

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

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» на кафедре акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского института.

Научные консультанты:

зав. кафедрой акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского института РУДН, заслуженный деятель науки РФ, член-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор

**Радзинский
Виктор Евсеевич**

директор, зав. лабораторией клинической морфологии НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор

**Михалева
Людмила Михайловна**

Официальные оппоненты:

ведущий научный сотрудник Научно-клинического отделения ВРТ им. Ф. Паулсена ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор

**Корнеева
Ирина Евгеньевна**

зав. отделом патоморфологии, зав. патологоанатомическим отделением ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», доктор медицинских наук

**Толибова
Гулрухсор Хайбуллоевна**

профессор кафедры акушерства и гинекологии №1 лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор

**Зуев
Владимир Михайлович**

Ведущая организация: государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области "Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. акад. В.И. Краснопольского" (101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а).

Защита диссертации состоится 26 декабря 2024 г. в ... часов на заседании Диссертационного совета ПДС 0300.017 на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «РУДН им. Патриса Лумумбы» (г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке РУДН (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6) и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet/dissertacionnye-sovety/pds-0300017>.

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г

Ученый секретарь
диссертационного совета ПДС 0300.017
кандидат медицинских наук, доцент

**Лебедева
Марина Георгиевна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. 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) (Коган И.Ю. и соавт., 2021; Радзинский В.Е. и соавт., 2022; Корнеева И.Е. и соавт., 2023; Cariatati F. et al., 2020).

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 (Moustafa S. et al., 2020; Carbonnel M. et al., 2021; Benkhalifa M., 2022; Ma J. et al., 2023; Kuroda K., 2024).

С позиций молекулярных механизмов, формирующих имплантационную восприимчивость, эндометрий, при всем многообразии научных работ, остается наиболее неисследованной тканью женского организма (Радзинский В.Е. и соавт., 2021; Толибова Г.Х. и соавт., 2022). 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 aberrантного рецептивного профиля с нарушением стероидзависимой продукции факторов микроокружения (Оразов М.Р., 2020; Маслова М.А. и соавт., 2021; Радзинский В.Е. и соавт., 2021; Mrozikiewicz A.E. et al., 2021; Günther V. et al., 2023).

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) (Чухнина Е.Г., 2022; Pirtea P. et al., 2021). Проблема бесплодия неясного генеза (БНГ) многогранна с позиций невыявленных заболеваний и неуточненных механизмов субоптимальной рецептивности эндометрия (Крутова В.А., 2016; Cicinelli E. et al., 2018). 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% (Dvořan M. et al., 2018; Gkrozou F. et al., 2020). Фундаментальность научных подходов при оценке молекулярных характеристик эндометрия не отменяет контраверсий суждений ввиду различий дизайнов исследования и методик лечения (Оразов М.Р. и соавт., 2022; Valdes C.T. et al., 2017), 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» (Lédée N. et al., 2020; Kolanska K. et al., 2021; Jarczak D., Nierhaus A., 2022; Von Woon E. et al., 2022).

Дискуссионные аспекты репродуктивных последствий ХЭ обусловлены отсутствием четких рекомендаций необходимости исключения заболевания при обследовании бесплодных пар (Михалева Л.М. и соавт., 2017; Тапильская Н.И. и соавт., 2022). 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 (Михалев С.А., 2019; Molina N.M. et al., 2020). Перспективны, хотя и противоречивы данные исследований состояния микробиоты при заболеваниях эндометрия, включая ПЭ, ГЭ, а также в сочетании с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) (Miles S.M. et al., 2017; Medina-Bastidas D. et al., 2022). Динамическое взаимодействие между микробиомом и иммунитетом — сложная и быстро развивающаяся область науки с огромными возможностями для развития репродуктивной медицины (Lingasamy P. et al., 2023). Однако механизмы

взаимосвязи между врожденной и адаптивной иммунными системами эндометрия, микробиотой, метаболитами и белками малоизучены (Al-Nasiry S. et al., 2020; Li H. et al., 2020). 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» (Zhang Q. et al., 2017; Mrozikiewicz A.E. et al., 2021).

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) (Толибова Г.Х. и соавт., 2020; Царева Н.В., 2020; Ni N. et al., 2017). 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 (Cermisoni G.C. et al., 2022).

Недостаточно доказательств использования какого-либо вмешательства для подготовки эндометрия перед переносом эмбрионов в естественных или криоциклах (Glujovsky D. et al., 2023). Низкую результативность лечения повторных неудач ЭКО детерминирует отсутствие унифицированного диагностического подхода, что является поводом к выяснению истинных причин нарушения децидуализации и рецептивности эндометрия (Jarczak D., Nierhaus A., 2022).

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 (Kelleher A.M. et al., 2018). 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) определило новый виток развития молекулярной репродуктологии, актуализировав поиск кофакторов рецептивного профиля и разработку концепции полноценного иммунного микроокружения (Awonuga A.O. et al., 2023). Последствия механической «травмы» эндометрия более изучены с патоморфологического «ракурса», нежели с позиций поиска предикторов фертильных опций «тонкого» эндометрия (Краснопольская К.В. и соавт., 2019; Lv H. et al., 2022).

Проблема ХЭ как причины бесплодия и повторных неудач ЭКО требует более надежных методик верификации и уточнения генеза, особенно с появлением концепции «воспалительного состояния эндометрия» (Тапильская Н.И. и соавт. 2022; Cicinelli E. et al., 2018; Groth J.V., 2018; Ticconi C. et al., 2019; Drizi A. et al., 2020). Исследования молекулярно-биологических особенностей эндометрия при ХЭ вскрывают нерешенную проблему диагностических ошибок и неэффективности лечения (Оразов М.Р. и соавт., 2020; Радзинский В.Е. и соавт., 2020; Cicinelli E. et al., 2021). Представления о возможности реализации фертильности женщин с полипами и микрополипами эндометрия противоречивы (Cicinelli E. et al., 2019; Nijkang N.P. et al., 2019) и отсылают к изучению микросреды и механизмов регуляции имплантации после удаления образований (Kosei N. et al., 2017; Tanos V. et al., 2017). Риск ПНИ доказан в отсутствие зрелых форм и при дисхронозе развития пиноподий (Брагина Е.Е., 2015; Аунаршу М. et al., 2018), однако взаимодействие этих ультраструктур с прочими молекулярными сигнатурами эндометрия малоизучено (Altmae S. et al., 2017). Доказано влияние на фертильность гомеобокс-генов НОХА 10,11 и кодируемых ими белков как ключевых регуляторов рецептивности эндометрия при некоторых гинекологических заболеваниях (Ticconi C. et al., 2019), однако данные об их участии в генезе «маточного фактора» бесплодия малочисленны и противоречивы (Шарипова Р.И., 2021; Yang Y. et al., 2017; Ozcan C. et al., 2019) и вообще отсутствуют при повторных неудачах ЭКО.

Прогресс в понимании механизмов диалога эндометрия с генетически и иммунологически отличным эмбрионом (Amjadi F. et al., 2020; Drizi A. et al., 2020), 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 (Ticconi S. et al., 2019). 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 (Yang F. et al., 2019; Al-Nasiry S. et al., 2020). 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 (Agostinis C. et al., 2019).

