морфологической нормы (75,2% против 62,2%, $p = 0,048$) и рецептивности – в 1,3 раза в сравнении с традиционной (62,4% против 49,0%, $p = 0,048$) и в шесть раз выше исходного показателя (10,1%, $p < 0,001$).

ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Бесплодие представляет сложное многофакторное заболевание, в 30,0% – с неуточненным генезом. Обсуждение проблемы повторных неудач ЭКО позволяет отметить «белые пятна» репродуктологии: потенциальная способность эндометрия к имплантации при ХЭ, ГЭ, ПЭ, ТПБ, НГЭ и «тонком» эндометрии с позиций научных трендов молекулярной биологии и иммунологии исследована недостаточно.

Современные представления о полноценной имплантации бластоцисты, основанные на скоординированной активности клеток эндометрия, их структурной и функциональной полноценности стали основанием перехода от морфологических критериев соответствия среднесекреторной фазе МЦ к изучению маркеров «программного обеспечения» «окна имплантации» [124, 405].

Прогрессу в понимании причин повторных неудач ЭКО при различных нозологических формах бесплодия способствовали данные о нарушении передачи сигналов и межмолекулярных взаимодействий, необходимых для адгезии и инвазии бластоцисты. Анализ причин примерно 60,0% неудачных попыток имплантации [124, 151] показал вовлеченность в процесс множества биологически активных субстанций: LIF, интегринов, молекул внеклеточного матрикса и адгезии, факторов роста и ионных каналов эндометрия и т.д., модулируемых эндокринной, паракринной и аутокринной системами [191, 244, 260].

Вектор научного интереса в области патофизиологии заболеваний эндометрия, ассоциированных с бесплодием, направлен в сторону изучения не только рецептивности [173, 276], но и иммунных характеристик «микроокружения», поиска маркеров прогнозирования вероятности имплантации. Десинхронизация молекулярных событий при диалоге бластоцисты и эндометрия может быть обусловлена нарушением реакций адгезии, иммуномодуляции и ангиогенеза, оксидативным стрессом [27, 64, 72].

Уникальному процессу имплантации способствуют специфические преобразования клеток локальной иммунной системы, определяющие формирование толерантности к бластоцисте/эмбриону [182]. Среди необъяснимых

случаев ПНИ весомую роль отводят нарушениям регуляции факторов иммунной системы эндометрия [378], функции цитокинов, участвующих в контроле миграции клеток, реакций врожденного и адаптивного «иммунного ответа». Механизмы иммунной реактивности эндометрия на воздействие экзогенного фактора, инфекцию (микробы и их метаболиты), травму или воспаление малоизучены [271, 273, 296, 354].

Обсуждается роль цитокинов в поддержании гомеостаза и патогенеза невосприимчивости эндометрия в период «окна имплантации», информативность оценки их экспрессии для мониторинга и прогрессирования заболевания [261, 370]. Представлены доказательства вклада в этиологию рецидивирующих спонтанных абортов дефектов количества или функции Treg [229]. Патогенетические особенности развития гетеротопий при НГЭ описаны детально (усиленный иммунно–воспалительный ответ, опосредованный нарушением эффектов взаимодействия прогестерона с PR, и механизмов выживания клеток [220]), в отличие от функционального фенотипа эутопического эндометрия при НГЭ. Причиной срыва иммунных механизмов контроля имплантации полагают ослабление компенсаторно–защитных ресурсов эндометрия [117, 213], однако противоречивость данных не позволяет создать карту «иммунного метаболизма» при повторных неудачах ЭКО. Сложности прогнозирования повторных неудач ЭКО объясняются отсутствием комплексного представления о гистопатических и молекулярных особенностях эндометрия женщин с различными нозологическими формами бесплодия, особенно в соотношении с вектором иммунных реакций и типом микробиоты.

Роль микробиоты в генезе нарушений имплантации при различных формах бесплодия остается неясной ввиду вариабельности данных о частоте инфицирования (от стерильных образцов до персистенции условно–патогенной флоры, вирусной–бактериальной) и типах эндометриальных реакций [353, 361, 365]. Молекулярно–биологические «события», приводящие к нарушению имплантации при ХЭ, остаются неуточненными, однако наряду с признанием роли

инфекционного триггера заболевания полагают значимой характеристику микрофлоры всех слизистых репродуктивного тракта [282].

В ряде исследований доминирует мнение о нарушении оптимальной для имплантации провоспалительной иммунной среды [160], однако роль микробиоты в реакциях взаимодействия системы «эндометрий–локальный иммунитет» практически не рассматривалась [385].

При ПНИ малоизучена причинно–следственная связь характеристик биотопов локусов генитального тракта с особенностями метаболизма эндометрия [240]. Представления о локальной системе иммунитета при ХЭ сводятся к констатации избытка провоспалительных цитокинов [25], в отсутствие анализа коррелятивности иммунного статуса и рецепторного профиля. Противоречивость данных о возможности излечения ХЭ и наступлении беременности объясняется отсутствием четких представлений о молекулярно–клеточном характере «повреждения» эндометрия, преобладающем типе иммунного реагирования, ограниченными возможностями традиционной микробиологической диагностики.

Внедрение метода секвенирования позволило уточнить данные о роли дисбаланса процессов пролиферации и апоптоза в развитии эндометриальной регуляции, их коррелятивности с типом микробиоты матки [341]. С неудачами имплантации и бесплодием связывают наличие эндотелиальной дисфункции, усиление перекисного окисления липидов и изменение активности антиоксидантных ферментов матки [349], однако маркеры иммунной реактивности на фоне оксидативного стресса практически не представлены.

Отсутствие концепции патогенеза повторных неудач ЭКО, раскрывающей механизмы формирования и взаимосвязи деструктивных процессов и клеточно–молекулярных «поломок» эндометрия препятствует эффективному восстановлению архитектоники.

Фибропластическая трансформация эндометрия является частью патогенеза повторных неудач имплантации, однако приводимые характеристики «тонкого» эндометрия и атрофической формы ХЭ противоречивы, не существует эффективных и доказанных методов их лечения, как и предикторов успешной

имплантации. Механизмы, способствующие про– и антифиброгенной активности эндометрия, практически не изучены. Обращает внимание отсутствие маркеров способности эндометрия к восстановлению нарушенных метаболических ресурсов, как и анализа перспективности предлагаемых лечебных стратегий.

Исследования последних лет показали влияние содержания в сыворотке крови витамина D [13] и экспрессии рецептора VDR на процесс имплантации и децидуализации [170, 258]. Сообщения о противовоспалительном и антипролиферативном эффекте 25(OH)D подтверждают его прогностический потенциал в изучении причин ПНИ [383]. Данные о роли генов гомеобокса NOX и кодируемых ими белков в формировании имплантационной неполноценности эндометрия при различных заболеваниях малочисленны и неоднозначны [158, 162].

Мнения о возможностях инструментальной диагностики заболеваний эндометрия, ассоциированных с повторными неудачами ЭКО, изобилуют контраверсиями, оспаривая формирование представлений о рецептивности на основании результатов сонографии, гистероскопии и гистологического исследования [151]. Решение проблемы повторных неудач ЭКО представляется в выявлении молекулярных «инструментов» прогнозирования имплантации и ранней диагностике ее нарушений при различном объеме «повреждений» эндометрия, с определением диапазона экспрессии молекул «фертильности» при рецептивном и нерецептивном профиле [271].

Среди контраверсионных фактов эффективности оценочных значений системы ERA следует обозначить необходимость уточнения причин нарушений рецептивности – от банального дисхроноза (пре– и пострецептивный эндометрий) до невосприимчивости, обусловленной дисфункцией [359].

Отсутствие «инструментов» персонафицированного подхода, определяющее эмпиричность лечения повторных неудач ЭКО – от гормональной терапии до средств с низкой доказательной базой, альтернативно выбору стратегий лечения различных фенотипов эндометрия.

Формирование представлений об особенностях децидуализированного и нерецептивного вариантов эндометрия, основанное на понимании молекулярной

биологии, представляется единственно оптимальным для разработки патогенетически обоснованного лечебного воздействия. Необходимо обобщение новых тенденций лечения неудач имплантации посредством «вмешательства» в рецептивность эндометрия [278] через коррекцию нарушений микробиома [240, 348], экспрессии регуляторных и структурных белков и антиоксидантного статуса [349].

Все вышеизложенное определило цель данной работы: повысить эффективность преодоления повторных неудач ЭКО, ассоциированных с нарушениями адаптационно–гомеостатических реакций эндометрия.

Перспективно обследованы 300 женщин с бесплодием, распределенные по группам в соответствии с представленными до текущего обращения результатами предшествующих исследований - БНГ (n=53), ТПБ (n=78), НГЭ I-II стадии (n=58), «тонкого» эндометрия (без ХЭ) (n=42) и ХЭ (n=69).

Дизайн научной работы предусматривал поиск клинико–анамнестических факторов риска, анализ результатов комплексного исследования эндометрия в период «окна имплантации» [сонография, гистероскопия, гистологическое исследование биоптатов с выделением морфотипов (пролиферативный, диспластический, хронический эндометрит, нормальный)]. Исследование рецептивности эндометрия (ER, PR, VDR, HOXA10 и HOXA11) и локального иммунного статуса [GM-CSF, TNF- α , IL-10, TGF- β 1, NRF2, CXCL16, BCA1 (хемокин 13)], маркеров пролиферации (Ki-67) и хронического воспаления (CD138+, CD4+, CD8+, HLA-DR) позволило сформировать представление об имплантационном потенциале и молекулярно–адаптационных фенотипах (пролиферативный, диспластический, с нарушенным иммунным статусом, хроническое воспаление, нормальный). В группах с фенотипами эндометрия изучали факторы риска и особенности рецепторного статуса в зависимости от типов микробиоты, перенесенных репродуктивно–значимых инфекций.

Итогом научно–исследовательской работы стала разработка прогностических моделей фенотипов и алгоритма ранней диагностики эндометриальных нарушений при повторных неудачах ЭКО. Сравнительный

анализ эффективности персонифицированной и традиционной терапии при ведении контингента женщин с повторными неудачами ЭКО предусматривал использование данных ретроспективной выборки.

Средний возраст женщин выборки составил $32,4 \pm 0,5$ года, без достоверных межгрупповых различий. В возрастной категории 35–40 лет, рассматриваемой в литературе как прогностически неблагоприятной в отношении исходов беременности [167], достоверно преобладали респондентки с БНГ, «тонким» эндометрием и ХЭ в сравнении с НГЭ. Первичное бесплодие преобладало в группе с БНГ, достоверно чаще (60,4%), чем в остальных (25,6% при ТПБ, НГЭ, ХЭ) ($p < 0,05$), вторичное – с «тонким» эндометрием (92,9%), в 1,3 раза в сравнении с ХЭ ($p = 0,02$) и ТПБ ($p = 0,002$). Кратность неэффективных попыток ЭКО в выборке женщин была представлена: единственной – у 59,1%, двумя – в группе с БНГ втрое чаще, чем с НГЭ (24,5% против 8,6%, $p = 0,02$), тремя – при НГЭ и ХЭ в 2,4 раза чаще, чем с «тонким» эндометрием (33,9% против 14,3%, $p < 0,05$).

Детальное исследование анамнеза женщин с повторными неудачами ЭКО позволяет уточнить метаболическую ресурсность организма, определяющую характер иммунного ответа после перенесенных заболеваний и вмешательств. Сравнительный анализ показал преимущественную сопоставимость женщин всех групп по основным клинико–анамнестическим факторам риска. Высокая частота хронических заболеваний в группе с ХЭ [органов пищеварительной системы (40,6%), репродуктивной сферы – сальпингоофорит (56,5%), ИППП (40,6%), доброкачественные заболевания шейки матки (53,6%)] отражает снижение адаптационного потенциала организма, особенно защитных барьеров в различных отделах генитального тракта. Взаимосвязь микробиоты кишечника и половых путей как сложных экосистем, взаимно влияющих на метаболизм и иммунные реакции организма, также представлена другими авторами [111, 321]. Полагаем, в группе с ТПБ следствием высокой частоты болезней мочеполовой системы (37,2%), хронического сальпингоофорита (56,4%), ХЭ (20,5%), рецидивирующих вагинитов (43,6%) и ИППП (48,7%) являются стойкие нарушения урогенитального биоценоза, локальных иммунных и эндокринно–метаболических реакций.

Наличие факторов риска, особенно хронических ВЗОМТ, высокий уровень инфекционно–воспалительных заболеваний в сочетании с выбором малоэффективной контрацепции (прерванный половой акт, 47,4%) информативно в аспекте поражения не только маточных труб (воспаление, фиброз, рубцевание), но и эндометрия.

Отсутствие очевидных клинико–анамнестических факторов риска поражения эндометрия женщин с БНГ (умеренная менструальная кровопотеря у 84,9%) при первичном бесплодии (60,4%) делает обоснованным поиск «тонких поломок» реализации эффектов половых стероидных гормонов и их медиаторов в период «окна имплантации». Формирование «тонкого» эндометрия в группе со скудными менструальными выделениями (21,4%), вторичным бесплодием (92,9%) длительностью более двух лет (66,7%), отказом от контрацепции (47,6%) представляется исходом хронической «травмы» и неоднократных внутриматочных вмешательств. Повышенный пролиферативный потенциал эндометрия женщин с НГЭ подтверждает наличие в анамнезе ГЭ (37,9%), поражения эпителия шейки матки ВПЧ [ПЦР–данные и косвенные признаки по результатам кольпоскопии (32,8%)]. Достоверное превалирование контаминации биотопов женщин с ХЭ [влагалища (62,3%), цервикального канала (60,9%), эндометрия (55,1%)] позволяет утверждать о ведущей в генезе заболевания роли дисбаланса микробиома, аналогично данным других авторов [51, 93].

Большее микробное разнообразие в отделяемом влагалища по результатам теста «Фемофлор–16» (79,0%) в сравнении с бактериоскопией (62,3%) не только подтверждает эффективность методики секвенирования биоматериала, но и позволяет по–новому оценить влияние дисбиоза влагалища на «экологическое благополучие» верхних отделов репродуктивной системы, указывая на необходимость коррекции выявленных нарушений [106].

Вероятно, развитие дисбиоза с возрастанием титра условно–патогенных представителей, одновременная контаминация нескольких отделов генитального тракта [влагалище и эндометрий (34,8%), эндоцервикс (ВПЧ ВР) и эндометрий (37,7%)] влияют на возрастание активности факторов локального иммунитета.

Высокий индекс контаминации биотопов в группе с ТПБ [влагалища (62,8%, по данным теста Фемофлор–16 – 59,0%) – цервикального канала (56,4%) – эндометрия (38,5%)] предполагает нарушение барьерных функций слизистых и усиление адаптивного иммунного ответа. Одновременное изменение видового состава биотопов [влагалища и эндометрия (24,4%), цервикального канала и эндометрия (28,2%)] может оказывать негативное влияние на фертильность только при дисбалансе иммунной реактивности на фоне продукции микробных антигенов/метаболитов и нарушения энергетического обеспечения слизистых оболочек.

Женщин с БНГ отличала сохранность (нормоценоз) микроэкологии биотопов: влагалища – 64,2% (по Фемофлор–16 – 79,0%), отделяемого цервикального канала (66,0%) и эндометрия (86,8%). Выявление микро-/уреаплазменной инфекции (33,3%), ВПГ2 (27,8%) в группе можно рассматривать как диагностическое «упущение», требующее комплексного предшествующего анализа. Вероятность развития ХЭ в группе с НГЭ следует рассматривать, исходя из констатации нарушений микробиоты влагалища (51,7%, по данным теста Фемофлор–16 – 60,0%), контаминации отделяемого цервикального канала – 58,6%, эндометрия – 31,0%. Дисбиотические отклонения в биотопах генитального тракта [влагалище и эндометрий (25,9%), эндоцервикс и эндометрий (25,9%)] указывают на нарушение защитных механизмов и барьерной функции поврежденного эпителия.

В группе с «тонким» эндометрием уровень микробной контаминации биотопов оказался достоверно ниже, чем в других: влагалища – половины женщин по данным теста Фемофлор–16 (при бактериоскопии – 28,6%), вышележащих отделов – трети, отделяемого цервикального канала и эндометрия – 23,8%.

Анализ возможности прогнозирования имплантационной «несостоятельности» морфологической структуры и молекулярного профиля эндометрия на основании базовых методов исследования представлен ниже. Эхографический скрининг эндометрия в группах оказался информативен при градации параметров толщины и структуры по типам, обозначенным как «норма»,

диспластический, пролиферативный и ассоциированный с хроническим воспалением.

Эхопризнаки пролиферативного типа эндометрия (ПЭ, ГЭ) в группах встречались сопоставимо часто. Маркеры хронического воспаления в группе с ХЭ отмечали вдвое чаще, чем при ТПБ (73,9% против 35,8%) за счет доминантного признака – неоднородности М-эхо (58,0% против 26,9%). Преобладание сонографических стигм истончения эндометрия (<7мм) в период «окна имплантации» (100,0%), гиперэхогенных включений в базальном слое (47,6%) при низкой частоте внутриматочных синехий (7,1%) формировали выборку с диспластическим эхо-типом. Эффективность градации эхографических признаков подтверждают высокие значения чувствительности и специфичности: при диспластическом типе – 100,0% и 69,0%, визуальной «норме» – 76,0% и 84,0%, пролиферативном – 64,0% и 76,0%, ХЭ – несколько выше (соответственно 96,0% и 96,0%), чем в исследовании Шуршалиной А.В. (78,1% и 82,2%) [93].

Большую точность формирования представлений о типе эндометриального «ответа» подтверждает сопоставление эхографических данных с результатами гистероскопии. Градацию визуальных признаков (толщины, окраски и структуры слизистой матки, выраженности сосудистого рисунка) осуществляли с выделением вариантов, модифицированных в сравнении с ранее обозначенными макротипами (гипо-, гиперпластический, смешанный) [65]. Констатация пролиферативного типа базировалась на выявлении преимущественно очаговых «разрастаний» эндометрия. Маркеры диспластического типа отмечены не только при хроническом воспалении (у четверти женщин с ХЭ и ТПБ), но и пластическом дефиците ткани [истончение и бледность (52,4%), синехии (11,9%)] в группе с «тонким» эндометрием. Особенности эндометрия, соответствующие ХЭ (микрополипы, очаговая/диффузная гиперемия, отек стромы, геморрагические пятна), при гистероскопии выявляли с высокой достоверностью (чувствительность – 100,0%, специфичность – 84,0%), что лишь отчасти соответствовало данным других авторов (соответственно 86,4% и 87,3%) [316] при высокой диагностической точности (соответственно 90,0% и 93,4%) [153].

Микрополипы эндометрия, представленные ранее как маркеры воспаления [246], в выборке на фоне отека стромы и гиперемии встречались у трети женщин с ХЭ, достоверно реже – в остальных группах.

Ввиду полученных данных о дискордантности гистероскопических признаков (гиперемия и отек) с истинным хроническим воспалением, именно наличие микрополипов может подтверждать ХЭ в отличие от транзиторного состояния «нарушенного воспалительного состояния», генез которого может быть различен [181]. Так, несоответствие патоморфологических признаков ХЭ гистероскопическим приведено в исследовании Богдановой А.М. [8] (87,5% от заявленных 63,3%) и Cicinelli E. et al. [314]. Отсутствие признаков воспаления при микрополипах эндометрия было основанием для констатации изменений, характерных для пролиферативного типа, и необходимости исследования молекулярного профиля и вирусной контаминации отделов генитального тракта.

Выявленная связь клинико–анамнестических факторов с визуальными типами эндометрия расценена нами как возможность повышения точности заключений: при диспластическом – с многократными внутриматочными вмешательствами, трудностью визуализации базальных артерий матки, пролиферативном – бактериальной контаминацией отделяемого цервикального канала / в сочетании с рецидивами БВ, носительством ВПЧ ВР, наличием в анамнезе лейкоплакии шейки матки/CIN I, II на фоне вирусной «нагрузки». Подобные утверждения согласуются с данными о возможности прогнозирования дистрофически–атрофических изменений эндометрия на основании несимметричности васкуляризации, возрастания IR спиральных, радиальных и базальных маточных артерий после острых воспалительных процессов и травм эндометрия [8]. Данные о нарушении перфузии матки (снижение конечной диастолической скорости в маточных артериях) при истончении эндометрия менее 7 мм представлены в исследовании Д.М. Белоусова [7].

Отсутствие морфологического подтверждения фибропластической трансформации стромы у 28,6% женщин с «тонким» эндометрием (при сонографической констатации диспластического типа в 33,3% и 26,4% – в группе с

БНГ) позволяет предполагать очаговый склероз стромы и сосудов, как и необходимость уточнения сложного генеза данного сонографического «концепта». Перспективы данной категории женщин в преодолении неудач имплантации среди прочих с диспластическим типом эндометрия представляются наибольшими.

Вероятность ложной констатации изменений эндометрия по диспластическому типу при гистероскопии (гипердиагностика – 13,2% при БНГ, гипо– – 7,8% при НГЭ и «тонком» эндометрии) подтверждает более высокая, в сравнении с эхографией специфичность (87,0% против 69,0%).

Высокую эффективность визуализации признаков пролиферативного типа (чувствительность – 100,0%, специфичность – 84,0%) доказывает низкая частота ложноположительных заключений (6,1% против 14,5% при ХЭ при сонографии) и отсутствие «упущений» (только при сонографии – 15,6%).

Погрешности определения хронического воспаления эндометрия оказались эхографически минимальны (8,8%) при гиперболизации визуальных паттернов в 31,9%, вероятной причиной которых полагаем выраженность проявлений воспаления.

При описании патоморфологических признаков ХЭ (у 68,1% женщин одноименной группы, 20,7% – НГЭ, 9,4% – БНГ, 38,5% – ТПБ) следует отметить вариант полной картины ХЭ (31,9%) и неполной [36,2% – за счет ХЭ диспластического типа – 31,9% и с лимфоидными фолликулярными инфильтратами (4,3%)]. Подобные наблюдения соответствуют заключениям других авторов [35, 82, 85].

Визуальная картина гиперемии, отека стромы и микрополипов эндометрия чаще соответствовала диффузной инфильтрации стромы лимфоцитами, плазмócитами, макрофагами и плазмócитами с рассеянной экспрессией маркера CD138+ и патологической инверсией индекса CD8+> CD4+. Признаки, интерпретируемые при гистероскопии как хроническое воспаление (100,0%), патоморфологически не были подтверждены у 31,9% женщин. Этот факт заставляет задуматься о ложно завышенной частоте ХЭ при констатации только отека и гиперемии при стерильных образцах биоптатов эндометрия.

Утверждение об эндометрите аутоиммунного типа при гиперэкспрессии маркера HLA–DR [88], выявляемой достоверно чаще при организованных в крупные фолликулы лимфоидных скоплениях (4,3%), полагаем следствием нарушенного иммунного ответа при персистирующем воспалительном процессе. Эти данные согласуются с другими наблюдениями [32], однако визуальная картина неравномерного утолщения отечной и гиперемированной слизистой матки формирует ошибочное впечатление о развитии на фоне ХЭ полиповидных образований. Истинная частота сочетания ХЭ с ПЭ/ГЭ составила 23,2%.

Сочетание ХЭ с выраженной фибропластической трансформацией и склерозом стромы встречалось реже (31,9%), чем указано авторами (46,3%), отметившими вероятность рецидива синехий на фоне воспаления [352]. Диагностика диспластического типа воспаления была наиболее затруднительна: морфологическая констатация (31,9%) превосходила визуальную [истончение и бледность слизистой, точечные кровоизлияния (27,5%)], низкая выявляемость на фоне выраженного фиброза стромы маркера CD138+ определяла необходимость окраски биоптатов по Маллори и исследования молекулярного профиля эндометрия.

Примечательны результаты соотношения морфологической «нормы» эндометрия с молекулярно–биологическим потенциалом, необходимым для имплантации бластоцисты. Анализ патоморфологических особенностей эндометрия показал наличие образцов с дисхронизмом у трети женщин с ТПБ и БНГ (37,4%), половины – с ХЭ, 78,6% – с «тонким» эндометрием. Частота ХЭ у женщин с НГЭ (20,7%) уступала данным других авторов (52,9%) [343], однако позволяла уточнить истинную причину бесплодия. Среди вариантов несоответствия эндометрия периоду МЦ выделялась категория с гипопластически–диспластическим типом (66,7% женщин с «тонким» эндометрием, каждая пятая – с ХЭ, достоверно реже – в остальных группах). Очевидно, возможность оценки полноценного спонтанного «дозревания» эндометрия в образцах с поздней стадией фазы пролиферации и ранней стадией фазы секреции достигается при мониторинге – морфологическом и ИГХ.

Наше исследование позволяет утверждать, что весомая и недооцененная роль в прогнозировании полноценной секреторной трансформации эндометрия в период «окна имплантации» обусловлена состоянием биотопов генитального тракта. При патоморфологической верификации ХЭ в 68,1% частота микробной контаминации эндометрия (55,1%) оказалась ниже, чем влагалища (62,3%) и отделяемого цервикального канала (60,9%), что согласуется с результатами других исследований [314]. Сравнительный анализ показал наименьшую частоту контаминации эндометрия в сравнении с нижними отделами половых путей в группе с БНГ – практически в три раза (13,2% против трети), сопоставимую – в биотопах женщин с «тонким» эндометрием (соответственно влагалище – 28,6%, эндоцервикс – 38,1%, эндометрий – 31,0%). В группе с ТПБ инфицирование эндометрия представителями условно-патогенной флоры в значимых титрах встречалось в полтора раза реже, чем влагалища (62,8%) и отделяемого цервикального канала (56,4%). Выявленные нами корреляции статуса эндометрия как патоморфологически «зрелого» при лактобациллярном типе микробиоты и, напротив, дисхронизма желез при дисбиотическом профиле подтверждают мнение о влиянии характеристик биоценоза на архитектуру через регуляцию последовательности генетических и эпигенетических изменений [280]. Следовательно, обосновано заключение о детерминированности нарушений функции эндометрия в период «окна имплантации» особенностями рецепторного статуса и типом микробиоты эндометрия.

Результаты нашего исследования показали неоднородную иммунную реактивность эндометрия, не только меж-, но и внутригрупповую, что подтверждает приоритет «тонких поломок» эндометрия как причины бесплодия, что отчасти согласуется с мнением авторов [358, 372], изучавших механизмы нарушения имплантации, и объясняют неэффективность терапии и предыдущих попыток ЭКО. Выявление особенностей локального иммунитета в период «окна имплантации» позволяет расширить представления о патогенезе нарушений и связанной с ними нереализуемой функции фертильности с выделением вариантов

адаптационно–гомеостатических реакций эндометрия (фенотипов), с учетом визуального типа (гистероскопия) и морфологического статуса.