Внедрение технологии секвенирования генов позволило выявить различия микробного состава матки при физиологическом статусе и заболеваниях эндометрия (D'Ippolito S. et al., 2018; Liu Y. et al., 2019), нарушениях имплантации и выкидышах после ЭКО (Moreno I. et al., 2022), однако в реакциях взаимодействия системы «эндометрий-локальный иммунитет» роль микробиоты практически не рассматривалась (Baker J.M. et al., 2018; Koirala R. et al., 2020).

Расширенные представления о потенциальном участии и реализации эффектов кальцитриола через VDR и регуляцию экспрессии генов, участвующих в имплантации (Ikemoto Y. et al., 2018), внесли изменения в понимание его роли как гормонального мессенджера. Однако возможность 25(OH)D влиять на рецептивность эндометрия через локальную иммунную активность дискутируется (Ota K. et al., 2023).

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 персонализации лечебно-диагностических подходов, инновационных диагностических и терапевтических стратегий преодоления infertility.

Все вышеизложенное определило актуальность и выбор темы настоящего исследования.

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 молекулярные фенотипы, определяющие имплантационную несостоятельность эндометрия при повторных неудачах ЭКО.

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

7. Разработать модели персонализированного 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 (TNF- α), гранулоцитарно–макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), интерлейкина–10 (IL–10), хемокина C–X–C Motif Ligand 16 (CXCL16), хемокина, привлекающего В–лимфоциты (BCA1), TGF- β 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. Для достижения цели диссертационной работы в период 2017-2022 гг. выполнено открытое обсервационное комбинированное (про- и ретроспективное) исследование на клинической базе кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии 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).

Дизайн диссертационного исследования представлен на Рисунке 1.

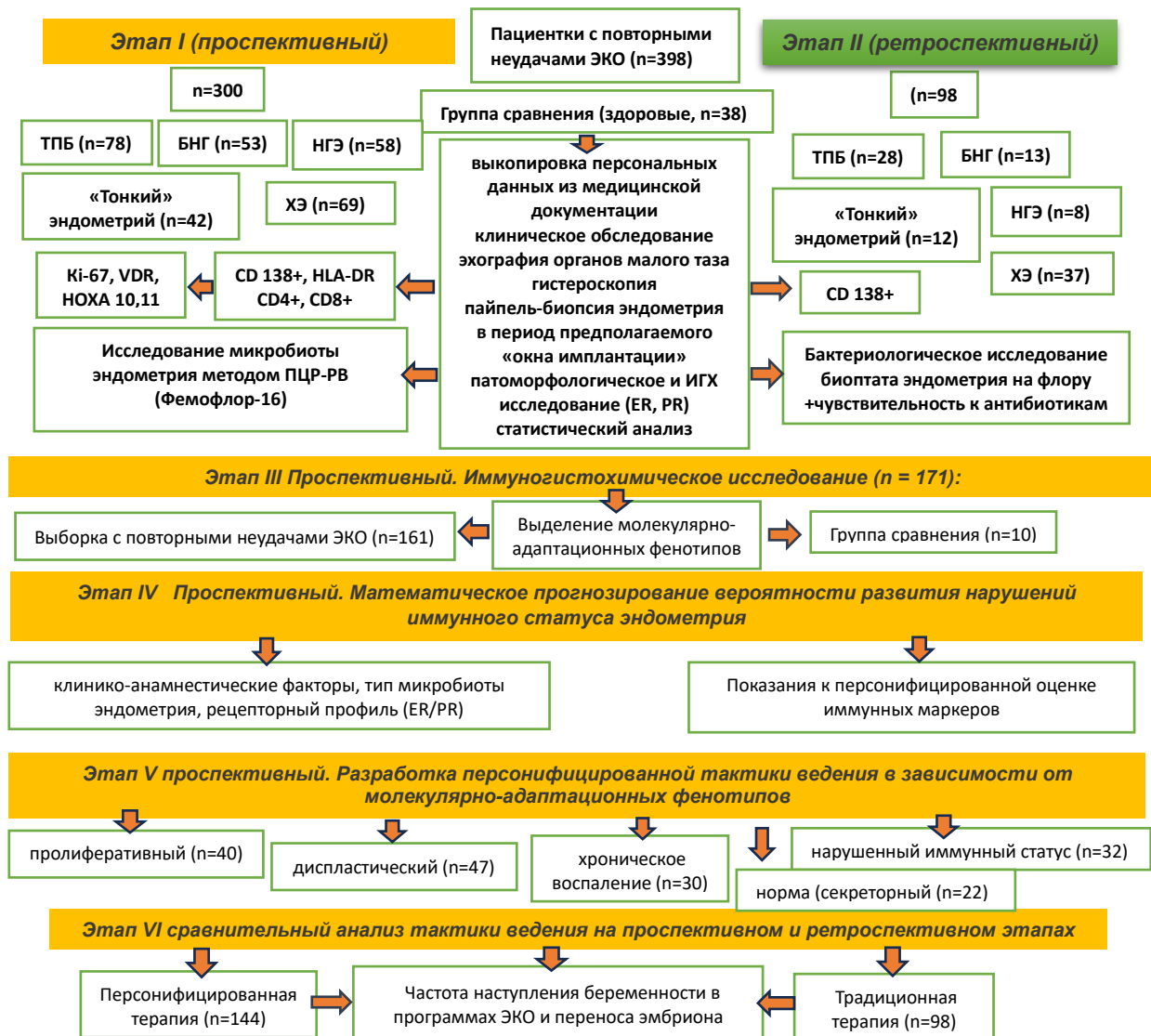


Рисунок 1 – Дизайн диссертационного исследования

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), 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 использовали данные анамнеза, клиничко-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.

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 перивуляторную фазу МЦ менее 7 мм в трех циклах подряд (n=42);
5. ХЭ: морфологическая и иммуногистохимическая (ИГХ) верификация (cluster of differentiation, 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 клиничко-анамнестических 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 биоптатов 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, NOXA 10,11 и VDR.

Второй этап исследования (ретроспективный) включал анализ архивных данных и заключений лабораторно-инструментальных исследований 98 женщин для выявления клиничко-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).

Обследование женщин с повторными неудачами ЭКО производили в соответствии с приказом Минздрава России 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 было 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.). Обследование женщин включало оценку жалоб, анамнеза, общий и гинекологический осмотр, клинико-лабораторные и инструментальные методы исследования.

Содержание в венозной крови 25(OH)D на 6–8-й день после овуляции хемилюминесцентным методом выполняли по стандартной методике (нормальный уровень – 30–100 нг/мл, недостаточность – от 20 до 30 нг/мл, дефицит – 10–20 нг/мл); стероидных гормонов [эстрадиола (пмоль/л), прогестерона (нмоль/л)] на 20-22 день МЦ – иммуноферментным методом.

УЗИ органов малого таза всем пациенткам выборки осуществляли на 7-10-й, 20-22-й дни МЦ (для мониторинга овуляции, выполненных внутриматочных вмешательств). Оценивали анатомию матки, яичников, эндометрий (толщину, эхогенность, однородность). Выделенные сонографические стигмы эндометрия группировали с выделением типов: пролиферативный (ПЭ, ГЭ, неравномерная толщина); диспластический (внутриматочные синехии, фиброз стромы/гиперэхогенные включения в базальном слое, «тонкий» эндометрий); ассоциированный с хроническим воспалением [неоднородность, истончение М-эхо (несоответствие фазе МЦ), гипозэхогенный контур вокруг М-эхо, расширение полости матки в верхней трети].

Особенности маточной перфузии (симметрия васкуляризации, параметры кровотока (пульсационный индекс, индекс резистентности [Resistive Index (IR)] в маточных, аркуатных, радиальных, базальных, спиральных артериях) выявляли методом цветового доплеровского картирования (ЦДК) на 20-22 дни МЦ. С целью оценки состояния полости матки (цвет, рельеф, однородность, складчатость, соответствие фазе МЦ, сосудистый рисунок стенок, устья маточных труб) и выявления патологических образований на 7-10 день МЦ по стандартному протоколу с использованием оборудования Storz® (Германия) всем женщинам выполняли гистероскопию. Визуальные стигмы нарушенного состояния эндометрия группировали с выделением типов: пролиферативный (признаки ГЭ, полипы, микрополипы на фоне ХЭ), диспластический (внутриматочные синехии, истончение и бледность слизистой); ассоциированный с ХЭ [неравномерная толщина (очаги утолщения и гипертрофии, микрополипы) и окраска (отек стромы, гиперемия, точечные кровоизлияния)]. Гистероскопию сочетали с аспирационной биопсией эндометрия, удалением образований, разрушением внутриматочных синехий.

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

Патоморфологическое и ИГХ исследования биоптатов эндометрия выполняли по стандартной методике на базе НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНИЦХ им. акад. Б.В. Петровского» (директор института, зав. лабораторией – засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, д.м.н., проф. Л.М. Михалева) и патологоанатомического отделения ГБУЗ г. Москвы «ГКБ №31 ДЗМ имени академика Г.М. Савельевой» (зав. отделением – засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, д.м.н., проф. Л.М. Михалева). 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 Sacuga (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-C и программным обеспечением Leica Application Suite (LAS, Version 4.9.0).

Для автоматического режима ИГХ исследования 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]», хромогена – диаминобензидин. Реакции проводили с помощью автоматического иммуногистостейнера «Leica Bond-MAX» и «Ventana Bench Mark ULTRA». Осуществляли оценку экспрессии иммунных маркеров в железистом и стромальном компартментах эндометрия (TNF- α , GM-CSF, IL-10, CXCL16, BCA1, TGF- β 1, NRF2).

Анализ результатов ИГХ исследования в автоматическом режиме осуществляли с антителами (АТ) к 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 производили в строме эндометрия полуколичественным методом путем оценки количества позитивных клеток, независимо от интенсивности окрашивания: 0 (отсутствие позитивных стромальных клеток), 1+ (количество клеток до 24%), 2+ (от 25% до 49%) и 3+ (от 50%). Анализ интенсивности окрашивания структур эндометрия проводили автоматически (программа включала 10 цветовых режимов), далее на наиболее информативные объекты накладывали псевдоцветные маски. Были сделаны расчеты относительной площади окрашенных клеток стромы и glanduloцитов желез, экспрессирующих VDR, к площади полного кадра (%), NOXA10, NOXA11 (%) – стромы эндометрия.

Диагноз ХЭ верифицировали при повышенной экспрессии в эндометрии CD138+, CD8+, CD4+, Human Leukocyte Antigen-изотип DR [HLA-DR(II)+] по шкале, разработанный Г.Х. Толибовой и соавт. (2018). Исследование проводили количественным способом путем подсчета иммунопозитивных клеток при световой микроскопии и 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).

Препараты изучали при помощи 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 $\times 400$.

Биопсийный материал эндометрия для исследования ультраструктур пиноподий методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) получали на ЛГ7+ день МЦ, в некоторых случаях дважды для мониторинга темпов развития (ЛГ5+, ЛГ7+ – дни 20-22 у индивидов) (n=17).

В образцах оценивали: наличие пиноподий, плотность распределения [изобилующие (более 50%), умеренные (от 20 до 50%), не выраженные (менее 20%)], тип развития (созревающие, зрелые и регрессивные), морфологию (акселерация или гипоплазия), особенности микроокружения (секреторные клетки, гранулы, реснитчатые клетки), сохранность или разобщенность межклеточных контактов. Микрофотографии получали при помощи СЭМ CamScan S-2 («Cambridge Instruments») при ускоряющем напряжении 20 кВ.

Исследование 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.).

Микробиологический блок исследований включал: микроскопию мазка на флору (окраска по Граму), бактериологический посев отделяемого цервикального канала на флору и чувствительность к антибиотикам [диагностически значимым считали титр $>10^4$ колониеобразующих единиц (КОЕ)/мл]. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР-12) в отделяемом цервикального канала оценивали наличие дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) хламидий, трихомонад, гарднерелл, микоплазм, вируса простого герпеса 2 типа (ВПГ2), цитомегаловируса (ЦМВ) с использованием наборов реагентов «ДНК-технологии» (Москва). Для обнаружения *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* проводили культивирование, полуколичественную оценку титра и определение чувствительности к антибиотикам с помощью набора *Mycoplasma* IST 2 (USA). ПЦР в режиме реального времени (РВ) использовали для выявления вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого онкогенного риска (ВР), количественной и качественной оценки микрофлоры влагалища (тест-система Фемофлор-16) (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с определением ДНК микробного материала в геном-эквивалентных единицах (ГЭ/мл).

Исследование биоптата эндометрия методом ПЦР-РВ (тест-система Фемофлор-16) проводили в проспективной выборке ($n=144$), при выявлении нелактобациллярного типа микробиоты ($n=53$) и в ретроспективной выборке ($n=98$) осуществляли забор тканевых фрагментов эндометрия с целью бактериологического посева на флору и чувствительность к антибиотикам двуполостным катетером для переноса эмбрионов после обработки шейки матки 0,05% раствором хлоргексидина и удаления шеечной слизи. Микробиологическое исследование отделяемого цервикального канала и тканевых фрагментов биоптата эндометрия проводили в аэробных, микроаэрофильных и анаэробных условиях культивирования с определением чувствительности к антибиотикам.

Протокол наблюдения за пациентами и программа обследования одобрены локальным этическим комитетом МИ ФГАОУ ВО РУДН им. П. Лумумбы (г. Москва), исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы научных и медицинских исследований с участием человека».

После персонифицированного лечения в соответствии с выявленными молекулярными фенотипами эндометрия 97 пациенткам с эффективным восстановлением параметров эндометрия выполняли ЭКО и перенос эмбрионов. Стимуляцию суперовуляции осуществляли препаратами мочевых и рекомбинантных гонадотропинов, агонистами и антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона со 2 дня МЦ с индивидуальным расчетом дозировок и с последующей после назначения триггера [хорионический гонадотропин (ХГ), рекомбинантный (рХГ)] финального созревания ооцитов трансвагинальной пункцией фолликулов и аспирацией ооцитов аспирационной иглой через своды влагалища под контролем УЗИ с соблюдением правил асептики и антисептики. Эмбриолог оценивал качество и зрелость ооцитов, в случае эффективного оплодотворения их спермой партнера определял качество эмбрионов на основании анализа количества и формы blastomeres, дробления и фрагментации цитоплазмы (на 3-и сутки). У эмбрионов 5-х суток развития оценивали степень экспансии blastocysts, параметры внутриклеточной массы и трофэктодермы с помощью буквенно-цифровой классификации Гарднера (Gardner D. K., 2016). К эмбрионам плохого качества относили тех, которые останавливались в развитии на ранних стадиях (например, 4b, 5c, 6a). Их криоконсервацию и

перенос в полость матки не осуществляли, а сами эмбрионы утилизировали. Качество остальных эмбрионов, соответствующее дню их культивирования, которые впоследствии были подвергнуты криоконсервации и/или переносу в полость матки, считали удовлетворительным (хорошим/отличным).