ИГХ варианты иммунного профиля, обозначенные нами в группах как фенотипы (БНГ – нарушенного иммунного статуса, диспластический; ТПБ – пролиферативный, хронического воспаления, нормального эндометрия, идентичный таковому в группе сравнения, диспластический, нарушенного иммунного статуса; НГЭ – нарушенного иммунного статуса и пролиферативный; ХЭ – воспаления, пролиферативный, сочетание хронического воспаления с ПЭ, диспластический; «тонким» эндометрием – диспластический) были сгруппированы по однотипному профилю.

7.1 Фенотип секреторного (нормального) эндометрия

Молекулярный фенотип нормального эндометрия в период «окна имплантации» представлен сбалансированной продукцией про– и противовоспалительных цитокинов, хемокинов и факторов роста. Полученные в работе данные подтверждают роль секретов эндометрия как регуляторов инвазии трофобласта и ремоделирования спиральных артерий. Умеренное возрастание TNF–а полагают критическим индуктором экспрессии молекул, опосредованно влияющих на дифференцировку и развитие трофобласта, формирование эмбрио–материнской иммунной толерантности [375]. Контролируемое «иммунное воспаление» в период «окна имплантации» сопряжено не только с процессами децидуализации и трансформации эндометрия в рецептивное состояние, но и вкладом клеток Th17 в защиту от внеклеточных патогенов [366]. После имплантации иммунная толерантность поддерживается за счет подавления клоном Treg цитотоксических Т–клеток, Th1–кластера, макрофагов, ДК и NK–клеток [229]. Нивелирование молекулярно–биологических эффектов провоспалительного «микроокружения» полагаем следствием благоприятного влияния на перфузию и рецептивность эндометрия умеренной экспрессии цитокина IL–10.

Обосновано утверждение о формировании рецептивного эндометрия в присутствии равновесной экспрессии подтипов Th1–провоспалительных и Treg – регуляторных клеток и эубиотичного (лактобациллярного) профиля микробиоты.

Наши результаты указывают на вовлеченность в регуляцию имплантации доминантного биотопа *Lactobacillus* spp., модулирующего функцию клеток эндометрия, в том числе, иммунокомпетентных. Преобладание лактобациллярного типа эндометрия (100,0%) у женщин с полноценной секреторной фазой позволяет утверждать об адекватном ремоделировании эндометрия в период «окна имплантации». Наше предположение о роли микробного гомеостаза на формирование устойчивости к колонизации эндометрия условно–патогенной флорой базируется на данных о влиянии микробиоты на экспрессию генов, опосредующих адекватную фазе МЦ активность рецепторов стероидных половых гормонов [122, 312].

Выявленные особенности рецепторного профиля при нормальном фенотипе эндометрия согласуются с данными, что регулируемое прогестероном снижение ER α в середине секреторной фазы – критически необходимое событие для экспрессии определенных генов [288]. Результаты наших исследований расширяют представления об иммунной опосредованности локальных эффектов половых стероидных гормонов и демонстрируют патогенетическую связь влияния иммунных реакций, модулируемых активностью цитокинов, факторов роста, хемокинов, на обретение эндометрием рецептивного статуса. Генерация умеренной воспалительной реакции и рекрутирования иммунных клеток для формирования материнской толерантности обусловлена дифференцировкой под влиянием прогестерона Th–2–ориентированных лимфоцитов [340].

Выявленное преобладание у женщин с фенотипом нормального эндометрия адекватного уровня витамина D в сыворотке крови позволяет предположить, что влияние интерфейса «витамин D–VDR» на эндометрий в период «окна имплантации» опосредуется через поддержание оптимальной для децидуализации и имплантации воспалительной иммунной реакции. Анализ взаимосвязи адекватного содержания 25(OH)D и сбалансированной экспрессии VDR, рецепторов половых стероидных гормонов и факторов локального иммунитета подтверждает роль метаболического гомеостаза эндометрия для полноценного обеспечения имплантации бластоцисты. В работах других авторов лишь отчасти

раскрыто влияние оптимального уровня витамина D на передачу сигнальных каскадов с целью поддержания эффекторных противовоспалительных функций клона Treg [241] и полноценной секреторной трансформации эндометрия.

Вероятно, интерфейс «витамин D–VDR» участвует в реализации не только эффекторных функций Treg–противовоспалительного клона [398], но и антипролиферативного влияния, наибольшего в сравнении с ранней секреторной фазой, что доказывает обратная корреляционная связь между реализацией сигнала PR и экспрессией VDR ($r=-0,53$, $p<0,05$).

Обнаруженные нами ассоциативные связи в железистом компартменте эндометрия подтверждают реализацию умеренного пролиферативного потенциала GM–CSF при умеренной экспрессии защитного цитокина IL–10 ($r=0,5$) и в отсутствие избыточной активности хемокина CXCL16 ($r=-0,47$). Выявлена обратная связь между реализацией эффекта PR и экспрессией VDR ($r=-0,53$) как доказательство патогенетически значимого для секреторных преобразований эндометрия прогестероноподобного влияния рецептора 25(OH)D [3], прямая – NRF2 и ER ($r=0,49$), указывающая на антиоксидантную активность эстрогенового сигнала [197]. Анализ корреляционных связей в строме эндометрия показывает, что молекулярно–биологические взаимодействия факторов в период «окна имплантации» достигаются балансом экспрессии ER и PR ($r=0,49$), PR и хемокина CXCL16 ($r=0,43$), TNF– α и IL–10 ($r=0,45$).

Показатель зрелых пиноподий при данном фенотипе в период «окна имплантации» (70,0%) не противоречил аналогичной тенденции у фертильных женщин в других исследованиях (71,4%) [43].

Выявленные особенности нормального фенотипа эндометрия подтверждает его имплантационную «компетентность» при рецептивном профиле (ER/PR=2,1), кофакторах рецептивности, сбалансированном составе субпопуляций лейкоцитов и их функциональной активности, лактобациллярном типе микробиоты. Резюмируя, секреторный фенотип обусловлен сохранным резервом эндометрия, определяемым полноценностью тригона «ткань–микробиота–локальный иммунитет», составляющими которого являются морфологическая и

ультраструктурная зрелость ткани (зрелые пиноподии) при лактобациллярном типе микробиоты и умеренной иммунной воспалительной реакции.

7.2 Фенотип нарушенного иммунного статуса

Формирование выборки женщин с данным фенотипом основано на результатах экспрессии в эндометрии маркеров, указывающих на дисрегуляцию иммунной системы в период «окна имплантации». Клинические факторы риска фенотипа – первичное бесплодие (62,5%), выявляемое в два раза чаще, чем в остальных группах (30,6%), рецидивирующие бактериальные вагинозы (43,8%) – в четыре раза чаще, чем с пролиферативным и фенотипом нормального эндометрия (10,8%).

Особенности фенотипа указывали на преимущественное отсутствие визуальных изменений эндометрия в 81,2% – при сонографии, 75,0% – гистероскопии и всех образцах при патоморфологическом исследовании (100,0%). Различия заключений (соответственно в 18,8% и 25,0%) связывали с «неравномерной толщиной» эндометрия. Несоответствие патоморфологической зрелости эндометрия молекулярной (нерецептивный при констатации средней стадии фазы секреции) у 21,9% всех женщин указывает на критичность исследования маркеров, особенно в протоколах ЭКО для синхронизации с развивающимся эмбрионом. Параметры нерецептивного эндометрия обусловлены незначительно повышенной экспрессией в эпителиоцитах желез экспрессии ER, умеренным – PR (в 1,4 раза). Неспособность эндометрия к принятию бластоцисты при рецепторном индексе ER/PR=2,1, аналогично таковому в группе сравнения, полагаем следствием молекулярного профиля нарушенного иммунного статуса [28].

Нарушение процесса децидуализации эндометрия, включающее перепрограммирование клеток, ремоделирование ткани, изменение экспрессии генов и посттрансляционной регуляции и сигнальных путей обусловлено аномальной модуляцией иммунных реакций, что отчасти было показано ранее [281].

Соотношение молекулярных медиаторов и эффекторов локального микроокружения [более низкая, чем в группе морфологического контроля экспрессия маркеров в железистом компартменте эндометрия (GM-CSF, BCA1, CXCL16 – в 1,4 раза, TNF- α – в 1,3 раза, IL-10 – в 1,2 раза) и стромальном (GM-CSF, TNF- α , CXCL16 – в 1,3 раза, IL-10 – в 1,2 раза)] подтверждает причастность данного иммунного паттерна к изменению передачи сигнала рецепторам стероидных гормонов. Дисбаланс цитокиновых каскадов эндометрия, отсутствие провоспалительного Th1-сдвига и хемоаттракции специфических субпопуляций лейкоцитов нарушает способность клеток стромы к дифференциации в высокоспециализированные и реализации иммуномодулирующих эффектов стероидных гормонов. Общность нарушений функциональной активности популяций иммунокомпетентных клеток эндометрия при различном профиле (81,2% – нерцептивный, 18,8% – респонсивный) формирует порочный круг метаболической иммунно-гормональной дисрегуляции. Патогенетическую значимость механизма неудач имплантации, основанного на дезадаптивных изменениях эндометрия вследствие нарушений количества и соотношения субпопуляций лимфоцитов с развитием селективного дефицита вторичных мессенджеров и деактивации нижестоящих сигнальных путей, при адекватной концентрации прогестерона отчасти подтверждают другие данные [211]. Связь изменений иммунного статуса эндометрия с неудачами имплантации в других источниках представлена с акцентом на снижение продукции прогестерон-индуцированного блокирующего фактора (progesterone-induced blocking factor, PIBF) в секреторном эндометрии [405] и NK в сыворотке крови и децидуальной оболочке, количества и функции Treg-клеток [199], однако не включает анализ рецепторного профиля и кофакторов.

Некоторое усиление экспрессии индуктора антиоксидантного блока NRF2 в эпителиоцитах маточных желез полагаем компенсаторным с целью энергообеспечения иммунных реакций.

Преобладание диффузного типа распределения VDR подтверждает структурную целостность эндометрия, однако возрастание экспрессии маркера в

отличие от группы сравнения считаем звеном патогенеза нарушения стероид–зависимого межмолекулярного взаимодействия в период «окна имплантации». Представления о взаимосвязи недостатка 25(OH)D в период «окна имплантации» (75,0%) с дисбалансом Th1/Th2 и срывом локальных эффектов регуляции В–звена иммунитета и NK–клеток обоснованы иммуномодулирующими эффектами витамина, опосредующими децидуализацию эндометрия [125]. Несостоятельность специфического иммунного ответа детерминирована деактивацией комплекса «VDR–локальный 1,25–дигидроксивитамин», ответственного за регуляцию экспрессии генов и межклеточную сигнализацию в период «окна имплантации».

Возрастание экспрессии NOXA11 при данном фенотипе в отличие от группы сравнения ($p < 0,001$) следует рассматривать как причину изменения экспрессии генов и метилирования ДНК, что согласуется с мнением других авторов [362]. При исследовании продукции NOXA10 межгрупповых различий женщин с бесплодием и здоровых фертильных не выявлено.

Преобладание пиноподий созревающего типа практически в два раза (71,9%) в сравнении с пролиферативным и нормальным эндометрием (32,1%) расценивалось как особенность архитектоники фенотипа нарушенного иммунного статуса. Мониторинг развития созревающих пиноподий (ЛГ5+/ЛГ7+) ($n=17$) показал обусловленность феномена нарушенного иммунного статуса у 65,4% женщин асинхронным «окном имплантации». Выявленные корреляционные связи подтверждают дисбаланс иммунных механизмов регуляции процесса имплантации на фоне отсутствия адекватного асептического иммунного воспаления и дефектной децидуализации на фоне резистентности PR и его неспособности противодействия индуцированной эстрадиолом пролиферации.

Опосредованность нарушений рецепторного статуса эндометрия в период «имплантационного окна» иммунными реакциями подтверждает положительная корреляция экспрессии в железистом компартменте VDR и PR ($r=0,45$), в строме – NRF2 и NOXA11 ($r=0,43$). Отрицательная взаимосвязь между CXCL16 и PR ($r=-0,44$) указывает на реципрокность процесса децидуализации эндометрия и умеренной хемоаттракции антигенпрезентирующих клеток, NRF2 и VDR ($r=-0,53$)

– подавление антиоксидантного эффекта при возрастании пролиферативного потенциала.

Отличием фенотипа выступало преобладание лактобациллярного типа микробиоты эндометрия (81,2%) – в полтора раза, чем при диспластическом ($p=0,015$), практически в два раза – с хроническим воспалением ($p<0,001$), которое указывало на высокий функциональный резерв ткани с позиций адаптивного иммунного ответа. Выявленные нами закономерности обосновывают роль типа микробиоты эндометрия как патогенетически значимой в реализации процесса имплантации, что отличается от источников с банальной констатацией взаимосвязи нелактобациллярного пула с неудачами имплантации [202]. Нами постулируется, что вклад в стероид–опосредованную индукцию сигнальных путей асептического воспаления и механизма Treg–опосредованной иммунной толерантности периода «окна имплантации», лактобациллярного типа микробиоты эндометрия равноценен, причем регуляторная роль заключается в метаболическом «обеспечении».

Вариабельность «рецептивного» статуса эндометрия при лактобациллярном пуле [рецептивный (31,2%) и нерецептивный профиль (50,0%)] подтверждает сложный механизм взаимодействия локального иммунитета и микробиоты. Направленность противоречивых эффектов, вероятно, объясняется концентрацией лигандов рецепторов, особенностями рецепторного аппарата и причиной сдвига «окна имплантации».

Вероятно, отсутствие в период «окна имплантации» адекватного воспаления, индуктора рекрутирования иммунных клеток, неоваскуляризации и дифференцировки стволовых клеток соотносится с подавлением устойчивости эндометрия к стрессорным молекулярным сигналам.

Мониторинг развития пиноподий (периоды ЛГ5+/ЛГ7+, $n=17$) в выборке с созревающим типом ($n=23$, 71,9%) подтвердил возможность раскрытия сути феномена «нарушенного иммунного статуса» и причин смещения окна имплантации. Выявленные в ходе мониторинга механизмы формирования фенотипа – асинхронное (65,4%) и патологическое смещение «окна имплантации»

(34,6%) доказывают клиническую ценность персонализированной оценки экспрессии молекулярных сигнатур эндометрия [120]. Полученные результаты не противоречат данным о нарушении экспрессии генов вследствие смещения «окна имплантации» при ПНИ и «тонком» эндометрии [277], однако раскрывают более сложный генез дизрегуляции внутриклеточного метаболизма и внеклеточных взаимодействий – «клетка–клетка» и «клетка–микроорганизм».

Резюмируя вышесказанное, патогенез фенотипа обусловлен снижением экспрессии иммунных маркеров и нерецептивным профилем эндометрия (ранней экспрессией PR), что на фоне сохранного резерва [средняя стадия фазы секреции (59,4%) и лактобациллярный тип микробиоты (81,2%)] допускает не только патологическое (34,6%), но и асинхронное (65,4%) смещение «окна имплантации», подтверждаемое выбором другого дня переноса эмбриона после мониторинга развития пиноподий.

Использование прогностического моделирования показало высокую точность рассчитанных пороговых значений маркеров фенотипа: GM–CSF, CXCL16, VDR – в железистом компартменте, TNF–а в обоих компартментах, НОМА 11 – в строме при благоприятном индексе ER/PR.

Эффективность используемых лечебных стратегий при данном фенотипе доказывает восстановление морфологической «нормы» (93,7%), рецептивности эндометрия с 18,8% до 81,2%.

7.3 Диспластический фенотип эндометрия

Морфологическую основу диспластического фенотипа эндометрия составляли дистрофически–атрофические изменения: гипопластически–диспластический тип с асинхронностью созревания и нарушением распределения желез, очагами уплотнения стромы в период «окна имплантации» у 66,7% женщин с «тонким» эндометрием, каждой пятой – с ХЭ, 9,3% – с НГЭ, БНГ, ТПБ.

Среди сонографических стигм, определяющих диспластическую «несостоятельность» эндометрия, преобладало истончение (100,0%), фиброз стромы/гиперэхогенные включения в базальном слое (55,3%), внутриматочные синехии (8,5%). Коррелятивность связи «тонкого» эндометрия с нарушением

имплантации представлена ранее, с подтверждением низкой частоты наступления беременности при М-эхо менее 7 мм в день овуляции [164]. Визуальные признаки диспластического типа диагностировали изолированно [истончение, бледность (80,9%), синехии (19,1%)] и в виде рубцово-измененных зон и синехий на фоне воспаления (участки гиперемии и отека) (16,7%). Подобные признаки структурной дезорганизации и неполноценной регенерации эндометрия вероятны в исходе многократных внутриматочных вмешательств (80,9%). Взаимосвязь нарушения репарации эндометрия после «повреждения» базального слоя с развитием внутриматочных синехий, аменореи и вторичного бесплодия показана и в других источниках [17]. Выраженную фибропластическую трансформацию стромы на фоне хронического воспаления (16,7%) полагаем результатом отсутствия лечебно-восстановительного курса после самопроизвольных выкидышей и НБ, аналогично другим данным [71]. Таким образом, «повреждение» эндометрия с утратой полноценного «клеточного пласта» формируется в исходе хирургической травмы, либо хронического воспаления.

Нарушения клеточного метаболизма при диспластическом фенотипе в присутствии нелактобациллярного типа микробиоты (47,1%, смешанный профиль – 41,2%) вероятны как следствие токсического воздействия метаболитов на фоне персистенции низкоиммуногенных инфектов (*E. coli*, энтерококк). Представленные причинно-следственные связи дистрофически-атрофических преобразований эндометрия согласуются с приведенными в других источниках [43].

Метаболическую неполноценность эндометрия при диспластическом фенотипе подтверждало преобладание нерецептивного профиля (91,5%) с подавлением экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов в отличие от остальных групп. Повреждения рецепторного аппарата вследствие выраженной десквамации эпителиоцитов маточных желез описаны как причина отрицательных исходов программ ЭКО и нарушения имплантации [85]. «Минорный» рецепторный профиль эндометрия при диспластическом фенотипе соответствовал статусу морфологически неполноценной фазы секреции, с преобладанием изменений гипопластическо-диспластического типа (76,6%). Причиной несостоятельности

рецепторного аппарата может выступать метаболический дисбаланс, сопряженный с избыточной продукцией проапоптических белков и дисрегуляцией межклеточных взаимодействий. Нарушение полноценного взаимодействия эмбриона и эндометрия также реализуется в присутствии резко сниженной экспрессии VDR единичными клетками (66,0% против 6,7% при ХЭ). Недостаток 25(OH)D, позиционируемый как причина репродуктивных неудач [119], у 72,3% женщин с диспластическим фенотипом эндометрия позволяет сформулировать концепцию молекулярных последствий дезактивации иммуномодулирующего воздействия интерфейса «25(OH)D–VDR» в период «окна имплантации».

Выраженная фибропластическая трансформация стромы при диспластическом фенотипе сопровождалась не только нарушением прогестерон–опосредованной децидуализации, но и подавлением продукции цитокинов, высвобождения и хемоаттракции иммунных клеток в отличие от группы сравнения: в железистом компартменте эндометрия [GM–CSF – в 3,7 раза, TNF– α – в два раза, IL–10 – в 1,8 раза, CXCL16 – в два раза, BCA1 – в 2,6 раза, NRF2 – в 1,1 раза) и в строме (GM–CSF – в 2,7 раза, TNF– α – в 4,6 раза, IL–10 – в 2,9 раза, CXCL16 – в 3,3 раза, NRF2 – в 1,2 раза при максимальном показателе TGF– β 1 (3 балла)].

Положительная корреляционная связь между сниженной экспрессией в железистом компартменте эндометрия TNF– α и GM–CSF ($r=0,53$) и строме ($r=0,54$) указывает на нарушение модуляции умеренной воспалительной реакции и иммунотолерантной среды, аналогично мнению других авторов [206]. Представление о «диспластическом» эндометрии как мишени, «повреждение» которой приводит к нарушению иммунных каскадов и локального метаболизма подтверждают отрицательные корреляционные связи в строме: между TNF– α и VDR ($r=-0,41$), ER и TGF– β 1 ($r=-0,49$). Избыточную экспрессию TGF– β 1 связывают с формированием фиброзного типа эндометрия, преимущественно у женщин с многократными внутриматочными вмешательствами [342]. Предлагаемая нами концепция преждевременного «старения» эндометрия в исходе повреждения основана на данных о возрастании экспрессии TGF– β 1 и подавлении

дифференцировки *T*-клеток в пулы *Th17* и *Treg*. Обозначенные нами при фенотипе нарушения «иммунного метаболизма» как причина неудач имплантации только отчасти представлены в других источниках [108].

Дизрегуляция гормонально–иммунного взаимодействия при диспластическом фенотипе опосредуется через угнетение экспрессии *NRF2*, маркера окислительно–восстановительного гомеостаза. Предположения о детерминации развития синехий – морфологического субстрата диспластического фенотипа эндометрия активацией при избыточной экспрессии *TGF-β1* сигнального пути ядерного фактора *NF-κB* рассматриваются в других источниках, однако вне представленного нами взаимодействия иммунно–рецепторных сигнатур в период «окна имплантации» [331].

Дистрофически–атрофические изменения эндометрия при диспластическом фенотипе – переход части клеток в «покоящееся» состояние, невозможность деления и снижение регенераторного потенциала сопровождаются превалированием реакций катаболизма, истощением или блокированием энергетических субстратов вследствие механической травмы или хронического воспаления. Нарушение ангиогенеза у женщин с «тонким» эндометрием на фоне низкой экспрессии иммунных факторов приведены и другими авторами [252,274].

Констатация локального иммунодефицита в период «окна имплантации» обосновывает утверждение усиления процесса запрограммированной гибели клеток, в том числе – иммунокомпетентных, нарушения экспрессии генов, метаболических путей, кодирующих синтез аминокислот. Вариативность иммунометаболической адаптации при диспластическом фенотипе с подавлением продукции цитокинов, факторов фагоцитоза, пролиферации и эффекторных функций иммунных клеток согласуется с другими источниками [273].

Полученные нами результаты показывают связь преобразования локального микроокружения в период «окна имплантации» не только с истощением метаболических ресурсов, повреждением защитных барьеров, но и нарушением биотопов генитального тракта. Лактобациллярный тип микробиоты у 52,9% женщин с диспластическим фенотипом эндометрия может указывать на снижение

способности пула к индукции адекватных иммунных реакций и полноценному взаимодействию «клетка–микроб». Нерцептивный профиль женщин с различной микробиотой эндометрия (41,2% с лакто– и 47,1% – нелактобациллярным типом) позволяет предположить опосредованность «полезного» потенциала бактерий иммунно–метаболическим диссонансом. Достоверным отличием диспластического фенотипа эндометрия было изменение ультраструктурных характеристик – за счет преобладания пиноподий с диссоциированным развитием – практически в четыре раза, чем при пролиферативном фенотипе и нарушенном иммунном статусе (55,9% против 14,6%). Преобладание зон «спокойного» эпителия, с сохраненными межклеточными контактами и дисхронозом созревания пиноподий согласуются с наблюдениями при «тонком» эндометрии женщин с бесплодием, репродуктивными потерями и неудачами имплантации [43]. Бактериальная контаминация пиноподий (14,7%) выявлена в образцах эндометрия с нелактобациллярным типом микробиоты [дисбиотическим (5,9%) и смешанным (8,8%)]. Сохранность в отдельных образцах эндометрия лактобациллярного пула микробиоты (52,9%) и зрелых пиноподий (20,6%) связываем с молекулярно–биологической целостностью и способностью к регенерации. Выявление нерцептивного профиля в присутствии лакто– (41,2%) и нелактобациллярного типа (47,1%) указывает на снижение способности лактобактерий к индукции адекватных иммунных реакций на фоне воздействия токсичных метаболитов низкоиммуногенных инфектов. Обосновано утверждение о связи нарушений микроокружения эндометрия с истощением ресурсов, защитных барьеров и состава биотопов. Гетерогенность микробиоты эндометрия полагаем результирующей полноценности клеточного пласта и активности внутриклеточного метаболизма. Вклад микробиоты в формирование имплантационной несостоятельности эндометрия соотносится с данными о реализации эффектов лактобактерий через метаболизм, иммунитет, экспрессию генов и эпигенетику [108]. Наиболее асинхронное молекулярно–клеточное профилирование эндометрия отмечено при нелактобациллярном типе микробиоты.

Таким образом, дефицит синтеза и дифференцировки иммунных факторов Th1/Th2 пулов, избыточное профибротическое влияние TGF- β 1, низкая экспрессия ER/PR, оксидативный стресс в период «окна имплантации» определяют дефектные механизмы децидуализации стромы и секреторного потенциала маточных желез, экспрессии генов контроля процессов пролиферации, адгезии и клеточного метаболизма. Наиболее асинхронное молекулярно–биологическое профилирование при диспластическом фенотипе эндометрия при нелактобациллярном типе микробиоты подтверждает ее коррелятивность с параметрами внутриклеточного метаболизма.

Снижение резерва эндометрия обусловлено фибротической трансформацией стромы, диссоциативным развитием пиноподий, нелактобациллярным типом микробиоты.

Сделанные нами расчеты при построении прогностической модели диспластического фенотипа эндометрия показали информативность клиничко–анамнестических маркеров (недостаток витамина D в периферической крови, многократные внутриматочные вмешательства) и оценки рецептивности (нерецептивный профиль, ER/PR=1,4). Высокий прогностический потенциал оценки экспрессии TGF- β 1 при вариациях фенотипа (с хроническим воспалением/без) объясняется универсальностью механизмов фиброзирования эндометрия.

Эффективность лечебно–восстановительного курса при диспластическом фенотипе определяется соотношением процессов клеточной деструкции и способности эндометрия к регенерации (восстановление архитектоники в 53,2%, рецептивности – 34,0%), внедрением перспективных технологий (антифибротическая терапия, мезенхимальные стволовые клетки, инфузии G-CSF) и стратификацией женщин на суррогатное материнство.

7.4 Проплиферативный фенотип эндометрия

Морфологическую основу пролиферативного фенотипа эндометрия составляли ПЭ (62,5%) и ГЭ (37,5%). Рецидивы ПЭ, ГЭ в анамнезе 62,5% женщин как причину ПНИ в программах ЭКО (67,7%), аналогично другим данным [22].

Частота выявления маркеров фенотипа при сонографии (ПЭ – 30,0%, ГЭ – 22,5%) уступала гистероскопической визуализации (ПЭ – 30,0%, ГЭ – 37,5%).

Превалирование в анамнезе женщин с пролиферативным фенотипом эндометрия доброкачественных заболеваний молочных желез (45,0%) – в 4,6 раза, чем в группах с диспластическим фенотипом, нарушенным иммунным статусом и нормальным эндометрием (9,7%) соответствует концепции единства патогенеза гиперпластических процессов в органах репродуктивной системы, аналогично другим данным [77]. Следствием ГЭ и ПЭ оказалось наличие у трети женщин ЖДА (35,0%) – в семь раз чаще, чем с диспластическим и нарушенным иммунным статусом (5,2%). Высокую частоту доброкачественных заболеваний шейки матки (62,5% против 10,4%) и персистенцию ВПЧ ВР (60,0%) можно рассматривать в качестве факторов риска повреждения защитных барьеров и цитотоксического воздействия на клетки эпителия. Вмешательства по поводу лейкоплакии/CIN I, II шейки матки (60,0%), выполняемые при данном фенотипе практически в два раза чаще, чем с ХЭ (30,0%), предлагают считать следствием вирусной инвазии и репликации частиц в эпителиоцитах зоны трансформации. Риск предраковых изменений эндоцервикса (CIN2) при персистенции ВПЧ 16 типа представлен ранее (33,3% против 1,8% при отрицательном результате тестирования) [147]. Взаимосвязь нарушений микробиоты влагалища (24,0%) с инфицированием ВПЧ ВР (100,0%) и перенесенными ИППП (70,0%), определяемых втрое чаще, чем при нормобиоценозе соответствует факту преобладания БВ при персистенции в эндоцервиксе ДНК–содержащих вирусов [134], ВПЧ ВР и ВПГ2. Отличием цервикального микробиома при фенотипе оказалось носительство ВПЧ ВР у 40% женщин (25,0%, в сочетании с условно–патогенной флорой – 15,0%), миксты ИППП с условно–патогенными штаммами – 30,0%.

Последствия бактериально–вирусной инфекции (дистрофические изменения эпителия шейки матки, нарушение межклеточных контактов, воспалительная инфильтрация стромы) приводят к преобразованию реакций локального иммунитета – инициации ВПЧ ВР механизмов воспаления – усилению экспрессии макрофагов и НК, цитокинов, подавлению реакций врожденного и приобретенного

иммунитета [345]. Выявленные закономерности соответствуют заключениям о взаимосвязи репликации ВПЧ ВР в трофобласте с возрастанием в материале выкидышей воспалительных интерлейкинов [201, 230]. Снижение экспрессии мРНК гена рецептора прогестерона и противоонкогенных miR–145 и miR–34a полагают причиной нарушения эпигенетической регуляции процессов пролиферации и апоптоза у женщин с ПНБ неясного генеза [23]. Эти факты применимы при моделировании патогенеза пролиферативного фенотипа эндометрия: повреждение рецепторного аппарата эндоцервикса при вирусной персистенции с развитием каскада молекулярно–клеточных «поломок» и нарушением передачи внутри– и межклеточных сигналов. Выявленные особенности позволяют сформулировать концепцию иммунорегуляторного нарушения экспрессии ключевых молекул и формирования «нерецептивного» эндометрия у 87,5% женщин. Проллиферативную направленность пула клеток эндометрия показывает повышенный уровень экспрессии ER в эпителиоцитах желез (в 1,8 раза) и строме (в 1,2 раза), в отличие от группы сравнения, на фоне гипоекспрессии PR (соответственно в 1,1 раза и 2,3 раза), индекс ER/PR =0,8.

Проллиферативный характер изменений эндометрия (ПЭ, ГЭ) подтверждался повышением экспрессии протеина Ki–67 (6,0% до 19,0%) в отличие от группы сравнения и других фенотипов. Потенциальным механизмом развития ГЭ и ПЭ на фоне ХЭ (33,3% в выборке) можно считать повреждение эпителия, нарушение регуляции клеточного деления с экспрессией генов, определяющих избыточный пролиферативный потенциал, угнетение апоптоза при инфильтрации ткани популяциями иммунных клеток, синтезирующих провоспалительные цитокины. Аналогичное мнение об изменении иммунного ответа при ГЭ с развитием на фоне выраженной инфильтрации эндометрия лимфоидными клетками дисбаланса процессов пролиферации и апоптоза представлено в других исследованиях [59].

Воспалительную основу пролиферативных процессов в группе с хроническим воспалением (ПЭ – 13,3%, ГЭ – 20,0%) доказывает экспрессия маркера CD138+ и гиперэкспрессия Ki–67 [272]. Подтверждением индукции аномальных молекулярно–биологических сигналов с клеток эндоцервикса на

эндометрий выступают данные о нерцептивном профиле (55,0%) женщин с ВПЧ ВР/лейкоплакией шейки матки/CIN I, II – в три раза чаще, чем с ХЭ (16,2%), многократно – в остальных группах. Отличием рецепторного профиля при пролиферативном фенотипе было преобладание очагового типа распределения VDR (70,0%) – в три раза чаще, чем при диспластическом фенотипе и ХЭ (24,9%); у женщин с лактобациллярным типом микробиоты – в четыре раза чаще, чем при ХЭ (42,1% против 10,0%).

Молекулярный профиль женщин с пролиферативным фенотипом эндометрия отличался повышенной экспрессией в железистом компартменте воспалительных цитокинов: GM-CSF – в 1,2 раза, умеренной – TNF- α , CXCL16 – в 1,1 раза; сниженным уровнем IL-10 – в 1,3 раза. В строме эндометрия значимые отличия от группы сравнения были выявлены в отношении маркеров GM-CSF – в 1,2 раза, IL-10 – в 1,6 раза; при индексе TNF- α /IL-10 = 1,6.

Нарушение имплантации при пролиферативном фенотипе обусловлено иммуномодулирующей активностью GM-CSF на фоне гиперэкспрессии TNF- α , CXCL16 и снижения IL-10, NRF2. Модуляцию избыточной продукции GM-CSF при пролиферативном фенотипе следует рассматривать с позиций вероятной Th17-опосредованности аутоиммунного ответа [336], пролиферации тканевых макрофагов и усиления активности цитозольного и митохондриального метаболизма [производство аденозинтрифосфата (АТФ)]. Гиперэкспрессия GM-CSF, связываемая с ростом «тонкого» эндометрия [347, 373], сочеталась с гиперэкспрессией Ki-67. Избыточную экспрессию провоспалительных цитокинов (GM-CSF, TNF- α , CXCL16) при пролиферативном фенотипе полагают причиной не только возрастания пула цитотоксических Т-клеток, но и усиления локального стероидогенеза. Обосновано утверждение, что избыточная экспрессия TNF- α соответствует модели передачи сигналов, связанных с нарушением на фоне гипериммунного ответа регуляции апоптоза, что доказывает взаимосвязь экспрессии в эпителиоцитах маточных желез цитокинов разнонаправленного действия: положительная (TNF- α и IL-10) ($r=0,47$) и отрицательная – хемокина CXCL16 с IL-10 ($r=-0,44$). Перепрограммирование (усиление экспрессии)

хемокиновых рецепторов при пролиферативном фенотипе связывают с воздействием микроокружения эндометрия [166]. Полученные нами данные о снижении экспрессии NRF2 при данном фенотипе эндометрия отражают формирование прооксидантной среды, что аналогично наблюдениям у пациенток с простой и сложной ГЭ [204, 297]. Выявленные особенности иммунного профиля эутопического эндометрия на фоне НГЭ I–II степени – избыточная экспрессия провоспалительных цитокинов и хемокинов, преобладание проапоптотических сигналов и оксидативного стресса раскрывают сложные межмолекулярные взаимодействия, отчасти представленные ранее [69]. Вероятно, формирование резистентности к прогестерону (на фоне НГЭ) через метилирование изоформы PR–В происходит при гиперэкспрессии TNF–а, аналогично процессу в эктопическом эндометрии [315].

Последствия дефектного метаболизма витамина D, сопряженные с нарушением реализации антипролиферативного эффекта, согласуются с данными о влиянии его неадекватного уровня на вероятность прогрессирования и рецидивов тазовой боли у женщин с НГЭ [6]. Возрастание экспрессии VDR приводило к подавлению антиоксидантного эффекта NRF2 ($r=-0,53$) и передачи сигнала PR ($r=-0,47$). Полученные нами результаты подтверждают заключения о способности 25(OH) D к регуляции сигнальных путей клеточного цикла и апоптоза за счет вмешательства в экспрессию NRF2, активатора генов, кодирующих антиоксидантные ферменты [301]. Корреляционные связи иммунокомпетентных клеток в строме эндометрия указывали на нарушение эффектов PR при низком уровне экспрессии IL–10 ($r=-0,46$), гиперэкспрессии ER ($r=-0,44$), положительной взаимосвязи экспрессии маркеров CXCL16 и NRF2 ($r=0,49$).

При пролиферативном фенотипе эндометрия нарушения микробиома матки встречались реже, чем фенотипе хронического воспаления (нелактобациллярный профиль – 31,6%, из которого доля смешанного составила 26,3%). Именно снижение лактобактерий при относительном увеличении числа микроорганизмов Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria, Bacteroides, E. coli и Bacteroides fragilis отмечено при ГЭ [126]. Вероятно, триггером пролиферативных

изменений выступает длительное присутствие в эндометрии продуктов тканевой деструкции вследствие нарушения целостности эпителиального барьера даже после элиминации микробных агентов, активирующих факторы врожденного иммунного ответа. Подобные предположения позволяют прогнозировать развитие пролиферативного фенотипа на фоне подавления реакций апоптоза после перенесенных внутриклеточных инфекций: хламидийной – за счет доминанты аутоиммунных реакций и продукции антиапоптотических белков, в том числе, теплового шока [33,87]. Участие микробиоты и иммунных воспалительных «сетей» в генезе ГЭ реализуется через повышение активности фермента β -глюкуронидазы с развитием локальной гиперэстрогении [180]. Неадекватная регуляция эндометриального роста может быть обусловлена персистенцией в отделяемом цервикального канала патогенов [миксты ИППП – 30,0% (ВПГ2, мико-/уреаплазменная инфекция)]. Полагаем, триггером подавления апоптоза в эндометрии выступают не только внутриклеточные инфекты, персистирующие в отсутствие продуктивного воспаления, но и генетически детерминированная активность цитокинов [11]. Дефицит прогестерона и локальный иммунный дисбаланс с гипофункцией НК-клеток на фоне вирусной и грибковой инвазии рассматривают как причину избыточной пролиферации эндометрия и развития ПЭ [272].

Вероятно, в развитие пролиферативных изменений у 40,0% женщин с хроническим воспалением определенную лепту вносит геномная нестабильность эпителия эндометрия, зависящая от регулируемых факторов транскрипции микробиоты и/или эпигенетических факторов. Видовые различия в микроэкологии различных биотопов у женщин с ХЭ и ПЭ подтверждают исследования и других авторов [112]. Выявлен достоверно больший пролиферативный потенциал в материале ПЭ (ER/PR=0,8, гиперэкспрессия Ki-67) от прилежащего, морфологически нормального эндометрия. Эти наблюдения соответствуют данным о возрастании в ткани удаленного ПЭ продукции маркеров ангиогенеза CD34, CD105 и VEGF-A [30]. Роль локального оксидативного стресса в генезе возрастания пролиферативного потенциала на фоне хронического воспаления

подтверждает некоторое снижение экспрессии NRF2 при гиперэкспрессии цитокинов GM-CSF и CXCL16. Наши предположения о негативном влиянии на гомеостаз эндометрия дисбиотического типа микробиоты с развитием прооксидантной среды базируются на связи нарушения состава микробиоты с изменением модуляции рецептивности [235]. Рассуждения об участии в чрезмерной пролиферативной реакции эндометрия патогенных бактерий могут оставаться спорными до выяснения потенциала триггерной активности вирусных инфектов, особенно при микрополипах эндометрия. При исследовании эндометрия методом ПЦР–РВ вирусные инфекции выделены не были, однако персистенция ВПЧ ВР в эндоцервиксе 40,0% женщин позволяет предполагать гиперметиляцию генов контроля клеточного цикла в компартментах слизистой матки. Дезорганизация структур с экспрессией в эндометрии пациенток с первичным и вторичным бесплодием при ВЗОМТ (соответственно 75,8% и 82,1%) и НГЭ (100%) онкобелка p16ink4a [61] представлена как ведущая в генезе пролиферативных и гиперпластических заболеваний. Снижение прогестерон–позитивных клеток при вирусном инфицировании эндометрия (ВПЧ ВР, вирус Эпштейн–Барра, ВПГ 1,2, аденовирусная инфекция) представлено в работе Шариповой Р.И. (2021) [92].

Выявленное возрастание экспрессии NOXA11 на фоне сниженной экспрессии PR следует рассматривать как причину резистентности к прогестерону и неэффективности рутинной терапии гестагенами. Эти наблюдения доказывают, что восстановление рецепторного статуса при гиперметилировании гена NOXA11, индуцированного преимущественно вирусной инфекцией, достигается подавлением избыточной пролиферативной активности противовирусными препаратами.

При построении прогностической модели пролиферативного фенотипа эндометрия определены клиничко–анамнестические факторы риска (персистенция ВПЧ ВР; лейкоплакия шейки матки/CIN I, II при наличии ВПЧ ВР; ПЭ/ГЭ в анамнезе) и особенности рецепторного статуса (очаговый тип распределения VDR), формирующие выборку для ИГХ исследования (в железистом компартменте

– GM-CSF, TNF- α и VDR, в строме – HOXA11), для пролиферативного фенотипа на фоне хронического воспаления – в эпителиоцитах желез – GM-CSF, CXCL16 и VDR, в строме – HOXA11.

Эффективность предложенной нами стратегии лечения женщин с пролиферативным фенотипом (селективные фитомолекулы индол-3-карбинол и эпигаллокатехин-3-галлат), основанной на данных о подавлении аномального метилирования генов и восстановления синтеза белков, опосредующих рецептивность эндометрия [4], доказывает полноценная секреторная трансформация в 90,0%, рецептивность – 80,0% (возрастание в 6,4 раза). Влияние индол-3-карбинола в гормонозависимых тканях на моделях с диффузными мастопатиями, миомой матки и дисплазией шейки матки [77] связывают с блокадой эстроген-зависимого пролиферативного сигнала и антиоксидантной активностью. Восполнение дефицита витамина D в выборке с реализацией в эндометрии антипролиферативного и противовоспалительного действия согласуется с другими данными [383]. Перспективность и патогенетическую обоснованность предлагаемой нами при пролиферативном фенотипе эндометрия антиоксидантной терапии подтверждают другие авторы [349].

7.5 Фенотип хронического воспаления

Симптоматику ациклических кровянистых выделений у трети женщин с хроническим воспалением полагаем следствием аномальной десквамации функционального слоя с обнажением фокальных зон базального эндометрия. Связь микроповреждений эндометрия с нарушением рецептивности может объясняться тканевым «дистрессом» в исходе репродуктивных потерь (60,0%), преимущественно, НБ (46,7%) вследствие недиагностированного ХЭ, согласно другим данным [70, 171, 326], и последствий хирургической травмы.

Преобладание у женщин с фенотипом хронического воспаления болезней пищеварительной системы (60,0%) позволяет предположить воздействие продуктов бактериального метаболизма на целостность эпителия органов и барьерной функции и регуляцию врожденного иммунного ответа. Вероятно, нарушение микробного равновесия играет пусковую роль в механизмах

дестабилизации состава и функционального потенциала микрофлоры и иммунного гомеостаза биотопов генитального тракта.

Совокупность перенесенных заболеваний органов малого таза определяла неблагоприятный для реализации фертильности фон: хронические воспалительные заболевания органов матки и придатков (53,3%), хронический цервицит (46,7%), эктопия шейки матки более трех лет (43,3%), доброкачественные заболевания шейки матки (70,0%).

Негативное влияние на иммунный статус женщин с хроническим воспалением оказывает высокая частота нарушений микроэкологии нижних отделов репродуктивного тракта [рецидивирующие вагиниты (80,0%), рецидивы БВ с контаминацией цервикального канала (60,0%)], бактериально–вирусная нагрузка эндоцервикса (условно–патогенная флора – 80,0%, ВПЧ ВР – 46,7%). В группе женщин с фенотипом воспаления нарушения микробиоты влагалища встречались в 3,5 раза чаще (39,0%), чем при диспластическом и фенотипе нарушенного иммунного статуса. Выявлена связь дисбиотического микробиома с факторами анамнеза: инфицированием ВПЧ ВР – втрое чаще, чем при нормоценозе (75,0% против 27,8%), вмешательствами на шейке матки – в пять раз (58,3% против 11,1%).

Обосновано утверждение, что нарушения микробного гомеостаза нижних отделов генитального тракта выступают отправной точкой преобразования иммунологической среды и колонизационной резистентности. Эти данные согласуются с фактами, что снижение титра *Lactobacillus* spp. и возрастание вагиноз–ассоциированных штаммов *Atopobium*, *Megasphaera*, *Gardnerella* и *Prevotella* является причиной неудач имплантации [130, 242]. Наличие ВПЧ ВР у 46,7% женщин с фенотипом воспаления, как и 60,0% с пролиферативным фенотипом позволяет утверждать о механизме изменений микроокружения эндометрия на фоне нарушений микробного гомеостаза нижних отделов генитального тракта. Формируется «порочный круг»: дисбиоз влагалища, дефицит *Lactobacillus* spp., продукция анаэробами ферментов и метаболитов создают среду, благоприятную для жизненного цикла вируса. Обосновано утверждение о

реализации при фенотипе воспаления континуума иммунных реакций: вагинальный дисбиоз – персистенция ВПЧ ВР – повреждение цервикального эпителия – модуляция активности иммунных клеток эндометрия с участием молекулярных медиаторов и эффекторов [324]. Инфильтрация стромы плазматическими клетками приводит к изменениям архитектоники и дисфункции, реализованной в поломке «тонких» механизмов регуляции процесса имплантации. Несоответствие морфологических характеристик эндометрия фазе МЦ при фенотипе воспаления соответствует данным о фазовой задержке при неблагоприятных исходах ЭКО [260]. Особенности рецептивного профиля эндометрия при фенотипе хронического воспаления заключались в гипоекспрессии ER в обоих компартментах, выраженном снижении PR в строме (в два раза в отличие от группы сравнения) в связи с фибропластической трансформацией. Абберрантный рецепторный профиль связывают не только с нарушением децидуализации, но и васкуляризации, при которых отсутствие сдвига PR из эпителиоцитов желез в клетки стромы препятствует подавлению экспрессии ER. Отсутствие полноценного прогестерон–рецепторного взаимодействия на фоне снижения экспрессии PR и индекса $ER/PR=1,1$ определяли при морфологически неоднородной картине эндометрия в фазу секреции и адекватном уровне сывороточного прогестерона [116]. Результаты проведенного нами анализа позволяют объяснить существующее в научной литературе противоречие оценок рецепторного статуса при ХЭ [327] различной реакцией клеток на инфекционные и воспалительные стимулы. Выявленная мозаичность архитектоники эндометрия убеждает в одновременном течении гистопатических фаз хронического воспаления (альтерация, экссудация и репарация). Подобный феномен отчасти представлен ранее: в работе Файзуллиной Д.И. (2019) [84] сочетание фиброза стромы и склероза спиральных артерий (74,5%) показано наряду с отсутствием пиноподий (38,3%), дефицитом ER и PR в железистом компартменте (соответственно 30,1% и 17,8%) и строме эндометрия (соответственно 66,8% и 17,8%). Обнаруженное нами несоответствие «нерецептивного» статуса эндометрия полноценной секреторной

фазе в 33,3% противоречит данным Хелашвили И.Г. (2014) [85] о коррелятивности изменений на макро– и микроуровне при ХЭ.

Воспалительный тип иммунорегуляции при воспалении определяла избыточность экспрессии в эпителиоцитах желез эндометрия провоспалительных цитокинов в сравнении с противовоспалительными (повышение $\text{TNF-}\alpha$, GM-CSF , CXCL16 – в 1,1 раза, BCA1 – в 1,7 раза, снижение IL-10 – в 2 раза). В строме эндометрия уровень экспрессии GM-CSF , $\text{TNF-}\alpha$, CXCL16 оказался достоверно выше, чем в группе сравнения – в 1,2 раза, IL-10 – в 1,8 раз ниже, $\text{TGF-}\beta 1$ оказался наименьшим в группах (1 балл). Индекс $\text{TNF-}\alpha/\text{IL-10}$ в – 2,5 (при норме 1,1 в эпителиоцитах желез) подтверждает молекулярные нарушения состава и взаимодействия иммунокомпетентных клеток эндометрия при хроническом воспалении.

Полученные нами данные позволяют утверждать, что аномальное иммунное микроокружение в период «имплантационного окна» при фенотипе хронического воспаления обусловлено усилением активности GM-CSF воспалительной реакции за счет повышенной продукции и нарушения передачи сигналов $\text{TNF-}\alpha$. Гиперэкспрессия $\text{TNF-}\alpha$, согласно другим данным [109], повышает биосинтез эстрогенов в эпителиоцитах желез эндометрия в отличие от децидуальных макрофагов, что связано с микрополипозом, позиционируемым маркером хронического воспаления. Концепция нарушения иммунного профиля «воспаленного» эндометрия представляется следствием внедрения патогенных бактерий, компонент мембраны которых (липополисахарид) опосредует повышение хемокина CXCL13 (BCA1), воспаление и рекрутирование в строму пула В-клеток [323]. Снижение экспрессии $\text{TGF-}\beta 1$ и IL-10 при фенотипе воспаления отражает количественный или функциональный дефицит противовоспалительного клона Treg -клеток на фоне воспалительной реакции стромы, фиброза. Выявленные особенности иммунного профиля соотносятся с данными о низком уровне мРНК и белка $\text{TGF-}\beta 1$ у женщин с ПНИ, особенно на фоне воспаления [192]. Полученные нами данные о нарушении дифференцировки ДК в толерогенный фенотип и уклонение воспаленных клеток от иммунных атак

[155] раскрывают патогенетические механизмы неблагоприятных условий для имплантации бластоцисты. Реализация в воспаленном эндометрии молекулярно–биологических эффектов происходит на фоне снижения опосредованной NRF2 антиоксидантной защиты в Treg–клетках, высвобождения медиаторов воспаления и нарушения окислительно–восстановительного гомеостаза. Полученные результаты согласуются с данными, что подавление экспрессии NRF2 в строме является следствием активации ядерного фактора транскрипции NF–kB, одного из основных антиапоптотических факторов, вовлеченных в развитие воспалительных реакций и пролиферации [294, 402].

Одним из концептов иммунорегуляторных нарушений при фенотипе хронического воспаления является экспрессия NRF2, уровень которого отражает его активность: умеренное возрастание ассоциировано с устранением АФК, генерация которых эндо– и экзотоксинами бактерий связана со стимуляцией функции макрофагов, снижение – с персистенцией инфектов на фоне аутоиммунного процесса.

Прямая положительная связь экспрессии маркеров VDR и CXCL16 ($r=0,5$) подтверждает, что основу патогенеза фенотипа хронического воспаления эндометрия составляют нарушения взаимодействий иммунокомпетентных клеток, с превалированием провоспалительного Th1–подтипа. При данном фенотипе корреляция экспрессии в эпителиоцитах желез ER и PR ($r=0,6$) подтверждает важную роль пролиферативной фазы МЦ как предпосылки формирования полноценной рецептивной секреторной фазы. Аналогично нашим данным, неблагоприятное влияние на секреторный потенциал желез и имплантацию бластоцисты воспалительной микросреды (с лейкоцитозом и повышенной продукцией провоспалительных и хемотаксических медиаторов) представлено в ряде работ [194]. Полученные результаты объясняют причину неудач имплантации в группе с воспалением на фоне ТПБ в отсутствии реабилитационного курса после удаления гидросальпинкса.

Преобладание при фенотипе хронического воспаления недостатка в сыворотке крови 25(OH)D (86,7%) позволяет считать, что блокирование

иммунорегуляторных эффектов витамина приводит к усилению реакций Th1–типа, хемокин–опосредованной миграции и хоумингу в ткань эффекторных CD4+T–клеток, нарушению функции Treg–клеток TGF- β 1 и IL–10. Ранее представлены данные о нарушении при отклонении от референтных значений уровня 25(OH)D механизмов иммунной регуляции [поляризация Th1–цитокинов (IFN- γ , TNF- α , IL–1 α и IL–1 β), высокая цитотоксичность NK–клеток, снижение уровня Th2–цитокинов (TGF- β 1 и IL–10), экспрессия TLR4)] [395]. Суммирование наших результатов позволяет утверждать о срыве при недостатке и дефиците витамина D компенсаторно–приспособительных механизмов – иммунной толерантности и противоинфекционной защиты. Диффузный тип распределения VDR в строме эндометрия женщин с хроническим воспалением (73,3%) и нелактобациллярным типом микробиоты (46,7%) – в пять раз чаще, чем в остальных группах (8,8%) косвенно характеризует морфологическую целостность компартментов. Эти данные отражают способность VDR–маркированных эпителиоцитов желез и стромы к aberrантной экспрессии генов, кодирующих пути метаболизма витамина D в эндометрии. Нарушение реализации эффектов интерфейса «VDR–25(OH)D» заключается в изменении активности транскрипционных факторов ДК и Т–клеток, усилении поляризации наивных Т–лимфоцитов со сдвигом баланса Th1/Th2 в сторону Th1–ответа, образовании Th17–клеток и продукции ими IL–17, подавлении активности Treg–клеток. Очевидно, интегральное влияние витамина D и VDR на иммунную систему эндометрия требует дальнейших исследований. Отсутствие значимых различий в экспрессии NOXA11 при фенотипе хронического воспаления с группой сравнения соответствует аналогичным данным оценки метилирования гена женщин с ТПБ и неудачными попытками ЭКО в анамнезе [58].

Вариабельность морфотипа пиноподий в фазу «окна имплантации» полагаем следствием неоднородной архитектоники воспаленного эндометрия. Эти результаты согласуются с заключениями, что дисхроноз созревания пиноподий приводит к смещению «окна имплантации» [48] и нарушению передачи сигналов межмолекулярного взаимодействия эндометрия и бластоцисты [132]. Низкий показатель зрелых пиноподий (13,3%) соотносился с неоднородностью

микроокружения: сохранностью плотных межклеточных контактов (36,7%), гетероморфного строения секреторных клеток (30,0%), «спокойного» эпителия (53,3%).

Обосновано утверждение, что понимание патогенетических процессов, сопровождающих развитие фенотипа хронического воспаления, требует интерпретации ультраструктур эндометрия только при изучении спектра основных экспрессируемых регуляторных молекул «окна имплантации». Фенотипическую пластичность субпопуляций иммунорегуляторных молекул при хроническом воспалении подтверждает дисбаланс CD4⁺/CD8⁺ и, соответственно, иммунных реакций Th1/Th2 и Th17/Treg. Выявленное повышение экспрессии CD8⁺ выступало, аналогично наблюдениям при неудачах имплантации [18, 177] и ПНБ [239], маркером хронического воспаления.