Наступление беременности констатировали через две недели после переноса свежих/размороженных эмбрионов на основании оценки уровня ХГЧ в периферической крови, через 21 день после выявления плодного яйца по результатам УЗИ органов малого таза (подтверждение клинической беременности). Для определения сердцебиения эмбриона следующее УЗИ органов малого таза выполняли на сроке 5–6 недель беременности, после чего определяли дальнейшую тактику ведения пациентки.

Положения, выносимые на защиту:

1. Развитие эндометриальной дисфункции эндометрия, сочетанной с повторными неудачами ЭКО при бесплодии различного генеза, детерминируется 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 персонализированного 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 результатов. 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. При сравнении категориальных переменных использовали показатель отношения шансов (ОШ) с границами 95% доверительного интервала (ДИ). При построении прогностических моделей применяли методы бинарной логистической регрессии и дискриминантного анализа, для определения значимости количественных признаков при прогнозировании исхода – метод анализа ROC-кривых.

Диссертация выполнена в рамках основного направления научной деятельности кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии МИ РУДН «Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально-экономических условиях» (номер гос. регистрации 01.9.70 007346, шифр темы 317712).

Апробация состоялась на кафедре акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета ФГАОУ ВО РУДН совместно с сотрудниками «НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына» ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» 9 февраля 2024 года, протокол №10.

Основные положения диссертации 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).

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

Автор лично принимала непосредственное участие в разработке методологии и дизайна исследования, курации пациенток, выполнении УЗИ органов малого таза, хирургических внутриматочных манипуляций. Автор лично осуществлял статистическую обработку полученных результатов исследования с построением математических моделей прогнозирования риска снижения эндометриального резерва, риска повторных неудач ЭКО и наличия сформированных фенотипов эндометрия, разработку алгоритма дифференцированного выбора тактики ведения в зависимости от молекулярно-адаптационного профиля. Все научные положения, выводы и практические рекомендации сформулированы лично автором.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 25 научных работ в отечественной и зарубежной печати, в том числе 8 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, 10 – в изданиях, цитируемых в базе Scopus и Web of Science.

Диссертация изложена на 390 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, пяти глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, включающего выводы и практические рекомендации, списка сокращений и списка литературы, включающего 405 источников, из них – 100 отечественных, 305 – зарубежных авторов. Работа содержит 105 таблиц, иллюстрирована 104 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследований и их обсуждение. Сравнительный анализ показал преимущественную сопоставимость женщин всех групп по основным клинико-анамнестическим факторам риска. Возрастную категорию 20-29 лет составили 24,4% женщин, 30-34 года – 44,1%; среди 35-40-летних достоверно преобладали респондентки с БНГ, «тонким» эндометрием и ХЭ в сравнении с НГЭ ($p < 0,05$). Средний возраст женщин выборки составил $32,6 \pm 0,4$ года, без достоверных межгрупповых различий. Первичное бесплодие преобладало в группе с БНГ, значимо 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 ($p = 0,02$, $\chi^2 = 5,4$) и ТПБ ($p = 0,002$, $\chi^2 = 10,2$). 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%, $p < 0,05$).

Предикторами повторных неудач ЭКО и морфофункциональных нарушений состояния эндометрия у женщин с бесплодием различного генеза выступали:

- хронический сальпингоофорит (ОШ=3,6; 95% ДИ: 1,5–8,8) – у 56,5% с ХЭ и ТПБ, 34,5% – с НГЭ, 20,8% – с БНГ;
- рецидивирующие вагиниты (ОШ=2,4; 95% ДИ: 0,9–6,0) – у 46,4% и рецидивирующие бактериальные вагинозы (БВ) (ОШ=2,0; 95% ДИ: 0,8–4,7) – 31,1% всей выборки;
- доброкачественные заболевания шейки матки (ОШ=3,7; 95% ДИ: 1,4–9,6) – у 32,9% женщин, вмешательства на шейке матки радиоволновым методом (ОШ=3,2; 95% ДИ: 1,1–9,4) – 29,6%;
- неоднократные внутриматочные вмешательства (ОШ=2,4; 95% ДИ: 0,8–7,1) – 45,2% с «тонким» эндометрием и 33,3% – с ТПБ;
- инфекции, передаваемые половым путем (ИППП) (ОШ=2,1; 95% ДИ: 0,9–4,9) – у 40,6% с ХЭ (против 19,0% с БНГ и «тонким» эндометрием), 48,7% – с ТПБ против 20,2% с НГЭ, БНГ и «тонким» эндометрием ($p < 0,05$);
- ВПЧ ВР (ОШ=2,2; 95% ДИ: 0,8–6,6) – у 30,9% с ХЭ и НГЭ.

Вероятность механической травмы с нарушением архитектоники и функций эндометрия определял факт искусственных абортов у 50,1% женщин выборки, в 2,6 раза больше, чем с БНГ ($p < 0,05$), самопроизвольных выкидышей – в группе с ХЭ достоверно чаще, чем с БНГ, ТПБ и «тонким» эндометрием (27,5% против 6,2%, $p < 0,05$). Преобладание предикторов повышенного пролиферативного потенциала эндометрия выявлено в группе с НГЭ за счет ГЭ в анамнезе – в пять раз чаще, чем при БНГ, ТПБ и «тонком» эндометрии (37,9% против 7,5%) ($p < 0,05$) и носительства ВПЧ ВР (32,8% против 11,3% при БНГ и «тонком» эндометрии) ($p < 0,05$).

Формирование «тонкого» эндометрия в группе со скудными менструальными выделениями (21,4%) и вторичным бесплодием (92,9%) длительностью более двух лет (66,7%) представляется исходом хронической «травмы» и многократных внутриматочных вмешательств. В группе с БНГ отсутствие потенциальных факторов риска на фоне адекватной менструальной кровопотери (84,9%) и первичного бесплодия (60,4%) отсылает к поиску «тонких поломок» реализации эффектов половых стероидных гормонов и их медиаторов в период «окна имплантации».