Преобладание нелактобациллярного типа микробиоты эндометрия (63,3%) при фенотипе хронического воспаления отмечали в два раза чаще, чем с пролиферативным (31,6%), в 3,4 раза – нарушенным иммунным статусом (18,8%). Контаминация эндометрия условно–патогенной флорой нами отмечена реже (46,7%), чем в работе Мелкозеровой О.А. и соавт. (86,7%) [48]. Отсутствие достоверных различий в структуре микробиома влагалища и матки при фенотипе хронического воспаления выявляли только при дисбиотическом профиле эндометрия. При смешанном типе микробиоты преобладали монокультуры с наибольшим удельным весом *Gardnerella vaginalis*, *Enterobacteriaceae* и *Staphylococcus* spp. Дисбиотический профиль (чрезмерный рост *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma* spp., *Streptococcus* spp. и *Enterobacteriaceae* и микстов *Atopobium vaginae*/*Enterobacteriaceae*) (46,7% против 4,8% в остальных группах) женщин с фенотипом хронического воспаления представляется причиной изменения активности механизмов, опосредующих имплантацию бластоцисты. Высокий удельный вес *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* связывают с нарушением защитных барьеров и/или функциональной неполноценностью факторов клеточного иммунитета [130].

Обнаруженные изменения иммунного профиля эндометрия позволяют утверждать о большей частоте нарушения децидуализации и архитектоники при дисбиотическом профиле микробиоты. Образцы нерцептивного эндометрия при нелактобациллярном типе микробиоты в группе с фенотипом хронического воспаления отмечали практически в четыре раза чаще, чем с нарушенным иммунным статусом (63,3% против 12,5%). Полагаем возможным утверждать, что влияние на рецептивность эндометрия реализуется через связь микробных лигандов с иммунокомпетентными клетками и избыточную экспрессию провоспалительных цитокинов, создающих агрессивную для имплантации бластоцисты микросреду. Следовательно, аномальная активность микробиоты в эндометрии может регулировать конверсию Th1/Th2, что согласуется с другими данными [224]. Конкуренция за ресурсы хозяина (включая клетки эндометрия и иммунные) и промежуточные продукты гликолиза приводит к срыву баланса между микробиотой и иммунной системой [385]. Нарушение рецептивного статуса эндометрия женщин с фенотипом хронического воспаления полагаем следствием перенесенных репродуктивно значимых инфекций. Изменение гормон–рецепторного ответа в исходе хламидийной инфекции/ВПГ2 типа при фенотипе воспаления выявляли практически в четыре раза чаще, чем с нарушенным иммунным статусом (26,7% против 6,2%).

Выявленная нами гетерогенность состава микробиома матки у женщин с фенотипом хронического воспаления (лактобациллярный, смешанный, дисбиотический) объясняет неоднородность представленных в литературе данных о репродуктивных исходах при ХЭ – от бесплодия, рецидивирующих неудач имплантации, выкидышей до успешного родоразрешения. Этот факт доказывает участие в регуляции сложных механизмов имплантации не только микробиома матки, но и локальной иммунной системы, изменения которой синергичны с активностью рецепторного аппарата эндометрия.

Таким образом, соотношение типа микробиоты эндометрия с уровнем цитокинов, хемокинов, рекрутируемых иммунных клеток представляется более сложным, чем в других источниках [122, 377]. Именно субпопуляционный состав

микросреды эндометрия при фенотипе хронического воспаления позволяет определить степень деградации матрикса и сохранность регенеративного потенциала. Подобные умозаключения согласуются с мнением Толибовой Г.Х. и соавт. (2015) [96] об обратной достоверной взаимосвязи экспрессии CD8+, CD20+ CD138+ с увеличением клеток воспалительного ряда. Вероятно, в перспективе будет доступно рутинное определение белково–макрофагальных комплексов, инфламмасом, являющихся структурной единицей воспаления, прежде всего, аутоиммунного. Полученные нами результаты позволяют утверждать, что концепция развития фенотипа эндометрия обусловлена не микробиотой, особенно – условно–патогенных представителей, а реакциями иммунной системы при связывании микробных лигандов с рецепторами эндометрия и характером экспрессии провоспалительных факторов, хемокинов и антимикробных метаболитов. Наши данные дополняют представления о срыве при хроническом воспалении механизмов адаптации при постоянном воздействии микробов и, как следствие, развитии аутоиммунных реакций и «порочного круга» воспаления [52, 224].

Различия состава микробного сообщества влагалища и эндометрия позволяют опровергнуть представление о механизме транслокации как единственной причине инфицирования верхних отделов репродуктивной системы [337], однако утверждение оказалось верным в отношении образцов со смешанным типом микробиоты матки. При дисбиотическом профиле микробиоты эндометрия конкордантность биотопов генитального тракта полагаем обусловленной нарушением филогенетически сформированных защитных механизмов (цервикального барьера и продукции муцинов слизистой «пробки») при бактериально–вирусной нагрузке эндоцервикса, после хирургического лечения заболеваний шейки матки и внутриматочных вмешательств. Нарушение ремоделирования эндометрия в период «окна имплантации» может оказаться следствием изменения барьерной функции эпителия с формированием агрессивной провоспалительной иммунной среды [341].

При разработке прогностической модели фенотипа хронического воспаления определены клинико–анамнестические факторы риска: рецидивирующие вагиниты, нелактобациллярный тип микробиоты эндометрия, контаминация отделяемого цервикального канала и рецидивы БВ, наличие которых является основанием для ИГХ исследования экспрессии в железистом компартменте GM-CSF, BCA1, CXCL16, VDR, в строме – TNF- α .

Полагаем, основой стратегии ведения женщин с фенотипом хронического воспаления является дополнение стандартного блока исследований оценкой функциональной состоятельности тригона «ткань эндометрия–микробиота–иммунное микроокружение».

Эффективность лечебной стратегии фенотипа хронического воспаления (восстановление архитектоники – 70,0%, рецептивности – 63,3%) основана на эффектах ее составляющих: пробиотиков, способность которых к улучшению барьерной функции эпителия, подавлению воспалительной реакции, восстановлению метаболизма и характеристик микробиома эндометрия недавно представлена [267]. Возможность смены «микробной доминанты» при пероральном введении пробиотиков базируется на данных о регуляции вагинальной экосистемы [262] и подавлении активности NF- κ B и экспрессии TNF- α во влагалище и матке [168]. Восстановление регенеративного потенциала эндометрия при использовании аутоплазмы полагаем следствием подавления процесса апоптоза и воспаления, достигаемого, согласно источникам, через активацию пути NRF2/HO-1 в эпителиоцитах желез [293]. Эффект восполнения дефицита витамина D при фенотипе хронического воспаления эндометрия достигается уменьшением цитокин–опосредованных провоспалительных реакций с активацией Th2–звена и стимуляцией продукции TGF- β 1, реализацией антипролиферативного, проапоптотического действия [383].

Исследование патогенетических механизмов нарушения гомеостаза, локального иммунного статуса и молекулярного профиля, составляющих основу эндометриальной дисфункции, позволяет рекомендовать таргентные стратегии лечения (Рисунок 101–104).



Рисунок 101 – Патогенез молекулярно-адаптационных нарушений в период «окна имплантации» при пролиферативном фенотипе

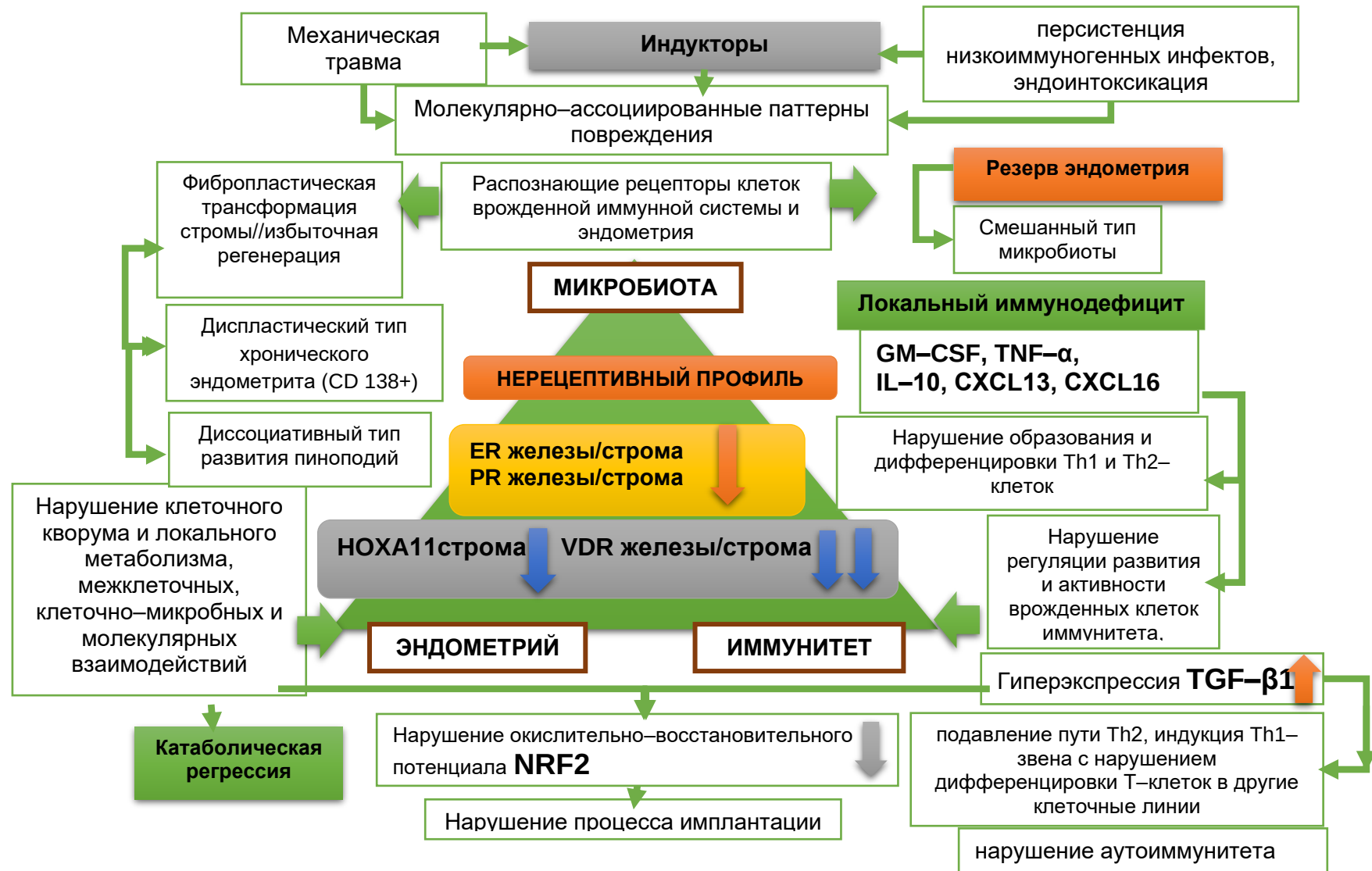


Рисунок 102 – Патогенез молекулярно-адаптационных нарушений в период «окна имплантации» при диспластическом фенотипе



Рисунок 103 – Патогенез молекулярно-адаптационных нарушений в период «окна имплантации» при фенотипе нарушенного иммунного статуса

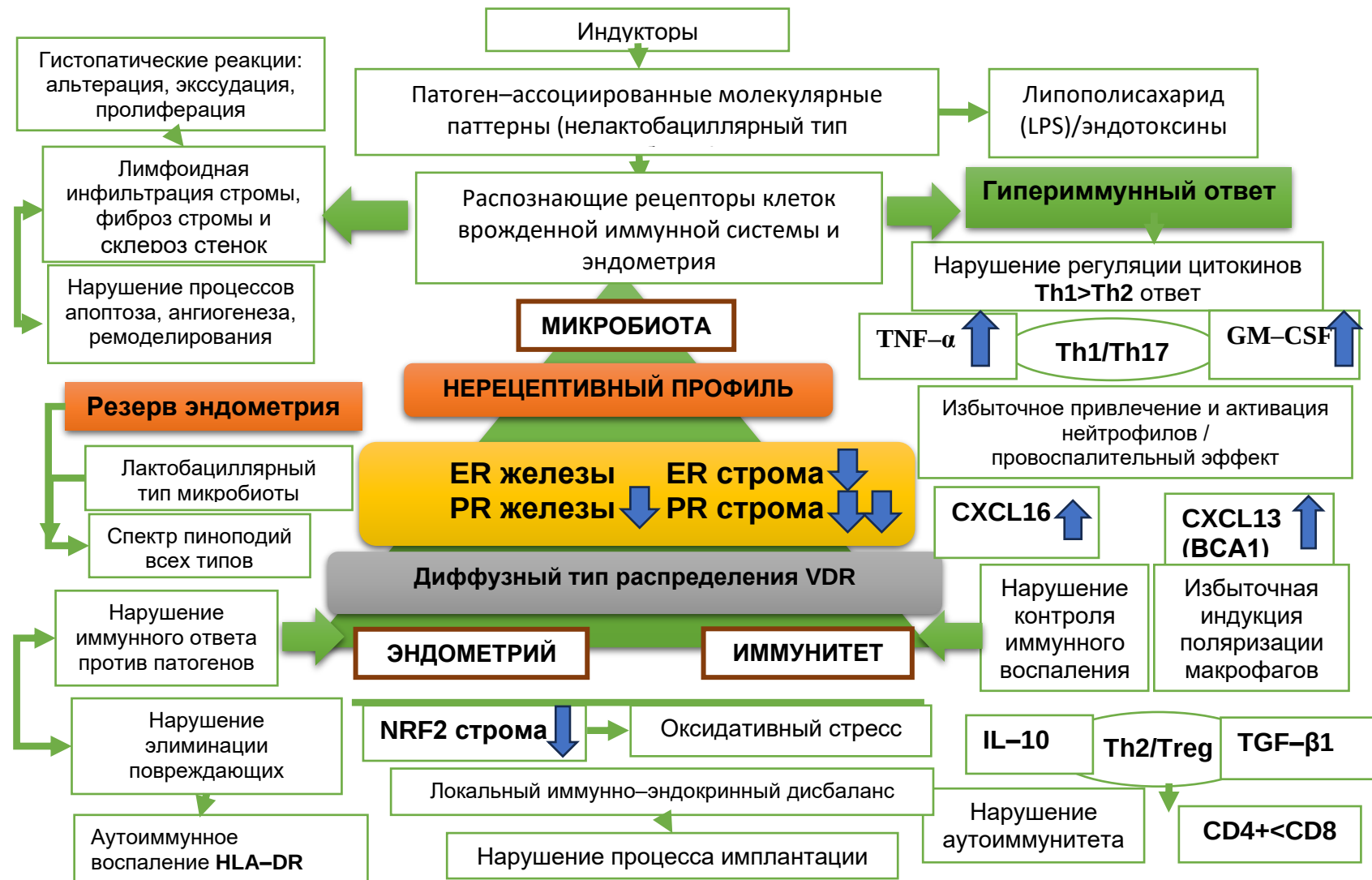


Рисунок 104 – Патогенез молекулярно-адаптационных нарушений в период «окна имплантации» при хроническом воспалении

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приоритетным решением проблемы преодоления повторных неудач ЭКО является разработка стратегии лечения женщин, основанная на создании алгоритма ранней диагностики, построении прогностических моделей вариантов эндометриальной дисфункции, дифференцированном выборе лечебной тактики. Персонафицированная тактика ведения способствует выяснению эндометриального резерва, определяемого иммунным профилем эндометрия, адаптационно-гомеостатическим потенциалом и степенью триггерного воздействия (микробная нагрузка, внутриматочные вмешательства). Использование «тонких» методов диагностики нарушений состояния эндометрия (ИГХ и ПЦР-РВ) позволяет утверждать о сложности молекулярных коммуникаций, координируемых эндокринными, паракринными, иммунокомпетентными медиаторами (цитокины, хемокины, факторы роста) и типом микробиоты (лакто- и нелактобациллярный). Представлены молекулярно-адаптационные фенотипы эндометрия, обусловленные, преимущественно, различным иммунным микроокружением внутри каждой группы с бесплодием. Комплексный подход, основанный на стратификации предикторов повторных неудач ЭКО, и выборе персонафицированной и перспективной стратегии лечения подтверждает эффективность в сравнении с традиционным.

По результатам нашего исследования были сделаны следующие **выводы**:

1. Распространенность доказанных болезней эндометрия среди женщин с повторными неудачами ЭКО является следствием: невыявленного хронического эндометрита (бесплодие неясного генеза – 9,4%, трубно-перитонеальное – 38,5%, наружный генитальный эндометриоз – 20,7%), гиперплазии без атипии/полипов тела матки (соответственно 30,2%, 21,8% и 27,6%), их сочетания с хроническим эндометритом (трубно-перитонеальное бесплодие – 3,8%, наружный генитальный эндометриоз – 5,2%, хронический эндометрит – 23,2%), а также его фибропластической трансформации стромы (очаговый фиброз/синехии) [бесплодие неясного генеза – 9,4%, трубно-перитонеальное бесплодие – 6,4%, наружный генитальный эндометриоз – 12,1%, «тонкий» эндометрий – 71,4%].

Частота ХЭ в одноименной группе составляет 68,1%, в сочетании с гиперплазией эндометрия без атипии – 11,6%, полипом тела матки – 11,6%.

2. Структура заболеваний эндометрия при повторных неудачах ЭКО включает: хронический эндометрит (31,3%), другие невоспалительные заболевания матки (фибропластическая трансформация стромы – 15,7%), гиперплазию без атипии/полип тела матки (16,3%) наряду с полноценной секреторной трансформацией (36,7%).

3. Структурно-метаболическую «мозаичность» эндометрия при повторных неудачах ЭКО формирует доминантный патоморфологический паттерн [пролиферативный (20,7% при бесплодии неясного генеза), диспластический (71,4% при «тонком» эндометрии), хроническое воспаление (68,1% при хроническом эндометрите), норма (50,9% при бесплодии неясного генеза)], который отражает состояние адаптационно-гомеостатического потенциала ткани на фоне вирусного поражения эндоцервикса (бесплодие неясного генеза – 27,8%), нарушений цервико-вагинального биотопа (бесплодие неясного генеза – 34,9%, трубно-перитонеальное – 59,6%, наружный генитальный эндометриоз – 55,1%, «тонкий» эндометрий – 29,8%, хронический эндометрит – 61,6%) и микробиома матки (13,2% – при бесплодии неясного генеза, 35,7% – при трубно-перитонеальном бесплодии, наружном генитальном эндометриозе и при «тонком» эндометрии, 55,1% – при хроническом эндометрите).

4. Морфологическими маркерами нерецептивного эндометрия в период «имплантационного окна» у пациенток с повторными неудачами ЭКО выступают ($p < 0,05$) признаки несоответствия его структуры [гипопластически-диспластический тип (при «тонком» эндометрии – 66,7%), задержка полноценной секреторной трансформации (бесплодие неясного генеза – 39,6%; трубно-перитонеальное бесплодие – 34,6%; наружный генитальный эндометриоз – 37,9%; «тонкий» эндометрий – 78,6%; хронический эндометрит – 53,6%)] и темпов развития пиноподий (52,8% – созревающие, 20,8% – регрессивные).

5. Иммуногистохимическим маркером неудач имплантации выступает дисбаланс экспрессии ER/PR и кофакторов рецептивности VDR и HOXA11,

который выявляется как при полноценной секреторной трансформации (38,6%), так и в нерецептивном эндометрии (бесплодие неясного генеза – 100%; трубно-перитонеальное бесплодие – 83,8%; наружный генитальный эндометриоз – 72,3%; хронический эндометрит – 86,1%; «тонкий» эндометрий – 50,0%). Рецептивный профиль при секреторной зрелости эндометрия (8,8%) обосновывает поиск молекулярных предикторов повторных неудач ЭКО.

6. Иммунные механизмы имплантационной несостоятельности эндометрия при повторных неудачах ЭКО реализуются посредством специфического реагирования факторов локальной Th1/Th2-системы на экзо- и эндогенные воздействия с дисрегуляцией интерфейса «эндометрий-локальная иммунная система-микробиота» и формированием метаболически неблагоприятной микросреды. Молекулярные иммунные фенотипы эндометрия, выделенные с учетом патоморфологической основы, различные внутри групп с бесплодием (норма – 13,0%; нарушенный иммунный статус – 27,0%; диспластический – 25,0%; пролиферативный – 23,0%; хроническое воспаление – 12,0%) отражают адаптивные реакции на триггерное воздействие.

7. Патогенетическую основу фенотипа нарушенного иммунного статуса эндометрия создает его нерецептивный профиль (81,2%) [сверхэкспрессия ($p<0,001$) PR в железах (в 1,4 раза выше, чем в группе сравнения), VDR в железах и строме (соответственно выше в 1,3 раза и в 1,4 раза, $p<0,001$), HOXA11 в строме (в 1,5 раза выше)] при асинхронном (65,4%) и патологическом (34,6%) смещении «окна имплантации» на фоне полноценной секреторной трансформации (59,4%) и пиноподий созревающего типа (71,9%). Клинической особенностью фенотипа можно считать значимо более высокую частоту рецидивов бактериального вагиноза (43,8%) (ОШ=7,7; 95% ДИ: 1,5–39,0) при преобладании лактобациллярного типа микробиоты матки (81,2%).

8. Молекулярно-адаптационные особенности при нарушенном иммунном статусе эндометрия формируются в результате нарушения механизмов гормонально-опосредованного иммунного воспаления в период предполагаемого «окна имплантации», что опосредуется изменениями экспрессии молекулярных

маркеров, отличными от группы сравнения ($p < 0,001$): в железистом компартменте – снижение GM-CSF (в 1,4 раза), CXCL16 (в 1,4 раза) и TNF- α (в 1,3 раза), повышение NRF2 (в 1,1 раза) (индекс TNF- α / IL-10=1,0); в строме – снижение TNF- α (в 1,3 раза) (индекс TNF- α / IL-10=0,94).

9. Диспластический фенотип эндометрия определяют: неоднократные внутриматочные вмешательства (80,9%), низкий уровень 25(OH)D (72,3%), в том числе сочетанные с эхо-признаками (соответственно 78,7% и 55,3%) и гистероскопическими маркерами истончения и фиброза (80,9%). Ведущими звеньями патогенеза верифицированных дистрофических изменений эндометрия (78,7%, 21,3% – на фоне хронического эндометрита) являются нарушение клеточного кворума (диссоциированный тип развития пиноподий – 55,9%), блокирование энергетических субстратов (нелактобациллярный тип микробиоты – 41,2%), нерецептивный профиль [91,5%; снижение ($p < 0,001$) экспрессии в железах и в строме ER (соответственно в 1,6 раза и в 1,4 раза) и PR (соответственно в 1,6 раза и в 2 раза)].

10. Иммунный профиль диспластического фенотипа эндометрия, определяемый дефицитом состава и активности иммунокомпетентных клеток и нарушением аутоиммунитета, заключается ($p < 0,001$) в резком, в отличие от группы сравнения, угнетении экспрессии маркеров в компартментах (железистом – GM-CSF, TNF- α , IL-10, CXCL16, BCA1; стромальном – GM-CSF, TNF- α , IL-10, CXCL16), при достоверной прогностической ценности гиперэкспрессии TGF- β 1 ($p = 0,015$) на фоне хронического оксидативного стресса (гипоэкспрессия NRF2 – в 1,2 раза, VDR в железах – в 1,4 раза, VDR в строме – 1,3 раза).

11. Концептуальную основу пролиферативного фенотипа эндометрия определяют поражение эндоцервикса вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска (60,0%) и вмешательства на шейке матки при вирусной инфекции (60,0%) в анамнезе. Клинико- патоморфологическими маркерами выступают полипы (62,5%), гиперплазия эндометрия (37,5%) либо их сочетание с хроническим эндометритом (33,3%). Молекулярно-адаптационные особенности эндометрия при пролиферативном фенотипе представляются следствием

интегрального воздействия эндогенных и патоген-ассоциированных паттернов, приводящего к избыточной пролиферации/подавлению апоптоза: aberrantный рецептивный профиль (87,5%) [сверхэкспрессия ($p<0,001$) ER в железистом компартменте (в 2 раза) и в строме (в 1,2 раза); снижение ($p<0,001$) экспрессии PR соответственно в 1,1 раза и в 2,3 раза]; сверхэкспрессия Ki-67 (эпителий/строма – соответственно 3,97% и 2,56%) и HOXA11 – в 1,6 раза ($p<0,001$); мультифокальный тип распределения VDR (70,0%) при лактобациллярном типе микробиоты матки (68,4%).

12. Снижение имплантационной восприимчивости эндометрия при пролиферативном фенотипе опосредуется гиперэкспрессией ($p<0,001$) в железистом компартменте GM-CSF (в 1,2 раза) и TNF- α (в 1,1 раза) (индекс TNF- α / IL-10=1,5). При сочетании с хроническим эндометритом имеет место гиперэкспрессия GM-CSF (в 1,2 раза, $p<0,001$) и CXCL16 (в 1,1 раза, $p<0,001$), а также угнетение экспрессии NRF2 в строме (в 1,4 раза, $p=0,02$).

13. Предикторами фенотипа хронического воспаления эндометрия выступают рецидивирующие вагиниты (80,0%), контаминация эндоцервикса (80,0%) на фоне рецидивов бактериального вагиноза (60,0%). Повторные неудачи ЭКО при этом фенотипе представляются следствием различного патоморфологического концепта воспаления [«неполная» (50,0%) и «полная» картина (микрополипоз – 50,0%)] и молекулярно-адаптационных реакций на гиперреактивность патоген-распознающих рецепторов: aberrantного (100%) профиля [гипоэкспрессия PR, более выраженная в строме ($p<0,001$), чем в железах ($p=0,01$)], гиперэкспрессия VDR в железах и строме (в 1,2 раза, $p<0,001$), положительная экспрессия CD138+, HLA-DR+, инверсия индекса иммунных кластеров $CD8^+ > CD4^+$ ($p<0,001$). Нарушение микробиома матки при фенотипе хронического воспаления (нелактобациллярный тип – 63,3%; дисбиотический профиль – 46,7%) определяет срыв интерфейса «эндометрий-иммунная система-микробиота» с формированием метаболически неблагоприятной для имплантации микросреды.

14. Нарушение гормонально-опосредованного процесса имплантации при фенотипе хронического воспаления детерминирует Th1-смещение цитокиновой микросреды и нарушение иммунной толерантности: гиперэкспрессия в отличие от группы сравнения в железистом компартменте – GM-CSF и CXCL16 (в 1,2 раза, $p<0,001$), BCA1 – в 1,7 раза (индекс $TNF-\alpha / IL-10=2,5$), в строме – $TNF-\alpha$ и CXCL16 (в 1,2 раза, $p<0,001$) при низкой экспрессии $TGF-\beta 1$ ($p=0,01$).