Исследование анамнеза женщин с повторными неудачами ЭКО позволяет уточнить структурно-метаболический потенциал эндометрия после перенесенных заболеваний и вмешательств на органах репродуктивной системы. Изучена возможность выявления признаков имплантационной «несостоятельности» эндометрия на основании традиционных методов исследования (эхография, гистероскопия) и стратификации по типам: норма, диспластический, пролиферативный и хроническое воспаление. Эхо-признаки пролиферативного типа эндометрия (ПЭ, ГЭ) выявлены у 11,8% женщин; диспластического (истончение М-эхо < 7 мм, фиброз базального слоя, внутриматочные синехии) – 35,8% с БНГ, всех – с «тонким» эндометрием, 10,6% – в остальных группах; хронического воспаления (гипоэхогенный контур вокруг М-эхо, неоднородность/истончение М-эхо, расширение полости матки в верхней трети) – 73,9% с ХЭ,

достоверно реже при БНГ и НГЭ (13,3%, $p < 0,001$), 35,9% – с ТПБ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 5,7$); варианта нормы – 5,8% с ХЭ; 47,5% – в остальных группах ($p < 0,05$).

Градация визуальных особенностей эндометрия (толщина, окраска, структура, выраженность сосудистого рисунка) отличалась от вариантов, ранее обозначенных как макротипы (гипо-, гиперпластический, смешанный) (Петров Ю.А., 2012).

Констатация пролиферативного типа базировалась на выявлении ПЭ/ГЭ – у 32,7% женщин с БНГ, ТПБ, НГЭ; маркеры диспластического типа отмечены не только при хроническом воспалении (8,7%), но и пластическом дефиците ткани [истончение и бледность (52,4%), синехии (11,9%)] в группе с «тонким» эндометрием (всего – 64,3%), достоверно реже – с БНГ (22,6%) ($p < 0,001$, $\chi^2 = 16,8$), 4,9% – ТПБ и НГЭ ($p < 0,05$). Признаки ХЭ (микрополипы, очаговая/диффузная гиперемия, отек стромы, геморрагические пятна) отмечали у всех женщин одноименной группы, 20,7% – с НГЭ, 38,5% – ТПБ, достоверно реже – БНГ (9,4%) ($p < 0,001$, $\chi^2 = 13,6$) с высокой диагностической эффективностью метода (90,0%) (чувствительность – 100,0%, специфичность – 84,0%).

Сложности диагностики ХЭ, дискордантность результатов патоморфологического исследования (69,0%) и гистероскопии (отек, гиперемия) (100,0%), аналогично мнению других исследователей (Cicinelli E. et al., 2015; Богданова А.М., 2018), разрешает визуализация микрополипов (31,9%, 6,6% – в остальных группах), отсутствие которых при подобной картине связывают с новым термином «нарушенное воспалительное состояние» (Ticconi C. et al., 2019).

Роль клинико-anamnestических факторов при выделении визуальных типов эндометрия (при гистероскопии) оценена как предиктивная: при диспластическом – с неоднократными внутриматочными вмешательствами ($p < 0,05$), трудностью визуализации базальных артерий матки ($p < 0,05$), пролиферативном – с бактериальной контаминацией эндоцервикса/в сочетании с рецидивами БВ ($p < 0,05$), носительством ВПЧ ВР ($p < 0,05$), лейкоплакией шейки матки/cervical intraepithelial neoplasia (CIN I, II) в анамнезе на фоне вирусной «нагрузки» ($p < 0,05$).

Эти наблюдения соответствуют данным о возможности прогнозирования дистрофически-атрофических изменений эндометрия при несимметричности васкуляризации, повышении IR спиральных, радиальных и базальных маточных артерий после острых воспалительных процессов и травм у женщин с «тонким» эндометрием на фоне ХЭ (Богданова А.М., 2018).

В ходе патоморфологического исследования структура изменений эндометрия женщин с повторными неудачами ЭКО была представлена полипом тела матки (железистый, железисто-фиброзный) (12,7%) и гиперплазией без атипии (железистая) (3,6%) – в группах с БНГ, ТПБ и НГЭ, фибропластической трансформацией стромы (15,7%) [в группе с «тонким» эндометрием – 71,4%, 9,3% – в остальных ($p < 0,001$)] на фоне полноценной секреторной трансформации у 36,7%. Истинная частота ХЭ в группах (68,1% – в одноименной группе, 20,7% – с НГЭ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 28,5$), 38,5% – ТПБ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 12,9$), 9,4% – БНГ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 42,0$) согласуется с наблюдениями авторов (Vitagliano A. et al., 2018; Yasuo T. et al., 2022), однако при НГЭ встречалась реже (20,7%), чем в научной литературе (52,9%) (Takebayashi A., 2014).

Необходимо уточнить, что эффективность диагностики воспаления основана на выделении разных патоморфологических форм – «полной» (диффузная воспалительная инфильтрация стромы и просвета желез лимфоцитами, плазмócитами, нейтрофилами; микрополипоз) (31,9% в группе с ХЭ и 6,6% – в остальных) и «неполной» картины воспаления (32,3% – с ХЭ и ТПБ, 9,7% – с НГЭ и бесплодием неясного генеза), с гиперэкспрессией в тканевых фрагментах CD138+, инверсией индекса CD8+> CD4+.

ХЭ диспластического типа (очаговая воспалительная инфильтрация с выраженным фиброзом стромы, стенок сосудов и фибропластической трансформацией клеток стромы) встречался реже [31,9% в одноименной группе, 26,9% – с ТПБ, 5,4% – с БНГ и НГЭ ($p < 0,05$)], чем в других источниках (46,3%), наряду с большей вероятностью рецидива синехий на фоне воспаления (Liu L. et al., 2019). Диагностика его была затруднительна: патоморфологическая верификация (29,4% в группах с ХЭ и ТПБ, 5,4% – с БНГ и ХЭ) превосходила визуальную картину [истончение, бледность слизистой, точечные кровоизлияния (27,5%)], что обосновывает

необходимость при выраженном очаговом фиброзе стромы окраски материала по Маллори и ИГХ исследования.

Визуальная картина неравномерного утолщения эндометрия на фоне отека и гиперемии, интерпретируемая как полипоз (5,2% в среднем), маскировала хроническое воспаление, патоморфологическую основу которого составляло очаговое скопление лимфоидных фолликулов и гиперэкспрессия более чем в 10 полях зрения HLA-DR, маркера аутоиммунного процесса (Толибова Г.Х., 2018). Сочетание ХЭ с ПЭ/ГЭ выявлено в 23,2%, с ТПБ и НГЭ – 4,5%.

Сравнительный анализ информативности методов диагностики нарушений состояния эндометрия позволяет акцентировать внимание на вероятных ошибках с целью их минимизации.

Риск ложной констатации диспластического типа эндометрия 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%). Несоответствие статуса эндометрия диспластическому типу при эхографии (33,3% в группе с «тонким» эндометрием, 26,4% – с БНГ) и отсутствие фибропластической трансформации стромы у 28,6% женщин с «тонким» эндометрием может быть обусловлено очаговыми повреждениями стромы, подтверждая сложность генеза данного «концепта».

Перспективы этой категории женщин в преодолении повторных неудач ЭКО среди прочих с диспластическим типом эндометрия представляются наибольшими.

Эффективность визуализации эндометрия пролиферативного типа (чувствительность – 100,0%, специфичность – 84,0%), напротив, доказывает низкая частота ложноположительных заключений (6,1% против 14,5% при констатации ХЭ методом эхографии) и отсутствие диагностических «упущений» (при эхографии – 15,6%).