15. Ключевыми звеньями патогенеза полипов эндометрия выступают возрастание пролиферативного потенциала на фоне нарушения локального иммунного статуса [сверхэкспрессия ($p<0,001$) ER в железах – в два раза, чем в группе сравнения ($p<0,001$), VDR в железах и строме (соответственно выше в 1,4 раза и в 1,5 раза), NOXA11 в строме (в 1,6 раза), а также преобладание экспрессии Ki-67 в строме над эпителием (3,88/2,46%) и снижение ($p<0,001$) экспрессии PR в железах (в 1,1 раза) и в строме (в 2,3 раза)] в ответ на триггерное воздействие [эндокринные дизрапторы при полипах (13,3%)]; повреждение эндоцервикса вирусом папилломы высокого онкогенного риска (40,0%) и хирургические вмешательства на шейке матки (60,0%) при полипах на фоне воспаления (62,5%). Маркерами иммунного дисбаланса при полипах эндометрия следует считать гиперэкспрессию GM-CSF, $TNF-\alpha$ и гипозэкспрессию NRF2 в строме (ниже в 1,4 раза, $p=0,02$), отражающую развитие хронического оксидативного стресса; при полипах на фоне воспаления маркером является гиперэкспрессия в железах GM-CSF (в 1,2 раза, $p<0,001$) и CXCL16 (в 1,1 раза, $p<0,001$).

16. Разработанные математические модели позволяют с высокой чувствительностью и специфичностью осуществлять расчет персонифицированного риска снижения эндометриального резерва (Модель А, соответственно 90,2% и 77,4%) и нарушений локального иммунитета эндометрия по сумме клинико-анамнестических факторов [(Модель 1 – риск нарушенного иммунного статуса (соответственно 77,3% и 96,7%), Модель 2 – низкоиммунного ответа (соответственно 86,4% и 93,8%), Модель 3 – гипериммунного ответа (соответственно 86,4% и 92,5%), Модель 4 – избыточного иммунного воспаления (соответственно 77,3% и 96,7%)]]. Модели, разработанные на основании

иммуногистохимической оценки экспрессии иммунных маркеров в период «окна имплантации», позволяют с высокой чувствительностью и специфичностью прогнозировать риск сформированных фенотипов эндометрия: нарушенного иммунного статуса (Модель I – 100%), диспластического (Модель II – соответственно 86,4% и 95,7%), пролиферативного (Модель III – соответственно 81,8% и 95,0%), хронического воспаления (Модель IV – 100%).

17. Предложенный алгоритм ранней диагностики болезней эндометрия, ассоциированных с повторными неудачами ЭКО, базируется на определении доминантного патоморфологического паттерна (пролиферативный, диспластический, ассоциированный с хроническим эндометритом, «норма»), в соответствии с которым патоморфологическое исследование дополняют специфическим иммуногистохимическим тестированием (Ki-67 и NOXA11; CD138+, CD4+, CD8+; HLA-DR+; VDR) и оценкой типа микробиоты с выводами о качестве эндометриального резерва (Модель А). При его снижении рекомендуется расчет персонифицированного риска нарушений локального иммунитета (Модели 1-4) и далее – вероятности сформированных специфических фенотипов эндометрия [Модели I-IV] – прицельное иммунофенотипирование (TNF- α , GM-CSF, IL-10, CXCL16, BCA1, TGF- β I, NRF2).

18. Векторизация структурно-функциональных нарушений эндометрия обосновывает перспективность стратегий лечения: при фенотипе нарушенного иммунного статуса и патологическом смещении «окна имплантации» – иммуномодулирующая терапия (цитокиноterapia), диспластическом фенотипе и хроническом воспалении – клеточные регенеративные технологии, пролиферативном – противовирусные препараты и фитомолекулы с таргентным антипролиферативным действием. Эффективность персонифицированного подхода при повторных неудачах ЭКО, основанного на коррекции многоуровневых «поломок» при выявленных молекулярно-адаптационных фенотипах, подтверждают значимо более оптимальные в сравнении с традиционным лечением параметры восстановления структуры и гомеостаза: секреторная трансформация (75,2% против 62,2%, $p=0,03$), рецептивный профиль

(62,4% против 49,0%, $p=0,048$), частота имплантации (52,1% против 30,6%, $p=0,002$), частота наступления клинической беременности [в целом 35,4% против 19,4%, ($p=0,007$); при фенотипе нарушенного иммунного статуса – 46,9%, хронического воспаления – 30,0%, пролиферативном – 34,2%, диспластическом – 23,5%, фенотипе «нормы» – 60,0%] и частота take-home baby (29,9% против 16,3%, $p=0,02$).

Полученные результаты позволили сформировать **практические рекомендации:**

- В выборке женщин с повторными неудачами ЭКО на этапе реабилитации и планирования вступления в новый цикл программ ВРТ рекомендуется комплексное обследование для исключения как заболеваний, так и неявных нарушений функции эндометрия:

- целесообразно определение при эхографии матки и гистероскопии доминантного типа реакций – пролиферативный, диспластический, ассоциированный с ХЭ, вариант «нормы», в соответствии с которым патоморфологическое исследование эндометрия, полученного методом пайпель-биопсии в период предполагаемого «окна имплантации», дополняют объемом исследований:

- при неполной патоморфологической картине ХЭ – окраска образцов по Маллори;

- ИГХ: при пролиферативном типе – оценка экспрессии Ki-67 и NOXA11; ХЭ – базового комплекса маркеров CD138+, CD4+, CD8+; лимфофолликулярном ХЭ – HLA-DR+;

- типа микробиоты эндометрия методом ПЦР-РВ («Фемофлор-16»);

- Всем пациенткам следует рекомендовать оценку адаптационных ресурсов организма (кольпоскопия, микробиологический блок исследований биотопов генитального тракта, биохимический скрининг на 25(OH)D).

- Стратификация женщин по группам риска снижения эндометриального резерва в отсутствие явных заболеваний эндометрия осуществляется после

комплексного обследования с помощью предложенной прогностической Модели А.

- При высоком риске снижения эндометриального резерва рекомендуется расчет персонифицированного риска нарушений локального иммунитета с выбором типа Модели (1-4) в зависимости от данных анамнеза и результатов комплексного исследования эндометрия.

- При низком риске – период предполагаемого «окна имплантации» следует уточнить с учетом сроков овуляции по мочевым тестам (ЛГ7+), оценки зрелости фолликулов методом СЭМ: при дисхронозе целесообразен мониторинг (ЛГ5+/ЛГ7+) с целью выяснения причины смещения «окна имплантации» (мочевые тесты на овуляцию, ЛГ7+) – асинхронное или патологическое. При асинхронном – после уточнения предполагаемого периода «окна имплантации» рекомендуется перенос эмбриона в программах ЭКО, патологическом – расчет персонифицированного риска нарушений локального иммунитета.

- При низком риске иммунных нарушений следует осуществлять лечение выявленных заболеваний эндометрия с контролем излеченности и оценкой репродуктивности.

- При высоком риске иммунных нарушений эндометрия целесообразно прогнозирование сформированного специфического молекулярно-адаптационного фенотипа на основании персонифицированной оценки экспрессии маркеров (Модели I-IV).

- Выделение фенотипов эндометрия следует рассматривать как возможность реализации персонифицированной тактики ведения, предполагающей контроль излеченности на молекулярном уровне и стратификацию женщин по способности к реализации фертильности естественным путем или нуждающихся в суррогатном материнстве.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Полученные результаты обнаруживают перспективы дальнейших исследований в области молекулярной биологии и иммунологии репродукции: дальнейшая идентификация и функциональный анализ ключевых медиаторов и модификаторов реакции

эндометрия на триггерное воздействие не только обеспечит представление о ранних изменениях локального гомеостаза, способствующих наступлению беременности, но и приведут к разработке более эффективных механизмов молекулярной диагностики и прецизионной терапии, новых стратегий для продвижения терапевтических парадигм в преодолении повторных неудач ЭКО, ассоциированных с эндометриальным фактором.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- а-ГнРГ – агонисты гонадотропин-рилизинг гормона
- АМГ – антимюллеров гормон
- АТ – антитела
- АТФ – аденозинтрифосфат
- АФК – активные формы кислорода
- БВ – бактериальный вагиноз
- БНГ – бесплодие неясного генеза
- ВЗОМТ – хронические воспалительные заболевания органов малого таза
- ВКМ – внутриклеточная масса
- ВПГ1,2 – вирус простого герпеса 1,2 типа
- ВПЧ ВР – вирус папилломы человека высокого онкогенного риска
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ВЭБ – вирус Эпштейна–Барр
- ГСГ – гистеросальпингография
- ГЭ – гиперплазия эндометрия
- ГЭ/мл – геном-эквивалентные единицы на миллилитр
- ДИ – доверительный интервал
- ДК – дендритные клетки
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЖДА – железодефицитная анемия
- ИГХ – иммуногистохимия
- ИМТ – индекс массы тела
- ИППП – инфекции, передаваемые половым путем
- КОЕ – колониеобразующие единицы
- ЛГ – лютеинизирующий гормон
- ЛПС – липополисахарид
- мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
- МЦ – менструальный цикл
- НБ – неразвивающаяся беременность

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

ОБМ – общая бактериальная масса

ОКК – ооцит–кумулюсные комплексы

ОР – относительный риск

ОШ – отношения шансов

ПГТ – преимплантационное генетическое тестирование

ПНБ – привычное невынашивание беременности

ПНИ – повторные неудачи имплантации

ПЦР–РВ — полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

ПЭ – полип эндометрия

РКИ – рандомизированные контролируемые исследования

м-РНК – (микро)-рибонуклеиновая кислота

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТПБ – трубно–перитонеальное бесплодие

УЗИ – ультразвуковое исследование

УПМ – условно–патогенные микроорганизмы

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХЭ – хронический эндометрит

ЦМВ – цитомегаловирус

ЧНБ – частота наступления беременности

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

1,25(ОН)₂D₃ — 1,25–дигидроксиголекальциферол (кальцитриол)

25(ОН)D — 25–гидроксивитамин D₃ (кальцидиол)

ХГЧ – хорионический гонадотропин человека

AUC – area under curve, площадь под кривой

BAH – Bcl–2–ассоциированный X–белок, регулятор апоптоза

BCL2 – B–cell leukemia/lymphoma 2

CASP8 – каспаза–8

CD4+ – cluster of differentiation, кластер дифференцировки, Т–хелперы, регуляторные

CD8+ – Т–супрессоры, цитотоксические

CD20+ – маркер В–лимфоцитов

CD34+ – белок межклеточной адгезии

CD45+ – маркер лейкоцитов

CD56+ – маркер естественных маточных киллеров

CD68 – маркер макрофагов

CD86+ – мембранный белок суперсемейства иммуноглобулинов, экспрессированный на антиген–представляющих клетках

CD138+ – плазматические клетки

CIN – cervical intraepithelial neoplasia, цервикальная интраэпителиальная неоплазия

CXCL13/BCA1 – B cell–attracting chemokine 1, хемоаттрактант В–лимфоцитов

CXCL16 – chemokine–16, хемокин–16

CYP27B1 – фермент, катализирующий синтез гидроксивитамина D в кальцитриол в почках

ER – estrogen receptors, эстрогеновый рецептор

ERA – endometrial receptivity assay, анализ рецептивности эндометрия

FI – flow index, индекс кровотока

G–/GM–CSF – granulocyte/granulocyte–macrophage colony–stimulating factor, гранулоцитарный/гранулоцитарно–макрофагальный колониестимулирующий фактор

HLA–DR – Human Leukocyte Antigen DR, маркер активированных лимфоцитов

HOXA10,11 – Homeobox A10, гомеобоксные белки

IGFBP1 – insulin–like growth factor binding protein 1, инсулиноподобный фактор роста, связывающий белок 1

IFN– γ – интерферон–гамма

IL–2 – interleukin–2, интерлейкин–2

IL–10 – interleukin–10, интерлейкин–10

IL–11 – interleukin–11, интерлейкин–11

IR – resistive index, индекс резистентности

Ki–67 – маркер клеточной пролиферации

LIF – leukemia inhibitory factor, лейкемия–ингибирующий фактор

Me – медиана

M – средние арифметические величины

NF- κ B – nuclear factor – kappa B, ядерный фактор каппа в

NK – uterine natural killer, естественные киллеры

NRF2 – nuclear factor, erythroid 2 like 2, редокс–чувствительный ядерный транскрипционный фактор, связанный с эритроидным фактором

PI – pulsatility index, пульсационный индекс

PR – progesterone receptor, прогестероновый рецептор

PRP – platelet rich plasma, плазма, обогащенная тромбоцитами

PIBF – progesterone–induced blocking factor, прогестерон–индуцированный блокирующий фактор

p16ink4a – ингибитор циклинзависимых киназ и маркер нарушения клеточного цикла

ROC–анализ – receiver operator characteristic, кривая для представления результатов логистической регрессии

SD – standard deviation, стандартное отклонение

TLR – toll–like receptor, толл–подобные рецепторы

TGF- β 1 – transforming growth factor beta–1, трансформирующий фактор роста, бета–1

Th1 – T helper cell 1, Т–хелпер 1, клеточный иммунный ответ

Th2 – T helper cell 2, Т–хелпер 2, гуморальный иммунный ответ

Th17 – Т–хелперы 17

TNF- α – tumor necrosis factor- α , фактор некроза опухоли–альфа

Treg – регуляторные Т–клетки

VDR – vitamin D receptor, рецепторы к витамину D

VEGF-A – vascular endothelial growth factor A, сосудисто–эндотелиальный фактор роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанова, Л.М. Эндометриальные пиноподии как маркер имплантации человека / Л.М. Агаджанова // Проблемы репродукции. – 2010. – №3. – С.6 –11.
2. Алгоритм диагностики и лечения хронического эндометрита / Н.И. Тапильская, Г.Х. Толибова, К.В. Обьедкова [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2022. – Т.3. – №3. – С.16 –26.
3. Анализ экспрессии рецепторов витамина D у больных наружным генитальным эндометриозом / М.И. Ярмолинская, А.С. Денисова, Г.Х. Толибова [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 3. – С. 117 – 123.
4. Аномальное гиперметилование генов HOXA10 и HOXA11 при бесплодии, ассоциированном с хроническим эндометритом / Г.Т. Сухих, А.И. Осипьянц, Л.И. Мальцева [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – №12. – С.69 –74.
5. Бактериальный вагиноз и аэробный вагинит как основные нарушения баланса вагинальной микрофлоры. особенности диагностики и терапии / А.М. Савичева, Н.И. Тапильская, Е.В. Шипицына [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2017. – №5. – С.24 – 31.
6. Барсегян, Л.К. Эргокальциферол и тазовая боль, ассоциированная с овариальным эндометриозом / Л.К. Барсегян, М.Р. Оразов, А.О. Духин // Исследования и практика в медицине. – 2018. – Т. 5. – № S1. – С. 19–21.
7. Белоусов, Д.М. Прегравидарная подготовка женщин с привычным невынашиванием беременности ранних сроков: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Дмитрий Михайлович Белоусов. – М., 2007. – 24 с.
8. Богданова, А.М. Комплексное лечение хронического гипопластического эндометрита у пациенток с бесплодием: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Анна Михайловна Богданова. – М., 2018. – 25 с.

9. Бочков, В.В. Современные подходы к комплексной терапии хронического неспецифического эндометрита (обзор литературы) / В.В. Бочков, А.Н. Плеханов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2015. – №4. – С.91–96.
10. Брагина, Е.Е. Электронно-микроскопическое исследование эндометрия при неудачах имплантации / Е.Е. Брагина // Материалы XXV международной конференции Российской Ассоциации репродукции человека (9–12 сентября 2015 г., Сочи). – 2015. – С. 43.
11. 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.
12. Вирус-ассоциированный хронический эндометрит: возможности терапии / Н.И. Тапильская, Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль и соавт. // Гинекология. – 2022. – Т.24. – №5. – С.348 – 354.
13. Витамин D и репродуктивное здоровье женщины / В.В. Дорофейков, И.Е. Зазерская, Е.Л. Хазова [и соавт.] // СПб.: Эко-Вектор. – 2017. – 151 с.
14. Влияние витамина D на репродуктивное здоровье женщины / М.О. Баклейчева, И.В. Ковалева, О.Н. Беспалова [и соавт.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2018. – Т. 67. – № 3. – С. 4 – 19.
15. Возможности системной энзимотерапии хронического эндометрита после неразвивающейся беременности / И.М. Ордянец, Е.А. Коган, С.С. Барабашева [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2020. – №12. – С.186 – 193.
16. Волкова, Е.Ю. Прегравидарная подготовка при хроническом эндометрите / Е.Ю. Волкова, Е.С. Силантьева // Эффективная фармакотерапия. – 2014. – Т.32. – С. 36–39.
17. Волкова, Е.Ю. Прегравидарная подготовка женщин с нарушением репродуктивной функции и "тонким" эндометрием: автореф. дис. ...канд. мед.

наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Екатерина Юрьевна Волкова. – М., 2014. – 23 с.

18. Воропаева, Е.Е. Самопроизвольный аборт: патоморфоз, этиология, патогенез, клинико–морфологическая характеристика, реабилитация: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Екатерина Евгеньевна Воропаева. – Челябинск, 2011. – 46 с.

19. Гинекология [Электронный ресурс]: учебник / под ред. Г.М. Савельевой, В.Г. Бреусенко. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2018. – 432 с.

20. Гипоксическое повреждение и неоваскуляризация эндометрия при гиперплазии слизистой оболочки матки / Э.А. Казачкова, Е.Л. Казачков, А.В. Затворницкая [и соавт.] // РМЖ. Мать и дитя. – 2019. – Т. 2. – № 3. – С. 232–235.

21. Гохберг, Я.А. Молекулярные маркеры рецептивности эндометрия в программах вспомогательных репродуктивных технологий / Я.А. Гохберг, А.В. Тимофеева, Е.А. Калинина // Акушерство и гинекология. – 2021. – №11. – С.56 – 62.

22. Гришкина, А.А. Морфофункциональные критерии эндометриальной дисфункции у женщин с первичным бесплодием при пролиферативных заболеваниях матки: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.02 – патологическая анатомия / Анастасия Александровна Гришкина. – СПб., 2021. – 24 с.

23. Дамирова, К.Ф. Иммуноцитохимические маркеры привычного невынашивания беременности: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 3.1.4 – акушерство и гинекология / Кемер Фирудин кызы Дамирова. – М., 2022. – 25 с.

24. Дефицит витамина D у взрослых: диагностика, лечение и профилактика: клинические рекомендации / Российская ассоциация эндокринологов, ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Текст: электронный. – М., 2015. – 75 с. – URL: <https://minzdrav.govmurman.ru/documents/poryadki-okazaniya-meditsinskoy-pomoshchi/D%2019042014.pdf> (дата обращения: 16.03.2022).

25. Дикке, Г.Б. Нарушение иммунного статуса при хроническом эндометрите и опыт его коррекции посредством локальной цитокинотерапии / Г.Б. Дикке, В.В. Остроменский // Акушерство и гинекология. – 2019. – №9. – С.139 – 146.
26. Дикке, Г.И. Трубно–перитонеальное бесплодие у женщин. Возможности повышения эффективности лечения / Г.Б. Дикке, Г.И. Василенко // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 9. – С.119 – 125.
27. Довгань, А.А. Современные тренды в поиске маркеров рецептивности эндометрия – от отдельных параметров к комплексному подходу / А.А. Довгань, М.М. Зиганшина, Н.В. Долгушина // Акушерство и гинекология. – 2020. – №11. – С.26 – 32.
28. Дюжева, Е.В. Гормональная подготовка эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО в анамнезе: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Елена Валерьевна Дюжева. – М., 2010. – 25 с.
29. Дюжева, Е.В. Принципы индивидуальной гормональной подготовки эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО / Е.В. Дюжева, Е.А. Коган, Е.А. Калинина // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 7. – С.39 – 45.
30. Иванов, И.А. Оптимизация тактики ведения пациенток с полипами эндометрия на основе их клинико–морфологических и молекулярно–биологических особенностей: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Илья Андреевич Иванов. – М., 2020. – 28 с.
31. Иевлева, К.Д. Особенности взаимодействия Toll–подобных рецепторов с вирусной инфекцией репродуктивного тракта как предиктор развития хронического эндометрита / К.Д. Иевлева, И.Н. Данусевич, Л.В. Сутурина // Акушерство и гинекология. – 2022. – №6. – С.5 – 12.
32. Иммунный ответ при разных морфологических формах хронического эндометрита у женщин с нарушением имплантации / Е.А. Михнина, Н.И. Давыдова, В.А. Казанцев и соавт. // Акушерство и гинекология. – 2021. – №12. – С.110 – 118.

33. Иммуноморфологическое исследование эндометрия при хроническом хламидийном сальпингоофорите / А.Н. Эллиниди, Д.Ф. Костючек, Л.Б. Дрыгина [и соавт.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2011. – Т. LX. – №1. – С. 83 – 87.

34. Инцидентность гиперпластических процессов в эндометрии у инфертильных женщин, получавших лечение с использованием экстракорпорального оплодотворения / И.Ю. Ершова, К.В. Краснопольская, М.Р. Оразов [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2022. – №7. – С.114 –120.

35. Клинико–морфологические аспекты эндометриальной дисфункции, обусловленной хроническим эндометритом / Л.М. Михалева, М.Н. Болтовская, С.А. Михалев [и соавт.] // Архив патологии. – 2017. – Т.79. – №6. – С.22–29.

36. Клинико–морфологические особенности эндометрия при внутриматочных синехиях: оценка экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов / П.М. Хириева, С.А. Мартынов, Л.С. Ежова [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2018. – №9. – С.48 – 54.

37. Клинические рекомендации – Женское бесплодие – 2021–2022–2023 (24.06.2021) – Утверждены Минздравом РФ // Российское общество акушеров–гинекологов. – М., 2021. – 50 с.

38. Кондриков, Н.И. Патология матки / Н.И. Кондриков // М.: Практическая медицина. – 2008. – 334 с.

39. Краснопольская, К.В. Тонкий эндометрий. Лечение бесплодия у женщин с гипоплазией эндометрия. / К.В. Краснопольская, И.Ю. Ершова, А.А. Федорова // Москва: ГЭОТАР–Медиа, 2019. – 112 с.

40. Крутова, В.А. Пути преодоления женского бесплодия: автореф. дис. ... д–ра мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Виктория Александровна Крутова. – М., 2016. – 48 с.

41. Крылова, Ю.С. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации / Ю.С. Крылова, И.М. Кветной, Э.К. Айламазян // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – Т. 62. – № 2. – С.63 –74.

42. Лызикова, Ю.А. Особенности продукции и рецепции половых гормонов у пациенток с хроническим эндометритом / Ю.А. Лызикова // Акушерство и гинекология. – 2020. – №12. – С.144 – 148.
43. Львова, А.В. Эффективность лечения «тонкого» эндометрия при маточной форме бесплодия и невынашивания беременности: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Алена Валерьевна Львова. – М., 2018. – 25 с.
44. Мальцева, Л.И. Хронический эндометрит – новое время, новые подходы к лечению / Л.И. Мальцева, Р.И. Шарипова // Практическая медицина. – 2019. – Т.7. – №4. – С.15 – 19.
45. Маркеры воспаления в нормальном и тонком эндометрии при хроническом эндометрите / И.О. Маринкин, Н.В. Трунченко, А.В. Волчек [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2018. – №2. – С.65 – 73.
46. Маслова, М.А. Современные подходы к диагностике и лечению нарушений рецепторного аппарата эндометрия у пациенток с повторными неудачами имплантации / М.А. Маслова, С.В. Павлович, В.Ю. Смольникова // Акушерство и гинекология. – 2021. – №3. – С.26 – 35.
47. Медико–социальные факторы бесплодия в России / И.Е. Корнеева, Т.А. Назаренко, С.Г. Перминова [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2023. – №3. – С. 65–72.
48. Мелкозерова, О.А. Патогенетические аспекты нарушения рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами и методы их коррекции: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук: 14.01.01 / Мелкозерова Оксана Александровна. – Челябинск, 2017. – 46 с.
49. Микробиота полости матки и неудачи имплантации: есть ли связь? / Л.К. Кебурия, В.Ю. Смольникова, Т.В. Припутневич [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – №7. – С.133 – 43.
50. Микробиота эндометрия женщин с хроническим эндометритом и идиопатическим бесплодием / Н.И. Тапильская, О.В. Будиловская, А.А. Крысанова [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2020. – №4. – С.72 – 81.

51. Михалев, С.А. Клинико–морфологические проявления хронического эндометрита и урогенитальной инфекции в патогенезе нарушений репродуктивной функции женщины: автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Сергей Александрович Михалёв. – М., 2019. – 26 с.
52. Михнина, Е.А. Морфофункциональное состояние эндометрия у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Елена Андреевна Михнина. – СПб., 2009. – 40 с.
53. Модификация вероятности реализации восходящего инфицирования полости матки при проведении гинекологических процедур / Ю.Э. Доброхотова, Е.И. Боровкова, М.В. Бурденко [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2022. – №10. – С.150 –158.
54. Модулирование локальной экспрессии факторов врожденного иммунитета у пациенток с хроническим эндометритом и бесплодием / Ю.Э. Доброхотова, Л.В. Ганковская, Е.И. Боровкова [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2019. – №5. – С.125 – 132.
55. Молекулярные механизмы циклической трансформации эндометрия / Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль, Э.К. Айламазян [и соавт.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2019. – Т.8. – №1. – С.5 –12.
56. Морфофункциональные характеристики нарушения восприимчивости эндометрия при хроническом эндометрите / Е.Л. Казачков, Э.А. Казачкова, Е.Е. Воропаев [и соавт.] //Архив патологии. – 2014. – Т. 76. – №3. – С.53 – 58.
57. Озерская, И.А. Ультразвуковая диагностика эндометрита (В–режим) / И.А. Озерская, А.А. Семилетова, К.Г. Газарян // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2017. – № 6. – С. 36 – 52.
58. Особенности метилирования генов НОХА10 и НОХА11 у пациенток с трубно–перитонеальным фактором бесплодия и неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения в анамнезе / Е.А. Князева, М.В. Кузнецова, Е.С. Шубина [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2020. – № 4. – С. 140 –147.

59. Особенности пролиферативной и антипролиферативной активности клеток эндометрия при его гиперплазии в сочетании с хроническим эндометритом / Е.Л. Казачков, А.В. Затворницкая, Е.Е. Воропаева [и соавт.] // Акушерство и Гинекология. – 2019. – №8. – С.36 – 38.

60. Особенности формирования пиноподий в эндометрии в зависимости от наличия в нем хронических воспалительных и гиперпролиферативных процессов у женщин хороших ответчиков с неудачными попытками вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в анамнезе / Е.Н. Носенко, А.И. Саенко, О.И. Парницкая [и соавт.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №6. – С. 1158–1168.

61. Особенности экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов, провоспалительных маркеров и ингибитора циклин–зависимой киназы p16ink4a в эндометрии при наружном генитальном эндометриозе / Э.К. Айламазян, Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль [и соавт.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – Т. 65. – № 3. – С.4 – 11.