Визуальная картина гиперемии, отека стромы и микрополипов эндометрия в 61,9% соответствовала патоморфологической: диффузной воспалительной инфильтрации стромы лимфоцитами, макрофагами и плазмócитами, фиброзу стромы, стенок сосудов с гиперэкспрессией CD138+, преобладанием CD8+ над CD4+, аналогично другим данным (Cicinelli E. et al., 2021). Погрешности выявления ХЭ в 31,9% были обусловлены гиперболизацией гистероскопических паттернов (отек и гиперемия) в отличие от минимальных эпизодов гипердиагностики при эхографии (8,8%).

Результаты патоморфологической диагностики эндометрия в период предполагаемого «окна имплантации» убеждают в различной степени зрелости и необходимости выяснения его молекулярной состоятельности в образцах со средней стадией фазы секреции [62,6% с НГЭ, ТПБ и БНГ, 46,4% – ХЭ ($p < 0,05$), 21,4% – «тонким» эндометрием ($p < 0,001$, $\chi^2 = 6,9$)].

Среди вариантов патоморфологического несоответствия эндометрия (дисхроноз пролиферации эпителия желез фазе МЦ) у 37,4% женщин с ТПБ и БНГ, 53,6% – ХЭ, 78,6% – с «тонким» эндометрием выделялась категория с гипопластически-диспластическим типом [66,7% женщин с «тонким» эндометрием, 21,7% – с ХЭ ($p < 0,001$, $\chi^2 = 22,2$)], достоверно реже – в остальных группах ($p < 0,05$).

Обосновано утверждение, что прогнозирование способности эндометрия с дисхронозом фазе МЦ к спонтанному «дозреванию» требует не только патоморфологического, но и ИГХ мониторинга. Полученные результаты позволяют прийти к заключению, что весомая и недооцененная роль в прогнозировании полноценной секреторной трансформации эндометрия в период «окна имплантации» обусловлена составом биотопов генитального тракта.

Микробиологический блок исследований показал, что при нарушениях микробиоты влагалища (у 58,9% женщин с ТПБ, НГЭ и ХЭ, 32,2% – с «тонким» эндометрием и БНГ) контаминацию вышележащих отделов определяли достоверно чаще: отделяемого эндоцервикса (условно-патогенные штаммы в титрах $> 10^4$) – в четыре раза [31,0% при ТПБ, НГЭ, ХЭ, 10,4% – при БНГ и «тонком» эндометрии ($p < 0,05$); ИППП – 9,1%], эндометрия – в 2,6 раза [34,8% при ХЭ против 13,2% при БНГ ($p = 0,007$, $\chi^2 = 7,4$)], чем при нормоценозе (7,6%, 8,7% и 14,3% соответственно).

Лактобациллярный тип микробиоты эндометрия при интактном эндоцервиксе значимо чаще выявляли в группах с БНГ (62,3% против 3,8%) ($p=0,00$, $\chi^2=23,1$), «тонким» эндометрием (54,8% против 14,3%) ($p=0,00$, $\chi^2=23,1$) и ТПБ (33,3% против 10,3%) ($p=0,008$, $\chi^2=7,9$).

Контаминация биотопов генитального тракта в группе с ХЭ [59,4%: влагалища (62,3%), цервикального канала (60,9%), эндометрия (55,1%)] оказалась наибольшей, что подтверждает ведущую роль в генезе заболевания дисбаланса микробиома (Шуршалина А.В., 2007; Радзинский В.Е. и соавт., 2017; Михалев С.А., 2019).

Полагаем, частоту дисбиоза, коинфекции биотопов генитального тракта [влагалища и эндометрия (34,8%), эндоцервикса (ВПЧ ВР) и эндометрия (37,7%)] следует рассматривать в качестве индукторов изменения состава и активности факторов локального иммунитета, аналогично другим авторам (Al-Nasiry S. et al., 2020). В группе с БНГ контаминация эндометрия была наименьшей в сравнении с нижними отделами половых путей (13,2% против 34,9%), с группой с «тонким» эндометрием – сопоставима (влагалище – 28,6%, эндоцервикс – 38,1%, эндометрий – 31,0%).

Высокий показатель инфицирования биотопов при ТПБ [влагалища (62,8%) – эндоцервикса (56,4%) – эндометрия (38,5%)] предполагает нарушение барьерных функций слизистых и усиление адаптивного иммунного ответа.

Гипотеза, что изменение состава биотопов [влагалища и эндометрия (24,4%), эндоцервикса и эндометрия (28,2%)] негативно влияет на фертильность за счет продукции микробных антигенов/метаболитов и нарушения энергетического обеспечения слизистых оболочек, согласуется с мнением других авторов (Liang J. et al., 2023).

При патоморфологическом несоответствии эндометрия фазе МЦ нелактобациллярный тип микробиоты отмечали достоверно чаще, чем лактотип: при ТПБ – практически в четыре раза (93,3% против 26,1%, $p=0,008$, $\chi^2=7,9$), ХЭ – в два (89,5% против 45,5%, $p=0,00$, $\chi^2=23,1$).

Выявленные корреляции – секреторный эндометрий при лактобациллярном типе микробиоты, дисхронизм желез в выборке с дисбиотическим профилем подтверждают мнение о влиянии биоценоза на архитектуру через регуляцию последовательности генетических и эпигенетических изменений (Medina-Bastidas D. et al., 2022).

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:

- при БНГ ($n=21$): нарушенный иммунный статус ($n=10$) и диспластический ($n=11$);
- ТПБ ($n=74$): пролиферативный ($n=12$), хроническое воспаление ($n=20$), вариант нормы (секреторный) ($n=12$), диспластический ($n=18$), нарушенный иммунный статус ($n=12$);
- НГЭ ($n=22$): нарушенный иммунный статус ($n=10$) и пролиферативный ($n=12$);
- ХЭ ($n=36$): картина воспаления ($n=10$), пролиферативный ($n=16$), диспластический ($n=10$);
- «тонкий» эндометрий (диспластический) ($n=8$);
- группа сравнения ($n=10$).

Соответствие параметров экспрессии иммунных маркеров в эндометрии женщин с ТПБ ($n=12$) таковым здоровых ($n=10$) позволило объединить результаты в группу сравнения ($n=22$).

Суммирование данных привело к выявлению внутри каждой группы молекулярно-адаптационных фенотипов: пролиферативный, диспластический, хронического воспаления, нарушенного иммунного статуса, нормы (секреторный) с достоверными межгрупповыми различиями показателей (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Фенотипы эндометрия женщин с повторными неудачами ЭКО

Экспрессия GM-CSF, роль которого доказана в воспалительном иммунном ответе и аутоиммунитете посредством влияния на презентацию антигена, фагоцитоз, хемотаксис и клеточную адгезию (Ingelfinger F. et al., 2021), при фенотипе воспаления в обоих компартментах эндометрия, пролиферативном – в железистом оказалась достоверно повышена в отличие от группы сравнения ($p < 0,001$) (Рисунок 3).

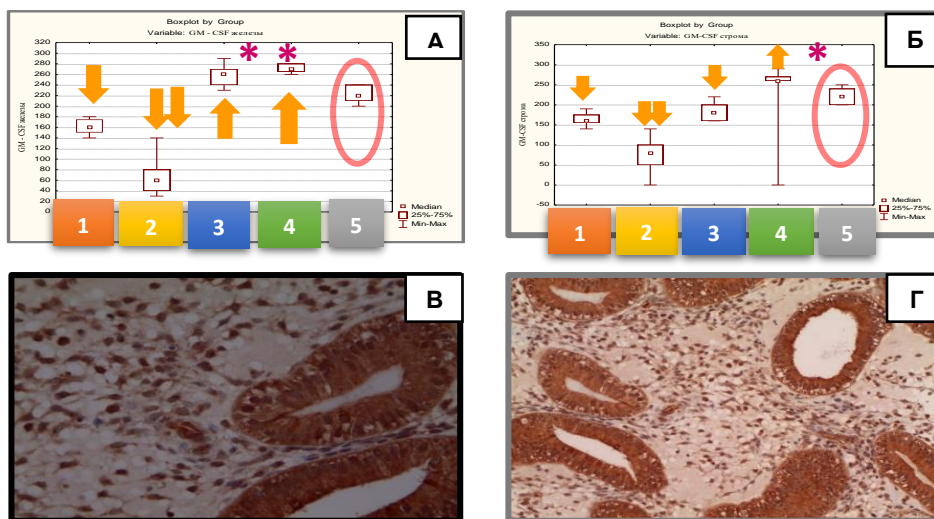


Рисунок 3 – Экспрессия GM-CSF в железистом (А) и стромальном (Б) компартментах при фенотипах эндометрия (1 – нарушенный иммунный статус, 2 – диспластический, 3 – пролиферативный, 4 – хроническое воспаление, 5 – группа сравнения); иммуногистохимическая реакция с антителами к GM-CSF – гиперэкспрессия (В) и умеренная (Г), $\times 400$

Экспрессия TGF- $\beta 1$, роль которого в процессе имплантации blastocyst связывают с усилением пролиферации стромы эндометрия, регуляцией толерогенных дендритных клеток в децидуальной оболочке, уменьшением реакций воспаления и стимуляцией Treg-клеток (Wen B.

et al., 2023), при диспластическом фенотипе была достоверно выше, чем в группе сравнения ($p=0,015$), фенотипе воспаления – снижена в отличие от пролиферативного ($p<0,01$) (Рисунок 4).

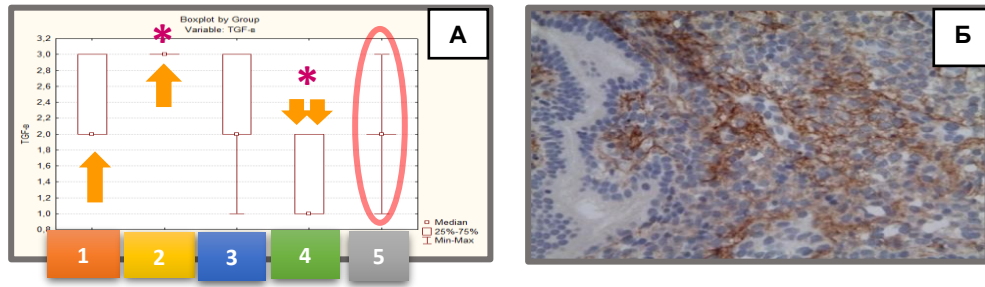


Рисунок 4 – Экспрессия маркера в стромальном компартменте при фенотипах эндометрия (А); иммуногистохимическая реакция с антителами к TGF- β 1, (гиперэкспрессия) (Б), х400

Экспрессия TNF- α , цитокина с доказанным участием в процессах пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток, индуктора усиления секреции воспалительных цитокинов и хемокинов (You Y. et al., 2021), в отличие от группы сравнения достоверно преобладала при фенотипе воспаления ($p<0,001$) и пролиферативном ($p<0,001$) (Рисунок 5).

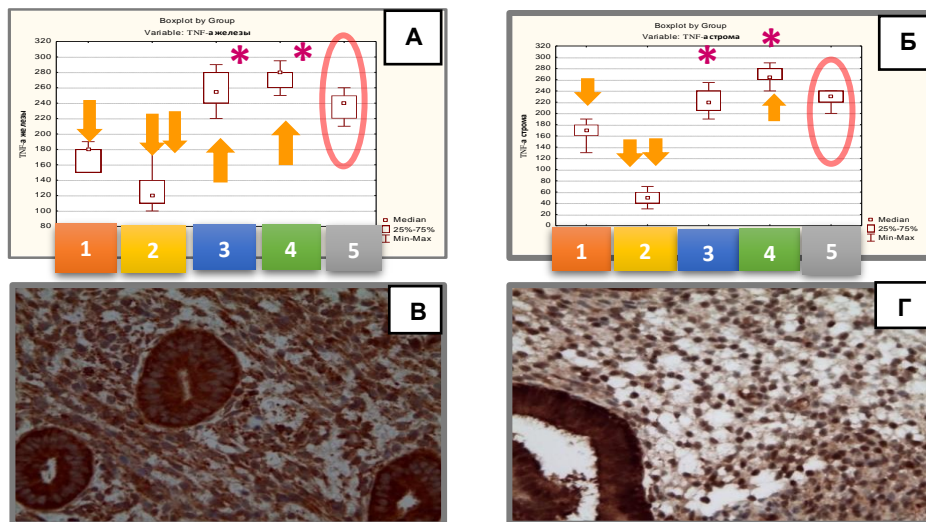


Рисунок 5 – Экспрессия TNF- α в железистом (А) компартменте и строме (Б) при фенотипах эндометрия (1 – нарушенный иммунный статус, 2 – диспластический, 3 – пролиферативный, 4 – хроническое воспаление, 5 – группа сравнения); иммуногистохимическая реакция с антителами к TNF- α – гиперэкспрессия (В) и умеренная (Г), х400

Экспрессия IL-10, иммунорегуляторного цитокина, способствующего дифференцировке дендритных клеток в фенотип, который контролирует экспансию популяции регуляторных Treg-клеток противовоспалительного типа (Tauber Z. et al., 2021), была более снижена при фенотипе хронического воспаления ($p<0,001$) и диспластическом ($p<0,001$) (Рисунок 6).

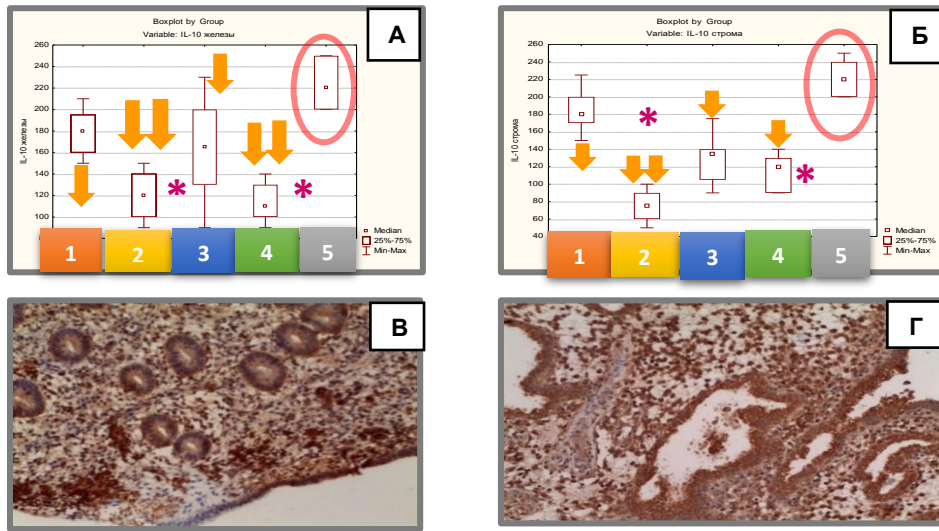


Рисунок 6 – Экспрессия IL-10 в железистом компартменте (А) и строме (Б) при фенотипах эндометрия; иммуногистохимическая реакция с антителами к IL-10 (гиперэкспрессия) (В) и умеренная (Г), x200