62. Оценка экспрессии мРНК генов цитокинов в эндометрии при хроническом эндометрите / Н.А. Гомболевская, О.В. Бурменская, Т.А. Демура [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2013. – №11. – С.35 – 41.

63. Павлова, М.В. Проблема тонкого эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения / М.В. Павлова, Н.И. Тапильская // Вестник СурГУ. Медицина, 2020. – №.4. – С. 63–67.

64. Пальцев, М.А. Молекулярные механизмы заболеваний репродуктивной системы / М.А. Пальцев, Э.К. Айламазян, И.М. Кветной // СПб.: Эко–вектор. – 2017. – 256 с.

65. Петров, Ю.А. Хронический эндометрит в репродуктивном возрасте: этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук: 14.01.01 / Петров Юрий Алексеевич – М., 2012. – 47 с.

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

67. Предикторы неудач ЭКО при имплантационной несостоятельности эндометрия / В.Е. Радзинский В.Е, М.Р. Оразов, Л.М. Михалева [и соавт.] // Трудный пациент. – 2021. – Т.19. – №1. – С.23 – 26.
68. Профиль локальной экспрессии генов ростовых факторов и цитокинов в эндометрии периода «имплантационного окна» при хроническом эндометрите / В.К. Таболова, И.Е. Корнеева, А.Е. Донников [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2014. – №12. – С.74–78.
69. Радзинский, В.Е. Бесплодие и эндометриоз. Версии и контраверсии / В.Е. Радзинский, М.Р. Оразов // М.: Status Praesens, 2019. – 208 с.
70. Радзинский, В.Е. Неразвивающаяся беременность: руководство / В.Е. Радзинский [и соавт.] // М.: ГЭОТАР – Медиа, 2017. – 176 с.
71. Радзинский, В.Е. Прегравидарная подготовка: клинический протокол / В.Е. Радзинский [и соавт.] // М.: Status Praesens. – 2016. – 80 с.
72. Радзинский, В.Е. ред. Бесплодный брак: версии и контраверсии / В.Е. Радзинский [и соавт.] // М.: ГЭОТАР – Медиа, 2018. – 404 с.
73. Рецептивность эндометрия пациенток с повторными неудачами имплантации / В.Е. Радзинский, Л.М. Михалёва, М.Р. Оразов [и соавт.] // Доктор.Ру. – 2022. – Т. 21(1). – С. 27–33.
74. Рецептивность эндометрия у женщин с нарушениями репродуктивной функции / С.С. Аганезов, Н.В. Аганезова, А.В. Мороцкая [и соавт.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – №3. – С.135 – 142.
75. Силантьева, Е.С. Физические методы структурно–функционального ремоделирования эндометрия у женщин с нарушением репродуктивной функции: автореф. дис. ... д–ра мед. наук: 14.00.01, 14.00.51 / Елена Суликовна Силантьева. – М., 2008. – 50 с.
76. Состав микробиоты эндометрия и степень выраженности хронического эндометрита у пациенток с неэффективными протоколами экстракорпорального оплодотворения. Есть ли связь? / Н.Д. Цыпурдеева, Е.В. Шипицына, А.М. Савичева [и соавт.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2018. – Т.67. – №2. – С.5 – 15.

77. Сочетание гиперпролиферативных заболеваний матки и молочных желез: возможности таргетной терапии / Э.А. Идрисова, О.Х. Бадгоева, Р.С. Власов [и соавт.] // Проблемы репродукции: Материалы IV международного конгресса по репродуктивной медицине. – 2010. – Спец. Выпуск. – С.186–187.

78. Сухих, Г.Т. Хронический эндометрит / Г.Т. Сухих, А.В. Шуршалина // Руководство. М.: ГЭОТАР – Медиа, 2013. – 64 с.

79. Тайны патогенеза повторных неудач имплантации / М.Р. Оразов, Р.Е. Орехов, Д.П. Камиллова [и соавт.] // Трудный пациент. – 2020. – Т.18. – С. 43–48.

80. Тапильская, Н.И. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор как ключевой регулятор инвазивного потенциала эмбриона и рецептивности эндометрия / Н.И. Тапильская, А.М. Гзгзян, И.Ю. Коган // Журнал акушерства и женских болезней. – 2019. – Т. 68. – № 1. – С. 83–92.

81. Титченко, Ю.П. Применение ультразвуковых методов исследования в оценке состояния эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом и невынашиванием беременности / Ю.П. Титченко, Н.В. Зароченцева, А.К. Аршакян // Рос. вестник акушера–гинеколога. – 2014. – № 1. – С.55–58.

82. Толибова, Г. Х. Эндометриальная дисфункция у женщин с бесплодием: патогенетические детерминанты и клинико–морфологическая диагностика: автореф. дис. ... д–ра. мед. наук: 14.01.01. – акушерство и гинекология, 14.03.02 – патологическая анатомия / Гулрухсор Хайбуллоевна Толибова. – СПб., 2018. – 40 с.

83. Толибова, Г.Х. Морфологическая оценка гипопластичного (тонкого) эндометрия у женщин с неэффективными протоколами вспомогательных репродуктивных технологий / Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль, И.Ю. Коган // Журнал акушерства и женских болезней. – 2020. – Т. 69. – № 5. – С.39–48.

84. Файзуллина, Д.И. Эффективность комплексной терапии хронического эндометрита после неудач ЭКО в анамнезе: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01. – акушерство и гинекология / Диана Ильдаровна Файзуллина. – М., 2019. – 24 с.

85. Хелашвили, И.Г. Хронический эндометрит: клинико–морфологическая характеристика и особенности рецептивности эндометрия: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01. – акушерство и гинекология / Ирина Гельмиевна Хелашвили. – Челябинск, 2014. – 22 с.

86. Хириева, П.М. Клинико–анамнестические данные и исходы лечения женщин с внутриматочными синехиями / П.М. Хириева, Л.В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2017. – Т.23. – №6. – С.39 – 44.

87. Хламидийная инфекция: репродуктивные потери, неудачи ЭКО / А.М. Савичева, И.Ю. Коган, В.С. Мюллер [и соавт.] // СПб., 2015. – 108 с.

88. Хронический полипоидный и лимфофолликулярный эндометрит: гистероскопическая и гистологическая диагностика / В.Н. Эллиниди, А.А. Феоктистов, Д.М. Обидняк [и соавт.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т.66. – №.6. – С.59 – 65.

89. Хронический эндометрит у женщин с эндометриоз–ассоциированным бесплодием / М.Р. Оразов, В.Е. Радзинский, В.С. Волкова [и соавт.] // Гинекология. – 2020. – №3. – С.15 – 20.

90. Царева, Н.В. Маточное бесплодие при гипоплазии эндометрия. Маркеры рецептивности и «окна имплантации» / Н. В. Царева // Мед. журн. – 2020. – № 3. – С. 40 – 45.

91. Чухнина, Е.Г. Роль морфофункционального состояния эндометрия в эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий у женщин позднего репродуктивного возраста с трубно–перитонеальным бесплодием: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 3.3.2. – патологическая анатомия / Елена Галиевна Чухнина. – Курган, 2022. – 24 с.

92. Шарипова, Р.И. Клиническое значение морфофункциональных изменений в оценке степени дисфункции эндометрия у женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Резеда Ильнуровна Шарипова. – Казань, 2021. – 23 с.

93. Шуршалина, А.В. Клинико–морфологические особенности хронического эндометрита у женщин с нарушением репродуктивной функции: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.01 – акушерство и гинекология / Анна Владимировна Шуршалина. – М., 2007. – 38 с.

94. Экспрессия генов, регулирующих апоптоз, при разных типах гиперплазии эндометрия и эндометриоидной карциноме / Г.Е. Чернуха, М.Р. Думановская, О.В. Бурменская [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 1. – С. 63–69.

95. Экстракорпоральное оплодотворение: практическое руководство для врачей / И. Ю. Коган, Е. А. Лесик, А. О. Шпаков [и соавт.]; под редакцией члена–корр. РАН И. Ю. Когана. — М.: ГЭОТАР–Медиа, 2021. — 367 с.

96. Эндометриальная дисфункция: алгоритм гистологического и иммуногистохимического исследования / Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль, М.А. Клещев [и соавт.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2015. – Т. 64. – № 4. – С. 69 – 77.

97. Эндометрий. Атлас / Г.Х. Толибова, Т.Г. Траль, И.Ю. Коган, А.А. Олина // М.: ООО Медиа Бюро Статус Презенс, 2022. – 184 с.

98. Эфендиева, З.Н. «Тонкий» эндометрий в аспекте репродуктивных неудач: современная проблема или гипердиагностика? / З.Н. Эфендиева, И.А. Аполихина, Е.А. Калинина // Акушерство и гинекология. – 2019. – №9. – С.32 – 39.

99. Эффективность лечения бесплодия, обусловленного рецидивирующим наружным генитальным эндометриозом / М.Р. Оразов, В.Е. Радзинский, М.Б. Хамошина [и соавт.] // Гинекология. – 2019. – Т. 21. – № 1. – С.38 – 43.

100. Эффективность локальной цитокинотерапии хронического эндометрита пациенток с бесплодием / Н.И. Тапильская, Г.Х. Толибова, А.М. Савичева [и соавт.] // Акушерство и гинекология. – 2022. – №2. – С.91 – 100.

101. A Comparison of Transcriptomic Profiles in Endometrium During Window of Implantation Between Women With Unexplained Recurrent Implantation Failure and

Recurrent Miscarriage / J. Huang, H. Qin, Y. Yang [et al.] // *Reproduction*. – 2017. – Vol.153. – N6. – P.749 – 758.

102. A New Hysteroscopic Scoring System for Diagnosing Chronic Endometritis / H. Liu, J. Song, F. Zhang [et al.] // *J Minim Invasive Gynecol*. – 2020. – Vol.27(5). – P.1127–1132.

103. A pilot study and case reports on endometrial microbiota and pregnancy outcome: An analysis using 16S rRNA gene sequencing among IVF patients, and trial therapeutic intervention for dysbiotic endometrium / K. Kyono, T. Hashimoto, S. Kikuchi [et al.] // *Reprod. Med. Biol.* – 2019. – Vol.18. – P.72 – 82.

104. A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women // B.A. Wee, M. Thomas, E.L. Sweeney [et al.] // *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol.3. – P.341 – 348.

105. A Review of the Pathophysiology of Recurrent Implantation Failure / J.M. Franasiak, D. Alecsandru, E.J. Forman [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2021. – Vol.116. – P.1436 –1448.

106. Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: a prospective study in IVF patients / T. Haahr, J. S. Jensen, L. Thomsen [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2016. – Vol.31. – P.795–803.

107. Adrenomedullin improves fertility and promotes pinopodes and cell junctions in the peri-implantatio endometrium / B.C. Matson, S.L. Pierce, S.T. Espenschied [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2017. – Vol.97. – P.466 – 477.

108. Aging endometrium in young women: Molecular classification of endometrial aging-based markers in women younger than 35 years with recurrent implantation failure / P. Chen, M. Yang, Y. Wang [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* – 2022. – Vol.3(9). – P.2143 – 2151.

109. Altered Gene Expression Encoding Cytokines, Grow Factors and Cell Cycle Regulators in the Endometrium of Women with Chronic Endometritis / E. Cicinelli, A. Vitagliano, V. Loizzi [et al.] // *Diagnostics (Basel)*. – 2021. – Vol.11(3). – P.471.

110. Altered transcriptional regulation of cytokines, growth factors, and apoptotic proteins in the endometrium of infertile women with chronic endometritis / C. Di Pietro, E. Cicinelli, M.R. Guglielmino [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2013. – Vol.9(5). – P.509 – 517.
111. Amabebe, E. Female Gut and Genital Tract Microbiota–Induced Crosstalk and Differential Effects of Short–Chain Fatty Acids on Immune Sequelae / E. Amabebe, DOC. Anumba // *Front Immunol.* – 2020. – Vol.11. – P.2184.
112. Analysis of the microbiota composition in the genital tract of infertile patients with chronic endometritis or endometrial polyps / J. Liang, M. Li, L. Zhang [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2023. – Vol.13. – P. 1125640.
113. Analysis of two different luteal phase support regimes and evaluation of in vitro fertilization–intra cytoplasmic sperm injection outcomes / N.K. Yilmaz, M. Kara, N. Hançerlioğulları [et al.] // *Turk J Obstet Gynecol.* – 2018. – Vol.15. – P.217–221.
114. Antibiotic therapy versus no treatment for chronic endometritis: a case–control study / E. Cicinelli, L. Resta, V. Loizzi [et al.] // *Fertil Steril.* – 2021. – P.1541–1548.
115. Antimicrobial Activity of Pure Platelet–Rich Plasma Against Microorganisms Isolated From Oral Cavity / L. Drago, M. Bortolin, C. Vassena [et al.] // *BMC Microbiol*2. – 2013. – Vol.13. – P.47.
116. Are different markers of endometrial receptivity telling us different things about endometrial function? / M. Hviid Saxtorph, G. Persson, T. Hallager [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2020. – Vol.84(6). – P.e13323.
117. ART Implantation Failure and Miscarriage in Patients with Elevated Intracellular Cytokine Ratios: Response to Immune Support Therapy / C. Harrity, L. Shkrobot, D. Walsh, K. Marron // *Fertil. Res. Pract.* – 2018. – Vol.4. – P.7.
118. Association of fetuin A, adiponectin, interleukin 10 and total antioxidant capacity with IVF outcomes / M. Yen, O. Donma, F. Yildizfer [et al.] // *Iran. J. Reprod. Med.* – 2014. – Vol.12. – P.747 – 754.

119. Association of Vitamin D with outcome after intra cytoplasmic sperm injection / U.H. Abdullah, S. Lalani, F. Syed [et al.] // The journal of maternal–fetal & neonatal medicine. – 2017. – Vol. 30(1) – P. 117–120.
120. Asynchronous and pathological windows of implantation: two causes of recurrent implantation failure† / P. Sebastian–Leon, N. Garrido, J. Remohí [et al.] // Human Reproduction. – 2018. – Vol. 33(4). – P. 626–635.
121. Bacterial contamination hypothesis: a new concept in endometriosis / K.N. Khan, A. Fujishita, K. Hiraki [et al.] // Reprod Med Biol. – 2018. – Vol.17. – P.125 – 133.
122. Baker, J.M. Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? / J.M. Baker, D.M. Chase, M.M. Herbst–Kralovetz // Front. Immunol. – 2018. – Vol.9. – P.208.
123. Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps / R.L. Fang, L.X. Chen, W.S. Shu [et al.] // Am. J. Transl. Res. – 2016. – Vol.8(3). – P.1581–1592.
124. Bashiri, A. Recurrent Implantation Failure–update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions / A. Bashiri, K.I. Halper, R. Orvieto // Reprod Biol Endocrinol. – 2018. – Vol.16(1). – P.121.
125. BMI and season are associated with vitamin D deficiency in women with impaired fertility: A two–centre analysis / N. Dressler, A. Chandra, D.L. Aguirre [et al.] // Arch. Gynecol. Obstet. – 2016. – Vol.293(4). – P. 907–914.
126. Cai, L. Preliminary study on the mechanism of uterine flora on the occurrence and development of endometrial hyperplasia / L. Cai // Jinan university. – 2021. – Vol.2. – P.44.
127. Can autologous platelet rich plasma expand endometrial thickness and improve pregnancy rate during frozen–thawed embryo transfer cycle? A randomized clinical trial / M. Eftekhar, N. Neghab, E. Naghshineh [et al.] // Taiwan J Obstet Gynecol. – 2018. – Vol.57. – P.810 – 813.
128. Cariati, F. The evolving role of genetic tests in reproductive medicine / F. Cariati, V. D’Argenio, R. Tomaiuolo // J. Transl. Med. – 2019. – Vol.17. – P.267.

129. CD4⁺ T cell imbalance is associated with recurrent endometrial polyps / Y. Zhu, M. Du, L. Yi [et al.] // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 2018. – Vol.45. – P.507–513.
130. Cervicovaginal microbiota and local immune response modulate the risk of spontaneous preterm delivery / M.A. Elovitz, P. Gajer, V. Riis [et al.] // *Nat Commun.* – 2019. – Vol.10. – P.1305.
131. Chandrasekar, B. CXCL16 signals via Gi, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, I kappa B kinase, and nuclear factor-kappa B and induces cell-cell adhesion and aortic smooth muscle cell proliferation / B. Chandrasekar, S. Bysani, S. Mummidi // *J Biol Chem.* – 2004. – Vol.279(5). – P.3188 – 3196.
132. Changes in Morphology and Presence of Pinopodes in Endometrial Cells during the Luteal Phase in Women with Infertility Problems: A Pilot Study / M. Aunapuu, P. Kibur, T. Järveots [et al.] // *Medicina (Kaunas).* – 2018. – Vol.54(5). – P.69.
133. Characterization of the vaginal and endometrial microbiome in patients with chronic endometritis / F.M. Lozano, A. Bernabeu, B. Liedo [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. // Reprod. Biol.* – 2021. – Vol.263. – P.25 – 32.
134. Characterization of the vaginal DNA virome in health and dysbiosis / R.R. Jakobsen, T. Haahr, P. Humaidan [et al.] // *Viruses.* – 2020. – Vol.12(10). – P.1143.
135. Characterization of VDR and CYP27B1 expression in the endometrium during the menstrual cycle before embryo transfer: implications for endometrial receptivity / J. Guo, S. Liu, P. Wang [et al.] – Text: electronic // *Reproductive biology and endocrinology.* – 2020. – Vol.18. – N.1. – URL: <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12958-020-00579-y>
136. Chemokine interactome mapping enables tailored intervention in acute and chronic inflammation / P. von Hundelshausen, S.M. Agten, V. Eckardt [et al.] // *Sci. Transl. Med.* – 2017. – Vol.9(384). – P.eaah6650.
137. Chlamydia trachomatis-infected host cells resist dsRNA-induced apoptosis / L. Böhme, M. Albrecht, O. Riede [et al.] // *Cell Microbiol.* – 2010. – Vol.12. – N9. – P. 1340 – 1351.

138. Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with recurrent miscarriage as confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment / E. Cicinelli, M. Matteo, R. Tinelli [et al.] // *Reprod Sci.* – 2014. – Vol.21. – P.640 – 647.
139. Chronic Endometritis in Fertile and Infertile Women Who Underwent Hysteroscopic Polypectomy / A. Volodarsky–Perel, A. Badeghiesh, G. Shrem [et al.] // *J Minim Invasive Gynecol.* – 2020. – Vol.27(5). – P.1112 – 1118.
140. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception / E. Cicinelli, M. Matteo, G. Trojano [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2018. – Vol.79(1). – P.e12782.
141. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis / P.E. Bouet, H. El. Hachem, E. Monceau [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2016. – Vol.105. – P.106 –110.
142. Chronic endometritis modifies decidualization in human endometrial stromal cells / D. Wu, F. Kimura, L. Zheng, M. Ishida [et al.] // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2017. – Vol.15(1). – P.16.
143. Chronic Endometritis, a Common Disease Hidden Behind Endometrial Polyps in Premenopausal Women: First Evidence from a Case–Control Study / E. Cicinelli, S. Bettocchi, D. De Ziegler [et al.] // *J. Minim. Invasive Gynecol.* – 2019. – Vol.26. – P.1346 – 1350.
144. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies / E. Cicinelli, D. De Ziegler, R. Nicoletti [et al.] // *Fertil Steril.* – 2008. – Vol.89. – P.677 – 684.
145. Chronic endometritis: potential cause of infertility and obstetric and neonatal complications / K. Kitaya, H. Matsubayashi, K. Yamaguchi [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2016. – Vol.75(1). – P.13 – 22.

146. Chronic Niche Inflammation in Endometriosis – Associated Infertility: Current Understanding and Future Therapeutic Strategies / Y.H. Lin, Y.H. Chen, H.Y. Chang [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol.19. – N.8. – P.23 – 45.
147. Clinical progress of human papillomavirus genotypes and their persistent infection in subjects with atypical squamous cells of undetermined significance cytology: Statistical and latent Dirichlet allocation analysis / Y. S. Kim, S. Lee, N. Zong [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2017. – Vol.13(6). – P.3032 – 3038.
148. Clinical Relevance of Vaginal and Endometrial Microbiome Investigation in Women with Repeated Implantation Failure and Recurrent Pregnancy Loss / X. Gao, Y.V. Louwers, J.S.E. Laven, S. Schoenmakers // *Int J Mol Sci.* – 2024. – Vol.25(1). – P.622.
149. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women / C.M. Mitchell, A. Haick, E. Nkwopara [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol.212(5). – P.611.e1– 9.
150. Comparison of salpingectomy and tubal occlusion for hydrosalpinx in in-vitro fertilization outcome / D. Tjahyadi, I.S. Udayana, A.S. Nisa [et al.] // *Ann Med Surg (Lond).* – 2024. – Vol.86(2). – P.886 – 890.
151. Conventional and Modern Markers of Endometrial Receptivity: A Systematic Review and Meta-Analysis / L. Craciunas, I. Gallos, J. Chu [et al.] // *Hum Reprod Update.* – 2019. – Vol.25(2). – P.202 – 223.
152. Correlation between hysteroscopy findings and chronic endometritis / D. Song, T.C. Li, Y. Zhang [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2019. – Vol.11(4). – P. 772 – 779.
153. Correspondence between hysteroscopic and histologic findings in women with chronic endometritis / E. Cicinelli, R. Tinelli, A. Lepera [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2010. – Vol.89(8). – P.1061 – 1065.
154. David, B.A. Exploring the Complex Role of Chemokines and Chemoattractants In Vivo on Leukocyte Dynamics / B.A. David, P. Kubes // *Immunol Rev.* – 2019. – Vol.289(1). – P.9 – 30.

155. Decidual CD4+CD25+CD127dim/– Regulatory T Cells in Patients with Unexplained Recurrent spontaneous Miscarriage / S.H. Bao, X.P. Wang, Q. De Lin [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2011. – Vol.155. – P.94 – 98.
156. Deciphering the endometrial niche of human thin endometrium at single–cell resolution / H. Lv, G. Zhao, P. Jiang [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2022. – Vol.119(8). – P.e2115912119.
157. Decoding the Chemokine Network that Links Leukocytes with Decidual Cells and the Trophoblast During Early Implantation / R. Ramhorst, E. Grasso, D. Paparini [et al.] // *Cell Adh. Migr.* – 2016. – Vol.10. – P.197 – 207.
158. Decrease in Expression of HOXA10 in the Decidua After Embryo Implantation Promotes Trophoblast Invasion / G. Godbole, P. Suman, A. A. Malik [et al.] // *Endocrinology.* – 2017. – Vol.158(8). – P.2618 – 2633.
159. Decreased PECAM1–mediated TGF– β 1 expression in the mid–secretory endometrium in women with recurrent implantation failure / F. Guo, C. Si, M. Zhou [et al.] // *Hum Reprod.* – 2018. – Vol.33(5). – P.832 – 843.
160. Deshmukh, H. Immunological Basis for Recurrent Fetal Loss and Pregnancy Complications / H. Deshmukh, S.S. Way // *Annu. Rev. Pathol.* – 2019. – Vol.14. – P.185 – 210.
161. Detection of intracavitary lesions in 820 infertile women: Comparison of outpatient hysteroscopy with histopathological examination / P. Radwan, M. Radwan, I. Polać, J.R. Wilczyński // *Ginekologia Polska.* – 2013. – Vol.84(10). – P.857 – 861.
162. Determinants of Embryo Implantation: Roles of the Endometrium and Embryo in Implantation Success / A.O. Awonuga, O.G. Camp, H.M. Abu–Soud [et al.] // *Reprod Sci.* – 2023. – Vol.30(8). – P.2339 – 2348.
163. Does the endometrial cavity have a molecular microbial signature? / A.D. Winters, R. Romero, M.T. Gervasi [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – V.9(1). – P.9905.
164. Does the endometrial thickness on the day of the trigger affect the pregnancy outcomes after fresh cleaved embryo transfer in the clomiphene citrate–based minimal stimulation cycle? / S. Nishihara, J. Fukuda, K. Ezoe [et al.] // *Reprod Med Biol.* – 2020. – Vol.19(2). – P.151 – 157.

165. Du H. The role of Hox genes in female reproductive tract development, adult function, and fertility / H. Du, H.S. Taylor // Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. – 2015. – V (6). – P.a23002.
166. Du M.R. Li The integrative roles of chemokines at the maternal–fetal interface in early pregnancy / M.R. Du, S.C. Wang, D.J. Li // Cell Mol Immunol. – 2014. – Vol.11. – P.438 – 448.
167. Effect of Advanced Maternal Age on Pregnancy Outcomes: A Single–Centre Data from a Tertiary Healthcare Hospital / A.G. Kanmaz, A.H. İnan, E. Beyan [et al.] // J. Obstet. Gynaecol. – 2019. – Vol.39. – P.1104 – 1111.
168. Effect of oral consumption of capsules containing *Lactobacillus paracasei* LPC–S01 on the vaginal microbiota of healthy adult women: a randomized, placebo–controlled, double–blind crossover study / R. Koirala, G. Gargari, S. Arioli [et al.] // FEMS Microbiol Ecol. – 2020. – Vol.96(6). – P.fiaa084.
169. Effect of vitamin D status on normal fertilization rate following in vitro fertilization / X. Liu, W. Zhang, Y. Xu [et al.] // Reprod Biol Endocrinol. – 2019. – Vol.17(1). – P.59.
170. Effect of vitamin D supplementation on assisted reproduction technology (ART) outcomes and underlying biological mechanisms: protocol of a randomized clinical controlled trial. The “supplementation of vitamin D and reproductive outcome” (SUNDRO) study / A. Paffoni, E. Somigliana, V. Sarais [et al.] // BMC Pregnancy Childbirth. – 2019. – Vol.19. – P.395.
171. Effects of chronic endometritis therapy on in vitro fertilization outcome in women with repeated implantation failure: a systematic review and meta–analysis / A. Vitagliano, C. Saccardi, M. Noventa [et al.] // Fertil Steril. – 2018. – Vol.110(1). – P.103 – 112.e1.
172. Effects of Hydrosalpinx on Endometrial Implantation Failures: Evaluating Salpingectomy in Women Undergoing in vitro fertilization / A. Palagiano, M. Cozzolino, F.M. Ubaldi [et al.] // Rev Bras Ginecol Obstet. – 2021. – Vol.43(4). – P.304 – 310.

173. Efficacy of the endometrial receptivity array for repeated implantation failure in Japan: a retrospective, two-centers study / T. Hashimoto, M. Koizumi, M. Doshida [et al.] // *Reprod. Med. Biol.* – 2017. – Vol.16(3). – P.290 – 296.

174. Efficacy of therapies and interventions for repeated embryo implantation failure: A systematic review and meta-analysis / A. Busnelli, E. Somigliana, F. Cirillo [et al.] // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol.11. – P.1747.

175. Eftekhari, M. The thin endometrium in assisted reproductive technology: An ongoing challenge / M. Eftekhari, N. Tabibnejad, A.A. Tabatabaie // *Middle East Fertil Soc J.* – 2018. – Vol.23. – P.1 – 7.

176. El-Mazny, A. Doppler study of uterine hemodynamics in women with unexplained infertility / A. El-Mazny, N. Abou-Salem, H. Elshenoufy // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2013. – Vol.171. – P.84 – 87.

177. El-Shahawy, Y. Endometrial CD4+ And CD8+ in Women with Failed Implantation Following Embryo Transfer / Y. El-Shahawy // *International Journal of Obstetrics and Gynaecology Research (IJOGR).* – 2016. – Vol.3(1). – P.209 – 220.

178. Endometrial causes to KPL: endometriosis, adenomyosis and chronic endometritis / P. Pirtea, E. Cicinelli, R. De Nola [et al.] // *Fertil Steril.* – 2021. – Vol.115. – P.546 – 560.

179. Endometrial CXCL13 expression is cycle regulated in humans and aberrantly expressed in humans and Rhesus macaques with endometriosis / J.M. Franasiak, K.A. Burns, O. Slayden [et al.] // *Reprod Sci.* – 2015. – Vol.22(4). – P.442 – 451.

180. Endometrial hyperplasia-related inflammation: its role in the development and progression of endometrial hyperplasia / A.V. Kubyshev, L.L. Aliev, I.I. Fomochkina [et al.] // *Inflammation Res.* – 2016. – Vol.65. – P.785 – 794.

181. Endometrial Immune Dysfunction in Recurrent Pregnancy Loss / C. Ticconi, A. Pietropolli, N. Di Simone [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol.20(21). – P.5332.

182. Endometrial immunity for embryo implantation and pregnancy establishment / J. Kitazawa, F. Kimura, A. Nakamura [et al.] // *Tohoku J Exp Med.* – 2020. – Vol.250. – P.49 – 60.

183. Endometrial microbes and microbiome: Recent insights on the inflammatory and immune "players" of the human endometrium / S. D'Ippolito, F. Di Nicuolo, A. Pontecorvi [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2018. – Vol.80. – P.e13065.
184. Endometrial microbiota profile in in-vitro fertilization (IVF) patients by culturomics-based analysis / F. Cariati, C. Carotenuto, F. Bagnulo / *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2023. – Vol.14. – P.1204729.
185. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients / I. Moreno, I. Garcia-Grau, D. Perez-Villaroya [et al.] // *Microbiome.* – 2022. – Vol.10(1). – P.1.
186. Endometrial microbiota in infertile women with and without chronic endometritis as diagnosed using a quantitative and reference range-based method / Y. Liu, E.Y. Ko, K.K. Wong [et al.] // *Fertil Steril.* – 2019. – Vol.112(4). – P.707 –717.e1.
187. Endometrial micropolyps during liquid hysteroscopy indicate the presence of chronic endometritis / E. Cicinelli, L. Resta, R. Nicoletti [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2005. – Vol.20(5). – P.1386 – 1389.
188. Endometrial polyps with increased plasma cells are associated with chronic endometritis in infertility patients: Hysteroscopic findings and post-polypectomy pregnancy rates / M. Nomiya, F. Yamasaki, M. Tokunaga [et al.] // *Reprod Med Biol.* – 2021. – Vol.20(4). – P.494 – 504.
189. Endometrial polyps: pathogenesis, sequelae and treatment / N.P. Nijkang, L. Anderson, R. Markham, F. Manconi // *SAGE Open Med.* – 2019. – Vol.7. – P.2050312119848247.
190. Endometrial Receptivity Analysis (ERA): data versus opinions / M. Ruiz-Alonso, D. Valbuena, C. Gomez [et al.] // *Hum. Reprod. Open.* – 2021. – Vol.2021(2). – P.hoab011.
191. Endometrial receptivity revisited: Endometrial transcriptome adjusted for tissue cellular heterogeneity / M. Suhorutshenko, V. Kukushkina, A. Velthut-Meikas [et al.] // *Hum Reprod.* – 2018. – Vol.33. – P.2074 – 2086.

192. Endometrial TGF- β , IL-10, IL-17 and autophagy are dysregulated in women with recurrent implantation failure with chronic endometritis / W.J. Wang, H. Zhang, Z.Q. Chen [et al.] // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2019. – Vol.17. – P.2.
193. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis / A. Kasius, J.G. Smit, H.L. Torrance [et al.] // *Hum Reprod Update.* – 2014. – Vol.20. – P.530 – 541.
194. Endometritis: new time, new concepts / K. Kitaya, T. Takeuchi, S. Mizuta [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2018. – Vol.110(3). – P.344 – 350.
195. Endometrium Immunomodulation to Prevent Recurrent Implantation Failure in Assisted Reproductive Technology / M. Benkhalifa, F. Joao, C. Duval [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol.23(21). – P.12787.
196. ER β -dependent direct suppression of human and murine Th17 cells and treatment of established central nervous system autoimmunity by a neurosteroid / M. Aggelakopoulou, E. Kourepini, N. Paschalidis [et al.] // *J Immunol.* – 2016. – Vol.197(7). – P.2598 – 2609.
197. Estradiol Valerate Enhances Cardiac Function via the Nrf2 Signaling Pathway to Protect Against Oxidative Stress by the NRF2 Signaling Pathway in an Ovariectomized Rat Model // X. Qian, J. Wang, M. Cai // *Curr Pharm Des.* – 2021. – Vol.27(46). – P.4716 – 4725.
198. Evaluating chronic endometritis in women with recurrent implantation failure and recurrent pregnancy loss by hysteroscopy and immunohistochemistry / M. Zargar, M. Ghafourian, R. Nikbakht [et al.] // *J. Minim. Invasive Gynecol.* – 2020. – Vol.27(1). – P.116 – 121.
199. Evaluation of peripheral and uterine immune status of chronic endometritis in patients with recurrent reproductive failure / Y. Li, S. Yu, C. Huang [et al.] // *Fertil Steril.* – 2020. – Vol.113(1). – P.187 – 196.e1.
200. Evaluation of the Effect of GM-CSF Blocking on the Phenotype and Function of Human Monocytes / N. Lotfi, C.X. Zhang, N. Esmaeil, A. Rostami // *Sci Rep.* – 2020. – Vol.10(1). – P.1 – 9.

201. Evidence of placental HPV infection in HIV positive and negative women / C. Chisanga, D. Eggert, C.D. Mitchell [et al.] // *Cancer Ther.* – 2015. – Vol.6(15). – P.1276 – 1289.
202. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure / I. Moreno, F.M. Codoner, F. Vilella [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* – 2016. – Vol.215(6). – P.684 – 703.
203. Exploring Immunome and Microbiome Interplay in Reproductive Health: Current Knowledge, Challenges, and Novel Diagnostic Tools / P. Lingasamy, V. Modhukur, R. Mändar [et al.] // *Semin Reprod Med.* – 2023. – Vol.41(5). – P.172–189.
204. Expression of Antioxidant Enzymes in Patients with Uterine Polyp, Myoma, Hyperplasia, and Adenocarcinoma / A. Todorović, S. Pejić, L. Gavrilović [et al.] // *Antioxidants (Basel).* – 2019. – Vol.8(4). – P.97.
205. Expression of membrane progesterone receptors on human T lymphocytes and Jurkat cells and activation of G–proteins by progesterone / C. Dosiou, A.E. Hamilton, Y. Pang [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2008. – Vol.196. – P.67 – 77.
206. Expression of monocyte chemotactic protein 2 and tumor necrosis factor alpha in human normal endometrium and endometriotic tissues / T. Aksak, D. Gümürdülü, M.T. Çetin [et al.] // *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* – 2021. – Vol.50(5). – P.101971.
207. Expression of vitamin D receptor in the porcine uterus and effect of 1,25(OH)₂D₃ on progesterone and estradiol–17 β secretion by uterine tissues in vitro / M. Grzesiak, E. Waszkiewicz, M. Wojtas [et al.] // *Theriogenology.* – 2019. – Vol.125. – P.102 –108.
208. First pilot study of maternal spindle transfer for the treatment of repeated in vitro fertilization failures in couples with idiopathic infertility / N. Costa–Borges, E. Nikitos, K. Späth [et al.] // *Fertil Steril.* – 2023. – Vol.119(6). – P.964 – 973.
209. From the global community of hysteroscopy guidelines committee. Endometrial polyps. An evidence–based diagnosis and management guide / S.G. Vitale, S. Haimovich, A.S. Laganà [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2021. – Vol.260. – P.70 – 77.

210. Fusobacterium infection facilitates the development of endometriosis through the phenotypic transition of endometrial fibroblasts / A. Muraoka, M. Suzuki, T. Hamaguchi [et al.] // *Sci Transl Med.* – 2023. – V. 15(700). – P.:eadd1531.
211. Gellersen, B. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure / B. Gellersen, J.J. Brosens // *Endocr Rev.* – 2014. – Vol.35. – P.851 – 905.
212. Genotyping and evaluation of interleukin-10 and soluble HLA-G in abortion due to toxoplasmosis and HSV-2 infections / A.L. Jiad, M.K. Ismael, T.A. Salih [et al.] // *Ann Parasitol.* – 2022. – Vol.68(2). – P.385 – 390.
213. Ginsenoside Rh3 activates Nrf2 signaling and protects endometrial cells from oxygen and glucose deprivation–reoxygenation / X.M. Wang, C. She, Q. Li [et al.] // *Aging (Albany NY).* – 2020. – Vol.12(7). – P.6109 – 6119.
214. GM-CSF production by autoreactive T cells is required for the activation of microglial cells and the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis / E.D. Ponomarev, L.P. Shriver, K. Maresz [et al.] // *J Immunol.* – 2007. – Vol.178. – P.39 – 48.
215. GnRH Agonist Addition to Routine Luteal Phase Support in Assisted Reproductive Technology / Y.E. Sükür, C. Simsir, E.D. Özdemir, M. Sönmezer // *Austin J In Vitro Fertil.* – 2016. – Vol.3(1). – P.1024.
216. Granulocyte colony stimulating factor treatment of resistant thin endometrium in women with frozen–thawed blastocyst transfer / M. Kunicki, K. Łukaszuk, J. Liss [et al.] // *Syst Biol Reprod Med.* – 2017. – Vol.63. – P.49 – 57.
217. Granulocyte colony–stimulating factor in repeated IVF failure, a randomized trial / A. Aleyasin, Z. Abediasl, A. Nazari [et al.] // *Reproduction.* – 2016. – Vol.151(6). – P.637 – 642.
218. Griesinger, G. Endometrial thickness on the day of embryo transfer is a poor predictor of IVF treatment outcome / G. Griesinger, S. Trevisan, B. Cometti // *Hum Reprod Open.* – 2018. – Vol.2018(1). – P.hox031.
219. Groth, J.V. Chronic endometritis and the plasma cell, fact versus fiction / J.V. Groth // *Fertil. Steril.* – 2018. – Vol.109(5). – P.788.

220. Guo, S.W. Nuclear factor- κ B (NF- κ B). – P. An unsuspected major culprit in the pathogenesis of endometriosis that is still at large? / S.W. Guo // *Gynecol Obstet Invest.* – 2007. – Vol. 63. – P. 71 – 97.

221. Hernández-Vargas, P. Identifying biomarkers for predicting successful embryo implantation: applying single to multi-OMICs to improve reproductive outcomes / P. Hernández-Vargas, M. Muñoz, F. Domínguez // *Hum Reprod Update.* – 2020. – Vol. 26(2). – P. 264 – 301.

222. Herpes simplex virus US 3 tegument protein inhibits Toll-like receptor 2 signaling at or before TRAF6 ubiquitination / J. Sen, X. Liu, R. Roller, D.M. Knipe // *Virology.* – 2013. – Vol.439(2). – P.65 – 73.

223. Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenetic link / E. Cicinelli, G. Trojano, M. Mastromauro [et al.] // *Fertil Steril.* – 2017. – Vol.108. – P.289 – 295.e.

224. Hooper, L.V. Interactions between the microbiota and the immune system / L.V. Hooper, D.R. Littman, A.J. Macpherson // *Science.* – 2012. – Vol.336(6086). – P.1268 – 1273.

225. How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium / M. Benner, G. Ferwerda, I. Joosten [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2018. – Vol.24. – P.393 – 415.

226. How vitamin D level influences in vitro fertilization outcomes: results of a systematic review and meta-analysis / M. Cozzolino, A. Busnelli, L. Pellegrini [et al.] // *Fertil Steril.* – 2020. – Vol.114(5). – P.1014 – 1025.

227. HOXA10 and E-cadherin expression in the endometrium of women with recurrent implantation failure and recurrent miscarriage / Y. Yang, X. Chen, S.H. Saravelos [et al.] // *Fertility and sterility.* – 2017. – Vol.107. – N.1. – P. 136 – 143.e2.

228. HOXA10 gene expression in ectopic and eutopic endometrium tissues: Does it differ between fertile and infertile women with endometriosis? / C. Ozcan, M.E. Ozdamar, E. Gokbayrak [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2019. – Vol.233. – P.43 – 48.

229. Huang, N. Role of Regulatory T Cells in Regulating Fetal–Maternal Immune Tolerance in Healthy Pregnancies and Reproductive Diseases / N. Huang, H. Chi, J. Qiao // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol.11. – P.1023.
230. Human papillomavirus in foetal and maternal tissues from miscarriage cases / L.B. de Freitas, C.C. Pereira, P.R. Merçon–de–Vargas [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol.38. – P.1083–1087.
231. Human three–dimensional endometrial epithelial cell model to study host interactions with vaginal bacteria and *Neisseria gonorrhoeae* / P. Laniewski, A. Gomez [et al.] // *Infect Immun.* – 2017. – Vol. 85. – P.e01049 – e01016.
232. Hysteroscopic polypectomy without cycle cancellation in IVF/ICSI cycles: a cross–sectional study / F. Ghaffari, A. Arabipoor, L.N. Bagheri [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* – 2016. – Vol.205 – P.37 – 42.
233. Hysteroscopy and histological diagnosis and treatment value of chronic endometritis in recurrent implantation failure patients / R. Yang, X. Du, Y. Wang [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2014. – Vol.289(6). – P.1363 – 1369.
234. Identification and evaluation of the microbiome in the female and male reproductive tracts / R. Koedooder, S. Mackens, A. Budding [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2019. – Vol.25. – P.298 – 325.
235. Identification of Uterine Microbiota in Infertile Women Receiving in vitro Fertilization with and Without Chronic Endometritis / W. Chen, K. Wei, X. He [et al.] // *Front. Cell Dev. Biol.* – 2021. – Vol.9 – P.693267.
236. IL–23 restoration of Th17 effector function is independent of IL–6 and TGF– β in a mouse model of alcohol and burn injury // X. Li, A.R. Cannon, A.M. Hammer [et al.] // *J Leukoc Biol.* – 2017. – Vol.102. – P.915 – 923.
237. Immune Cells at the Fetomaternal Interface: How the Microenvironment Modulates Immune Cells To Foster Fetal Development / A. Schumacher, D.J. Sharkey, S.A. Robertson, A.C. Zenclussen // *J. Immunol.* – 2018. – Vol.201. – P.325–334.
238. Immune cells in the female reproductive tract / S.K. Lee, C.J. Kim, D.J. Kim, J.H. Kang // *Immune Netw.* – 2015. – Vol.15. – P.16–26.

239. Immune Checkpoints in Recurrent Pregnancy Loss: New Insights into a Detrimental and Elusive Disorder / L. Marozio, A.M. Nuzzo, E. Gullo // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol.24(17). – P. 13071.
240. Immunological Role of the Maternal Uterine Microbiome in Pregnancy: Pregnancies Pathologies and Altered Microbiota / J. Bardos, D. Fiorentino, R.E. Longman [et al.] // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol.10. – P.2823.
241. Immunomodulatory Effects of Vitamin D in Pregnancy and Beyond / F. Cyprian, E. Lefkou, K. Varoudi [et al.] // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol.10. – P.2739.
242. Impact of periodic presumptive treatment for bacterial vaginosis on the vaginal microbiome among women participating in the preventing vaginal infections trial / J.E. Balkus, S. Srinivasan, O. Anzala [et al.] // *J Infect Dis.* – 2017. – Vol.215. – P.723 – 731.
243. Impaired inflammatory state of the endometrium: a multifaceted approach to endometrial inflammation. Current insights and future directions / A. Drizi, D. Djokovic, A.S. Laganà [et al.] // *Prz Menopauz.* – 2020. – Vol.19(2). – P.90 –100.
244. Implantation and diagnostics of endometrial receptivity / M. Dvořan, J. Vodička, J. Dostál [et al.] // *Ceska Gynekol.* – 2018. – Vol.83(4). – P.291 – 298.
245. Implications of immune dysfunction on endometriosis associated infertility / J.E. Miller, S.H. Ahn, S.P. Monsanto [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol.8(4). – P. 7138 – 7147.
246. In women with chronic or subclinical endometritis is hysteroscopy suitable for setting the diagnosis? A systematic review / F. Gkrozou, O. Tsonis, E. Dimitriou [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2020. – Vol.46. – P.1639 – 1650.
247. Incidence rate and structure of external genital endometriosis in hospital patients / A. M. Gerasimov, A. I. Malyshkina, M. V. Kuligina [et al.] // *Gynecology.* – 2021. – Vol. 23. – N 2. – P. 184 – 189.
248. Induction of the Epithelial–Mesenchymal Transition in the Endometrium by Chronic Endometritis in Infertile Patients / M. Ishida, A. Takebayashi, F. Kimura [et al.] // *PLoS ONE.* – 2021. – Vol.16(4). – P.e0249775.

249. Inflammation-induced epithelial-to-mesenchymal transition and GM-CSF treatment stimulate mesenteric mesothelial cells to transdifferentiate into macrophages / S. Katz, V. Zsiros, N. Doczi, A.L. Kiss // *Inflammation*. – 2018. – Vol.41(5). – P.1825 – 1834.
250. Influence of endometrial thickness on pregnancy rates in modified natural cycle frozen-thawed embryo transfer / E.R. Groenewoud, B.J. Cohlen, A. Al-Oraiby [et al.] // *Acta Obstet Gynecol Scand*. – 2018. – Vol.97. – P.808 – 815.
251. Ingelfinger, F. GM-CSF: Master regulator of the T cell-phagocyte interface during inflammation / F. Ingelfinger, D. De Feo, B. Becher // *Semin Immunol*. – 2021. – Vol.54. – P.101518.
252. Insufficient angiogenesis: cause of abnormally thin endometrium in subfertile patients? / J. Alfer, L. Happel, R. Dittrich [et al.] // *Geburtsh Frauenheilk*. – 2017. – Vol.77. – P.756 – 764.
253. Integrins $\beta 1$ and $\beta 3$ are biomarkers of uterine condition for embryo transfer / G. Chen, A. Xin, Y. Liu [et al.] // *J. Transl. Med*. – 2016. – Vol.14. – P.303.
254. Interaction between chronic endometritis caused endometrial microbiota disorder and endometrial immune environment change in recurrent implantation failure / P. Chen, P. Chen, Y. Guo [et al.] // *Front Immunol*. – 2021. – Vol.12. – P. 748447.
255. Interleukin-6, interleukin- 1β , and tumor necrosis factor α in menstrual effluents as biomarkers of chronic endometritis / C. Tortorella, G. Piazzolla, M. Matteo [et al.] // *Fertil. Steril*. – 2014. – Vol.101. – P.242 – 247.
256. Intrauterine infusion of autologous platelet-rich plasma in women undergoing assisted reproduction: A systematic review and meta-analysis / A. Maleki-Hajiagha, M. Razavi, S. Rouholamin [et al.] // *J. Reprod. Immunol*. – 2020. – V. 137. – P.103078.
257. Is the profile of transcripts altered in the eutopic endometrium of infertile women with endometriosis during the implantation window? / M. G. Da Broi, J. Meola, J. R. Praça [et al.] // *Human Reproduction*. – 2019. – Vol. 34 (12). – P. 2381 – 2390.
258. Is there a role for vitamin D in human reproduction? / A. Nandi, N. Sinha, E. Ong [et al.] // *Horm Mol Biol Clin Investig*. – 2016. – Vol.25(1). – P.15 – 28.

259. Jarczak, D. Cytokine Storm–Definition, Causes, and Implications / D. Jarczak, A. Nierhaus // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol.23. – P.11740.
260. José, B. Implantation failure of endometrial origin: what is new? / Curr. Opin. B. José, S. Carlos // Obstet. Gynecol. – 2018. – Vol.30(4). – P.229 – 236.
261. Kany, S. Cytokines in inflammatory disease / S. Kany, J.T. Vollrath, B. Relja // Int J Mol Sci. – 2019. – Vol.20. – P.6008.
262. Kiecka, A. Can *Lactobacillus* spp. Be a Factor Reducing the Risk of Miscarriage? / A. Kiecka, B. Macura, M. Szczepanik // Pol J Microbiol. – 2021. – V.70(4). – P.431 – 446.
263. Kitaya, K. Aberrant expression of selectin E, CXCL1, and CXCL13 in chronic endometritis / K. Kitaya, T. Yasuo // Mod Pathol. – 2010. – Vol.23. – P.1136 – 1146.
264. Kitaya, K. Commonalities and Disparities between Endometriosis and Chronic Endometritis: Therapeutic Potential of Novel Antibiotic Treatment Strategy against Ectopic Endometrium / K. Kitaya, T. Yasuo // Int J Mol Sci. – 2023. – Vol.24(3). – P.2059.
265. Kosei, N. Endometrial polyps in women of reproductive age: clinical and pathogenetic variations / N. Kosei, N. Zakharenko, D. Herman // Georgian Med News. – 2017. – Vol.273. – P.16 – 22.
266. Kuroda, K. A review of the optimization of thyroid function, thrombophilia, immunity and uterine milieu treatment strategy for recurrent implantation failure and recurrent pregnancy loss / K. Kuroda // Reprod Med Biol. – 2024. – Vol.23(1). – P.12561.
267. *Lactobacillus plantarum* NK3 and *Bifidobacterium longum* NK49 alleviate bacterial vaginosis and osteoporosis in mice by suppressing NF–kB–linked TNF–a expression / D.E. Kim, J.K. Kim, S.K. Han [et al.] // J Med Food. – 2019. – Vol.22. – P.1022 – 1031.
268. Lebovitz, O. Treating patients with "thin" endometrium – an ongoing challenge / O. Lebovitz, R. Orvieto // Gynecol Endocrinol. – 2014. – Vol.30. – P.409 – 414.

269. Li, J. The effect of G-CSF on infertile women undergoing IVF treatment: a meta-analysis / J. Li, S. Mo, Y. Chen // *Syst. Biol. Reprod. Med.* – 2017. – Vol. 63(4). – P.239 – 247.
270. Live birth rate and obstetric complications following the hysteroscopic management of intrauterine adhesions including Asherman syndrome / R. Deans, T. Vancaillie, W. Ledger [et al.] // *Hum Reprod.* – 2018. – Vol.33. – P.1847 – 1853.
271. Local and systemic factors and implantation: what is the evidence? / C. Fox, S. Morin, J.W. Jeong [et al.] // *Fertil Steril.* – 2016. – Vol.105. – P.873 – 884.
272. Local mononuclear cell infiltrates in infertile patients with endometrial macropolyps versus micropolyps / K. Kitaya, Y. Tada, S. Taguchi [et al.] // *Hum Reprod.* – 2012. – Vol.27(12). – P.3474 – 3480.
273. Loftus, R.M. Immunometabolism: cellular metabolism turns immune regulator / R.M. Loftus, D.K. Finlay // *J Biol Chem.* – 2016. – Vol.291. – P.1 – 10.
274. Loss of Endometrial Plasticity in Recurrent Pregnancy Loss / E.S. Lucas, N.P. Dyer, K. Murakami [et al.] // *S. Stem Cells.* – 2016. – Vol.34(2). – P.346 – 356.
275. Ma, J. Recurrent implantation failure: A comprehensive summary from etiology to treatment / J. Ma, W. Gao, D. Li // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2023. – Vol.13. – P.1061766.
276. Mahajan, N. Endometrial receptivity array: clinical application / N. Mahajan // *J Hum Reprod Sci.* – 2015. – Vol.8(3). – P.121 – 129.
277. Mahajan, N. The endometrium in assisted reproductive technology: How thin is thin? / N. Mahajan, S. Sharma // *J Hum Reprod Sci.* – 2016. – Vol.9. – P.3 – 8.
278. Makrigiannakis, A. Approaches to Improve Endometrial Receptivity in Case of Repeated Implantation Failures / A. Makrigiannakis, F. Makrygiannakis, T. Vrekoussis // *Front Cell Dev Biol.* – 2021. – Vol.9. – P.613277.
279. Marking the Profile of the Microflora of the Endometrium and Uterine Cervix in Women as a Potential Factor Determining the Effectiveness of In Vitro Fertilization / A. Bednarska-Czerwińska, M. Czerwiński, E. Morawiec [et al.] // *J Clin Med.* – 2022. – Vol.11(12). – P.3348.

280. Medina–Bastidas, D. Current findings in endometrial microbiome: impact on uterine diseases / D. Medina–Bastidas, I. Camacho–Arroyo, E. García–Gómez // *Reproduction*. – 2022. – Vol.163(5). – P. R81 – R96.

281. Meta–signature of human endometrial receptivity: a meta–analysis and validation study of transcriptomic biomarkers / S. Altmae, M. Koel, U. Vosa [et al.] // *Sci Rep*. – 2017. – Vol.7(1). – P.10077.

282. Microorganisms in the healthy upper reproductive tract: from denial to beneficial assignments for reproductive biology / R. Eienkel, M. Zygmunt, D. O. Muzzio // *Reprod Biol*. – 2019. – Vol.19(2). – P.113–118.

283. MicroRNA 135 regulates HOXA10 expression in endometriosis / R. Petracco, O. Grechukhina, S. Popkhadze [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2011. – Vol.96(12). – P.E1925 – E1933.

284. Miles, S.M. Investigation of the microbiota of the reproductive tract in women undergoing a total hysterectomy and bilateral salpingo–oophorectomy / S.M. Miles, B.L. Hardy, D.S. Merrell // *Fertil. Steril*. – 2017. – Vol.107(3). – P.813 – 820.

285. Modulators of the Balance Between M1 and M2 Macrophages During Pregnancy / Y.N. Zhang, M. He, Y. Wang, A.H. Liao // *Front Immunol*. – 2017. – Vol.8. – P.120.

286. Molecular Determinants of Uterine Receptivity: Comparison of Successful Implantation, Recurrent Miscarriage, and Recurrent Implantation Failure / V. Günther, L. Allahqoli, A. Deenadayal–Mettler [et al.] // *Int J Mol Sci*. 2023. – Vol.24(24). – P.17616.

287. Moreno, I. Endometrial microbiota–new player in town / I. Moreno, J.M. Franasiak // *Fertil Steril*. – 2017. – Vol.108(1). – P.32 – 39.

288. Moreno, I. Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility / I. Moreno, C. Simon // *Fertil. Steril*. – 2018. – Vol.110(3). – P.337 – 343.

289. Moustafa, S. Diagnostic and therapeutic options in recurrent implantation failure / S. Moustafa, S.L. Young // *F1000Res*. – 2020. – Vol.9: F1000 Faculty Rev–208.

290. Mrozikiewicz, A.E. Biomolecular Markers of Recurrent Implantation Failure—A Review / A.E. Mrozikiewicz, M. Ozarowski, P. Jedrzejczak // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol.22. – P.82.
291. New Opportunities for Endometrial Health by Modifying Uterine Microbial Composition: Present or Future? / N.M. Molina, A. Sola-Leyva, M. J. Saez-Lara [et al.] // *Biomolecules.* – 2020. – Vol.10. – P.10040593.
292. Ni, N. TGF- β superfamily signaling and uterine decidualization / N. Ni, Q. Li // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2017. – P.15 – 84.
293. Nrf2/HO-1 pathway is involved the anti-inflammatory action of intrauterine infusion of platelet-rich plasma against lipopolysaccharides in endometritis / P. Zhang, D. Li, Z. Yang [et al.] // *Immunopharmacol Immunotoxicol.* – 2022. – Vol.44(1). – P.119 – 128.
294. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress / I. Bellezza, I. Giambanco, A. Minelli [et al.] // *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* – 2018. – Vol.1865(5). – P.721 – 733.
295. Number and function of uterine natural killer cells in recurrent miscarriage and implantation failure: a systematic review and meta-analysis / E. Von Woon, O. Greer, N. Shah [et al.] // *Hum Reprod Update.* – 2022. – Vol.28(4). – P.548 – 582.
296. O'Neill, L.A.J. A guide to immunometabolism for immunologists / L.A.J. O'Neill, R.J. Kishton, J. Rathmell // *Nat Rev Immunol.* – 2016. – Vol.16. – P.553 – 565.
297. Osman, NATAG. Correlation of NQO1 and Nrf2 in Female Genital Tract Cancer and Their Precancerous Lesions (Cervix, Endometrium and Ovary) / NATAG. Osman, N.M.R. Abd El-Maqsoud, S.A.A. El Gelany // *World J Oncol.* – 2015. – Vol.6(3). – P.364 – 374.
298. Overexpression of endometrial estrogen receptor-alpha in the window of implantation in women with unexplained infertility / M. Dorostghoal, H.O. Ghaffari, F. Marmazi [et al.] // *Int J Fertil Steril.* – 2018. – Vol.12(1). – P.37 – 42.
299. Pathophysiologic features of "thin" endometrium / I. Miwa, H. Tamura, A. Takasaki [et al.] // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol.91(4). – P.998 – 1004.

300. Paulson, R.J. Introduction: endometrial receptivity: evaluation, induction and inhibition // R.J. Paulson // *Fertil Steril*. – 2019. – Vol.111(4). – P.609 – 610.

301. Pawlowska, E. Nucleotide excision repair and vitamin D–relevance for skin cancer therapy / E. Pawlowska, D. Wysokinski, J. Blasiak // *Int J Mol Sci*. – 2016. – Vol.17. – P.372.

302. Peng, Y. Activation of the CXCL16/CXCR6 Axis by TNF- α Contributes to Ectopic Endometrial Stromal Cells Migration and Invasion / Y. Peng, J. Ma, J. Lin // *Reprod Sci*. – 2019. – Vol.26(3). – P.420 – 427.

303. Personalized embryo transfer guided by endometrial receptivity analysis: a systematic review with meta-analysis / D. Glujovsky, K. Lattes, M. Miguens [et al.] // *Hum Reprod*. – 2023. – Vol.38(7). – P.1305 – 1317.

304. Personalized embryo transfer helps in improving In vitro fertilization/ICSI outcomes in patients with recurrent implantation failure / J.A. Patel, A.J. Patel, J.M. Banker [et al.] // *J. Hum. Reprod. Sci*. – 2019. – Vol.12(1). – P.59 – 66.

305. Physiological and pathological angiogenesis in endometrium at the time of embryo implantation / X. Chen, G.C.W. Man, Y. Liu [et al.] // *Am J Reprod Immunol*. – 2017. – Vol.78. – P.e12693.

306. Pinopode score around the time of implantation is predictive of successful implantation following frozen embryo transfer in hormone replacement cycles / X.Y. Jin, L.J. Zhao, D.H. Luo [et al.] // *Hum Reprod*. – 2017. – Vol.32. – P.2394 – 2403.

307. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin- β 3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss / B. Xu, X. Sun, L. Li [et al.] // *Fertil. Steril*. – 2012. – Vol.98. – P.389 – 395.

308. Pinopodes: Recent advancements, current perspectives, and future directions / K.E. Quinn, B.C. Matson, K. Wetendorf, M. Caron // *Mol Cell Endocrinol*. – 2020. – Vol.501. – P.110644.

309. Poor reliability of vaginal and endocervical cultures for evaluating microbiology of endometrial cavity in women with chronic endometritis / E. Cicinelli, D.

De Ziegler, R. Nicoletti [et al.] // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2009. – Vol.68(2). – P.108–115.

310. Postnatal deletion of Wnt7a inhibits uterine gland morphogenesis and compromises adult fertility in mice / K. Dunlap, J. Filant, K. Hayashi [et al.] // *Biol Reprod.* – 2011. – Vol.85. – P.386 – 396.

311. Potential impact of maternal vitamin D status on peripheral blood and endometrium cellular immunity in women with recurrent implantation failure / X. Chen, L. Diao, R. Lian [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2020. – Vol.84. – P.e13243.

312. Power, M.L. Reproductive Microbiomes: A New Thread in the Microbial Network / M.L. Power, C. Quaglieri, J. Schulkin // *Reprod. Sci.* – 2017. – Vol. 24. – P.1482 – 1492.

313. Prevalence and confounders of chronic endometritis in premenopausal women with abnormal bleeding or reproductive failure / D. Song, X. Feng, Q. Zhang [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2018. – Vol.36(1). – P.78 – 83.

314. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy / E. Cicinelli, M. Matteo, R. Tinelli [et al.] // *Hum Reprod.* – 2015. – Vol.30. P.323 – 330.

315. Progesterone resistance in endometriosis: origins, consequences and interventions / B.G. Patel, M. Rudnicki, J. Yu [et al.] // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2017. – Vol. 96. – P. 623 – 632.

316. Puente, E. Chronic endometritis: old problem, novel insights and future challenges / E. Puente, L. Alonso, A.S. Laganà / *Int. J. Fertil. Steril.* – 2020. – Vol.13(4). – P.250 – 256.

317. Quantifying CD138+ cells in the endometrium to assess chronic endometritis in women at risk of recurrent pregnancy loss: A prospective cohort study and rapid review / M.P. Rimmer, K. Fishwick, I. Henderson // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2021. – Vol.47(2). – P.689 – 697.

318. Raghupathy, R. Progesterone: A Unique Hormone with Immunomodulatory Roles in Pregnancy / R. Raghupathy, J. Szekeres-Bartho // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol.23. – P.1333.

319. Rarani, F.Z. Endometrial pinopode biomarkers: molecules and microRNAs / F.Z. Rarani, F. Borhani, B. Rashidi // *Journal of Cellular P.* – 2018. – Vol.233 (12). – P.9145 – 9158.
320. Ravel, J. Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease / J. Ravel, I. Moreno, C. Simón // *Am J Obstet Gynecol.* – 2021. – Vol.224(3). – P.251 – 257.
321. Recurrent pregnancy loss is associated to leaky gut: a novel pathogenic model of endometrium inflammation? / C. Tersigni, S. D'Ippolito, F. Di Nicuolo [et al.] // *J Transl Med.* – 2018. – Vol.16(1). – P.102.
322. Regulation of inflammatory and angiogenesis mediators in a functional model of decidualized endometrial stromal cells / A. Bourdieu, S-F. Ahmad, A. Lachhab [et al.] // *Reprod Biomed Online.* – 2016. – 32 (1). – P.85 – 95.
323. Regulation of inflammatory mediator expression in bovine endometrial cells: effects of lipopolysaccharide, interleukin 1–beta, and tumor necrosis factor alpha / Y.Q. Koh, M.D. Mitchell, F.B. Almughlliq [et al.] // *Physiol Rep.* – 2018. – Vol.6(9). – P.e13676.
324. Relationship between the Cervical Microbiome, HIV Status, and Precancerous Lesions / C. Klein, D. Gonzalez, K. Samwel [et al.] // *mBio.* – 2019. – Vol.10(1). – P.e02785 – e02718.
325. Reproductive tract microbiome and therapeutics of infertility / K. Bhattacharya, S. Dutta, P. Sengupta [et al.] // *Middle East Fertil Soc J.* – 2023. – Vol.28(01). – P.11.
326. Retained pregnancy tissue after miscarriage is associated with high rate of chronic endometritis / D.B. McQueen, K.P. Maniar, A. Hutchinson // *J Obstet Gynaecol.* – 2022. – Vol.42(7). – P.3101 – 3105.
327. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction / F. Kimura, A. Takebayashi, M. Ishida [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2019. – Vol.45(5). – P.951 – 960.
328. Roberts, M. Differential Regulation of Interleukins IL–13 and IL–15 by Ovarian Steroids, TNF–Alpha and TGF–Beta in Human Endometrial Epithelial and

Stromal Cells / M. Roberts, X. Luo, N. Mol Chegini // *Hum Reprod.* – 2005. – Vol.11(10). – P.751 – 760.

329. Rogovskii, V. Immune Tolerance as the Physiologic Counterpart of Chronic Inflammation / V. Rogovskii // *Front Immunol.* – 2020. – Vol.11. – P.2061.

330. Role of the CXCL13/CXCR5 Axis in Autoimmune Diseases / Z. Pan, T. Zhu, Y. Liu, N. Zhang // *Front Immunol.* – 2022. – Vol.13. – P.850998.

331. Role of transforming growth factor–beta1 and Smads signaling pathway in intrauterine adhesion / U. Salma, M. Xue, S.M. Ali [et al.] // *Mediat Inflamm.* – 2016. – Vol.2016. – P.4158287.

332. Salpingectomy increases peri-implantation endometrial HOXA10 expression in women with hydrosalpinx / G.S. Daftary, U. Kayisli, E. Seli [et al.] // *Fertility and sterility.* – 2007. – Vol.87(2) – P. 367 – 372.

333. Santamaria, X. Asherman's syndrome: it may not be all our fault / X. Santamaria, K. Isaacson, C. Simón // *Hum. Reprod.* – 2018. – Vol.33(8). – P.1374 – 1380.

334. Seasonal Serum 25(OH) Vitamin D Level and Reproductive or Immune Markers in Reproductive–Aged Women with Infertility: A Cross–Sectional Observational Study in East Japan / K. Ota, J. Mitsui, S. Katsumata [et al.] // *Nutrients.* – 2023. – Vol.15(24). – P.5059.

335. Selection of New Probiotics for Endometrial Health / E. Chenoll, I. Moreno, M. Sánchez [et al.] // *Front. Cell Infect. Microbiol.* – 2019. – Vol.9. – P.114.

336. Shiomi, A. GM–CSF as a therapeutic target in autoimmune diseases / A. Shiomi, T. Usui, T. Mimor // *Inflamm Regen.* – 2016. – Vol.36. – P.8.

337. Structural variations of vaginal and endometrial microbiota: hints on female infertility. *Front* / L. Riganelli, V. Iebba, M. Piccioni [et al.] // *Cell. Infect. Microbiota.* – 2020. – Vol.10. – P.350.

338. Systemic Activation of NRF2 Alleviates Lethal Autoimmune Inflammation in Scurfy Mice / T. Suzuki, S. Murakami, S.S. Biswal [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 2017. – Vol.37(15). – P.e00063 – e00017.

339. Systemic inflammation and autoimmunity in women with chronic endometritis / V.A. Kushnir, S. Solouki, T. Sarig–Meth T. [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2016. – Vol.75(6). – P.672 – 677.

340. T cell–related endometrial gene expression in normal and complicated pregnancies / L. Wu, A. Liao, A. Gilman–Sachs, J. Kwak–Kim // In: Kwak–Kim J. editor. *Endometrial Gene Expression: An Emerging Paradigm for Reproductive Disorders*. Cham: Springer International Publishing. – 2020. – P. 51– 66.

341. Taxonomical and functional assessment of the endometrial microbiota in a context of recurrent reproductive failure: A case report / I. Garcia–Grau, D. Perez–Villaroya, D. Bau [et al.] // *Pathogens*. – 2019. – Vol.8(04). – P.4 – 6.

342. TGF– β 3 modulates the inflammatory environment and reduces scar formation following vocal fold mucosal injury in rats / Z. Chang, Y. Kishimoto, A. Hasan [et al.] // *Dis Model Mech.* – 2014. – Vol.7(1). – P.83 – 91.

343. The association between endometriosis and chronic endometritis / A. Takebayashi, F. Kimura, Y. Kishi [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol.9(2). – P.e88354.

344. The associations between pelvic inflammatory disease, *Trichomonas vaginalis* infection, and positive herpes simplex virus type 2 serology / T.L. Cherpes, H.C. Weisenfeld, M.A. Melan [et al.] // *Sex. Transm. Dis.* – 2006. – Vol.33(12). – P.747 – 752.

345. The Cervicovaginal Mucus Barrier / G. Lacroix, V. Gouyer, F. Gottrand, J.L. Desseyn // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol.21. – P.8266.

346. The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology / I. Moreno, E. Cicinelli, I. Garcia–Grau [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol.218(6). – P.602.e1 – 602.e16.

347. The effects and mechanisms of GM–CSF on endometrial regeneration / J. Liu, Y. Ying, S. Wang [et al.] // *Cytokine*. – 2020. – Vol.125. – P.154850.

348. The effects of microbiota on reproductive health: a review / N. Wang, L. Chen, K. Yi [et al.] // *Crit Rev Food Sci Nutr.* – 2024. – V.64(6). – P.1486 – 1507.

349. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review / A. Agarwal, A. Aponte–Mellado, B.J. Premkumar [et al.] // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2012. – Vol.10. – P.49.
350. The efficacy of intrauterine instillation of granulocyte colony–stimulating factor in infertile women with a thin endometrium: a pilot study / D. Lee, J.D. Jo, S.K. Kim [et al.] // *Clin Exp Reprod Med.* – 2016. – Vol.43. – P.240 – 246.
351. The expression patterns of IL–1 β and IL–10 and their relation to CYP epoxygenases in normal human placenta / Z. Tauber, K. Chroma, R. Baranova, K. Cizkova // *Ann Anat.* – 2021. – Vol.236. – P.151671.
352. The impact of chronic endometritis on endometrial fibrosis and reproductive prognosis in patients with moderate and severe intrauterine adhesions: a prospective cohort study / L. Liu, Y. Huan, Y. Guo, Y. Chen // *Fertil Steril.* – 2019. – Vol.111. – P.1002 – 1010.
353. The impact of the female genital microbiota on the outcome of assisted reproduction treatments / G. Cocomazzi, S. De Stefani, L. Del Pup [et al.] // *Microorganisms.* – 2023. – Vol.11(6). – P.1443.
354. The interaction between microorganisms, metabolites, and immune system in the female genital tract microenvironment / H. Li, Y. Zang, C. Wang [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2020. – Vol.10. – P.609488.
355. The Interplay Between Reproductive Tract Microbiota and Immunological System in Human Reproduction / S. Al–Nasiry, E. Ambrosino, M. Schlaepfer [et al.] // *Front Immunol.* – 2020. – Vol.11. – P.378.
356. The management of polyps in female reproductive organs / V. Tanos, K.E. Berry, J. Seikkula [et al.] // *Int. J. Surg.* – 2017. – Vol.43. – P. 7 – 16.
357. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine–related diseases / C. Chen, X. Song, W. Wei [et al.] // *Nat. Commun.* – 2017. – Vol.8(1). – P.875.
358. The Microenvironment of Human Implantation: Determinant of Reproductive Success / L.A. Salamonsen, J. Evans, H.P. Nguyen, T.A. Edgell // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2016. – Vol.75. – P.218 – 225.

359. The precise determination of the window of implantation significantly improves ART outcomes / M. Enciso, J. Aizpurua, B. Rodríguez–Estrada [et al.] // *Sci Rep.* – 2021. – Vol.11(1). – P.13420.

360. The relationship between the expression levels of miR– 135a and HOXA10 gene in the eutopic and ectopic endometrium / S.H. Mirabutalebi, N. Karami, F. Montazeri [et al.] // *Int J Reprod Biomed (Yazd).* – 2018. – Vol.16(8). – P.501 – 506.

361. The Reproductive Microbiome–Clinical Practice Recommendations for Fertility Specialists / J.A. García–Velasco, D. Budding, H. Campe [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2020. – Vol. 41. – P.443–453.

362. The role of abnormal hypermethylation of the HOXA10 and HOXA11 promoters in implantation failures in IVF programs / T.A. Nazarenko, E.A. Kalinina, E.A. Knyazeva [et al.] // *Gynecol Endocrinol.* – 2019. – Vol.35(sup1). – P.31–34.

363. The role of CXC chemokine ligand 16 in physiological and pathological pregnancies / J.W. Shi, H.L. Yang, D.X. Fan [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2020. – Vol.83(4). – P.e13223.

364. The role of decidual immune cells on human pregnancy / S. Liu, L. Diao, C. Huang [et al.] // *Reprod Immunol.* – 2017. – Vol.124. – P.44 – 53.

365. The Role of Genital Tract Microbiome in Fertility: A Systematic Review / S.G. Vitale, F. Ferrari, M. Ciebiera [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol.23(1). – P.180.

366. The Role of Inflammation for a Successful Implantation / N. Dekel, Y. Gnainsky, I. Granot [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2014. – Vol. 72(2). – P.141 – 147.

367. The Role of Interleukins in Recurrent Implantation Failure: A Comprehensive Review of the Literature / K. Pantos, S. Grigoriadis, E. Maziotis [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol.23(4). – P.2198.

368. The Role of TGF– β during Pregnancy and Pregnancy Complications / B. Wen, H. Liao, W. Lin // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol.24(23) – P.16882.

369. The role of the endometrial receptivity array (ERA) in patients who have failed euploid embryo transfers / J. Tan, A. Kan, J. Hitkari [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2018. – Vol.35(4). – P.683 – 692.

370. The Role of the IL–1 System in Pregnancy and the Use of IL–1 System Markers to Identify Women at Risk for Pregnancy Complications / O. Equils, C. Kellogg, J. McGregor [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2020. – Vol.103. – P.684–694.

371. The uterine immune profile: a method for individualizing the management of women who have failed to implant an embryo after IVF/ICSI / N. Lédée, M. Petitbarat, L. Prat–Ellenberg [et al.] // *J Reprod Immunol.* – 2020. – Vol.142. – P.103207.

372. The Uterine Immunological Changes May Be Responsible for Repeated Implantation Failure / F. Amjadi, Z. Zandieh, M. Mehdizadeh [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2020. – Vol.138. – P.103080.

373. Therapeutic role of granulocyte macrophage colony–stimulating factor (GM–CSF) in patients with persistent thin endometrium: A prospective and randomized study / X. Mao, J. Zhang, R. Cai [et al.] // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2020. – Vol.150(2). – P.194 – 199.

374. Thin endometrium transcriptome analysis reveals a potential mechanism of implantation failure / R. Maekawa, T. Taketani, Y. Mihara [et al.] // *Reprod Med Biol.* – 2017. – Vol.16. – P.206 – 227.

375. TNF– α Regulated Endometrial Stroma Secretome Promotes Trophoblast Invasion / Y. You, P. Stelzl, D.N. Joseph [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol.12. – P.737401.

376. Tonelli, C. Transcriptional Regulation by NRF2 / C. Tonelli, I.I.C. Chio, D.A. Tuveson // *Antioxid Redox Signal.* – 2018. – Vol.29(17). – P.1727 – 1745.

377. Torcia, M. Interplay among vaginal microbiome, immune response and sexually transmitted viral infections / M. Torcia // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol.20. – P.266 – 213.

378. Unexplained Recurrent Implantation Failures: Predictive Factors of Pregnancy and Therapeutic Management from a French Multicentre Study / K. Kolanska, S. Bendifallah, J. Cohen [et al.] // *Reprod. Immunol.* – 2021. – Vol.145. – P.103313.

379. Unified diagnostic criteria for chronic endometritis at fluid hysteroscopy: proposal and reliability evaluation through an international randomized–controlled

observer study / E. Cicinelli, A. Vitagliano, A. Kumar [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2019. – Vol.112(1). – P.162 – 73.e2.

380. Ushach, I. Biological Role of Granulocyte Macrophage Colony–Stimulating Factor (GM–CSF) and Macrophage Colony–Stimulating Factor (M–CSF) on Cells of the Myeloid Lineage / I. Ushach, A. Zlotnik // *J Leukocyte Biol.* – 2016. – Vol.100(3). – P. 481 – 489.

381. Uterine factor infertility: A clinical review / C. Hur, J. Rehmer, R. Flyckt, T. Falcone // *Clin. Obstet. Gynecol.* – 2019. – Vol.62(2). – P.257 – 270.

382. Uterine factors in recurrent pregnancy losses / M. Carbonnel, P. Pirtea, D. de Ziegler [et al.] // *Fertil Steril.* – 2021. – Vol.115. – P.538 – 545.

383. Uterine fluid cytokine/chemokine levels of women undergoing ART with and without oral Vitamin D supplementation / G.C. Cermisoni, M. Reschini, M.P. Piccinni [et al.] // *Hum Reprod Open.* – 2022. – Vol.2022(2). – P.hoac017.

384. Uterine glands coordinate on–time embryo implantation and impact endometrial decidualization for pregnancy success / A.M. Kelleher, J. Milano–Foster, S.K. Behura, T.E. Spencer // *Nat Commun.* – 2018. – Vol.9. – P.2435.

385. Uterine immunity and microbiota: A shifting paradigm / C. Agostinis, A. Mangogna, F. Bossi [et al.] // *Front Immunol.* – 2019. – Vol.10. – P.2387.

386. Valdes, C.T. Implantation failure of endometrial origin: it is not pathology, but our failure to synchronize the developing embryo with a receptive endometrium / C.T. Valdes, A. Schutt, C.C. Simon // *Fertil Steril.* – 2017. – Vol.108. – P.15–18.

387. Vitagliano, A. Autoimmunity, systemic inflammation, and their correlation with repeated implantation failure and recurrent miscarriage: is chronic endometritis the missing piece of the jigsaw? / A. Vitagliano, M. Noventa, S. Gizzo // *Am J Reprod Immunol.* – 2017. – Vol.77(1). – P.e12597.

388. Vitamin D activates the Nrf2–Keap1 antioxidant pathway and ameliorates nephropathy in diabetic rats / K. Nakai, H. Fujii, K. Kono [et al.] // *Am. J. Hypertens.* – 2014. – Vol.27. – P.586 – 595.

389. Vitamin D and assisted reproductive treatment outcome: A systematic review and meta-analysis / J. Chu, I. Gallos, A. Tobias [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2018. – Vol.33. – P.65 – 80.

390. Vitamin D and endometrium: a systematic review of a neglected area of research / G.C. Cermisoni, A. Alteri, L. Corti et al. // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol.19. – P.2320.

391. Vitamin D and Immune Regulation: Antibacterial, Antiviral, Anti-Inflammatory // E.L. Bishop, A. Ismailova, S. Dimeloe [et al.] // *JBMR Plus.* – 2020. – Vol.5(1). – P.e10405.

392. Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity / K. Ota, S. Dambaeva, A.R. Han [et al.] // *Hum Reprod.* – 2014. – Vol.29. – P.208 – 219.

393. Vitamin D regulates maternal T-helper cytokine production in infertile women / Y. Ikemoto, K. Kuroda, K. Nakagawa [et al.] // *Nutrients.* – 2018. – Vol.10(7). – P.902.

394. Vitamin D status and fertility outcomes during winter among couples undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection / G. Neville, F. Martyn, M. Kilbane [et al.] // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2016. – Vol.135(2). – P.172 – 176.

395. Vitamin D3 controls TLR4- and TLR2-mediated inflammatory responses of endometrial cells / A. Ghanavatinejad, N. Rashidi, M. Mirahmadian [et al.] // *Gynecol Obstet Invest.* – 2021. – Vol.86. – P.139 –148.

396. Waller EK. A new role for an old cytokine: GM-CSF amplifies GVHD / E.K.Waller // *Blood.* – 2020. – Vol.135(8). – P.520 – 521.

397. What is the clinical impact of the endometrial receptivity array in PGT-A and oocyte donation cycles? / A.R. Neves, M. Devesa, F. Martinez [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* 2019. – Vol. 36. – P.1901 – 1908.

398. White, J.H. Emerging Roles of Vitamin D-Induced Antimicrobial Peptides in Antiviral Innate Immunity / J.H. White // *Nutrients.* – 2022. V.14(2). – P.284.

399. Wicks, I.P. Targeting GM-CSF in inflammatory diseases / I. P. Wicks, A.W. Roberts // *Nat Rev Rheumatol.* – 2016. – Vol.12. – P.37 – 48.

400. Women with Recurrent Miscarriage Have Decreased Expression of 25-Hydroxyvitamin D3-1 α -Hydroxylase by the Fetal-Maternal Interface / L.Q. Wang, X.T. Yan, C.F. Yan [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol.11(12). – P.e0165589.
401. Yang, F. Dynamic Function and Composition Changes of Immune Cells during Normal and Pathological Pregnancy at the Maternal-Fetal Interface / F. Yang, Q. Zheng, L. Jin // Front. Immunol. – 2019. – Vol.10. – P.2317.
402. Yarosz, E.L. The Role of Reactive Oxygen Species in Regulating T Cell-mediated Immunity and Disease / E.L. Yarosz, C.H. Chang // Immune Netw. – 2018. – Vol.18. – P.e14.
403. Yasuo T. Challenges in Clinical Diagnosis and Management of Chronic Endometritis / T. Yasuo, K. Kitaya // Diagnostics (Basel). – 2022. – Vol.12(11). – P.2711.
404. Zhao H. A novel update on vitamin D in recurrent pregnancy loss (Review) / H. Zhao, X. Wei, X. Yang // Mol Med Rep. – 2021. – Vol.23(5). – P.382.
405. Zhou M. Decreased PIBF1/IL6/p-STAT3 during the Mid-Secretory Phase Inhibits Human Endometrial Stromal Cell Proliferation and Decidualization / M. Zhou, H. Xu, D. Zhang // J. Adv. Res. – 2021. – Vol.30. – P.15 – 25.