Экспрессия хемокинов CXCL13 (BCA1) и CXCL16, связанных с ремоделированием, реэпителизацией и пролиферацией эндометрия (Hundelshausen P. von et al., 2017; David B.A., 2019), необходимых для поддержания фето-материнского интерфейса как иммуопривилегированного (Shi J.W. et al., 2017) оказалась достоверно наибольшей при фенотипе хронического воспаления ($p < 0,001$) (Рисунок 7).

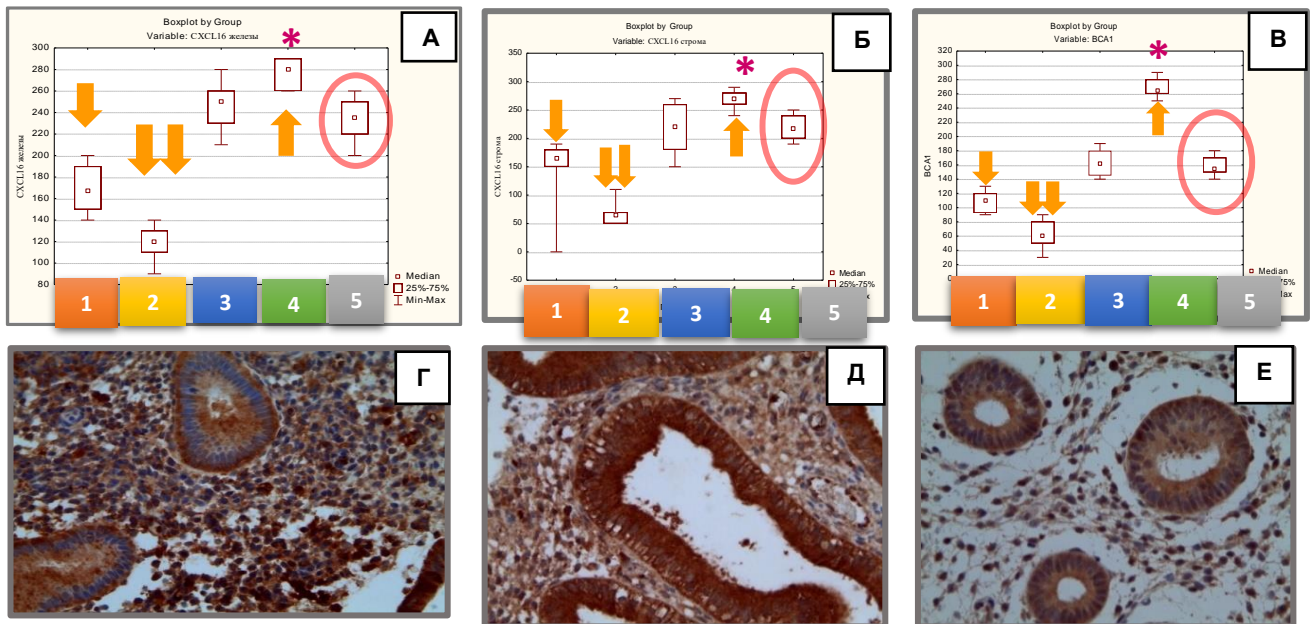


Рисунок 7 – Экспрессия CXCL16 (А) и BCA1 (В) в железистом компартменте, CXCL16 – в строме (Б) при фенотипах эндометрия (1 – нарушенный иммунный статус, 2 – диспластический, 3 – пролиферативный, 4 – хроническое воспаление, 5 – группа сравнения); иммуногистохимическая реакция с антителами к CXCL16 (гиперэкспрессия) (Г) и умеренная (Д); с антителами к BCA1 (гиперэкспрессия) (Е), x400

Роль NRF2 в уменьшении воспаления связана с его способностью быть антагонистом NF-κB (Zhang P. et al., 2022) (Рисунок 8).

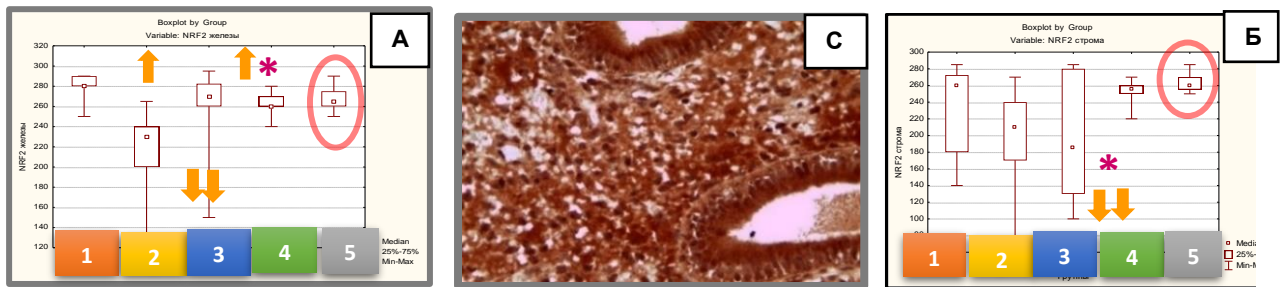


Рисунок 8 – Экспрессия NRF2 в железистом компартменте (А) и строме (Б) при фенотипах эндометрия; ИГХ реакция с антителами к NRF2 (гиперэкспрессия) (С), х 400

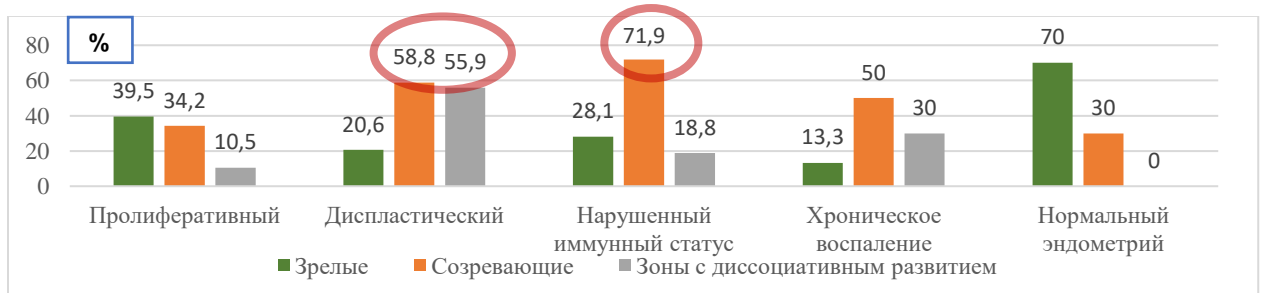
При фенотипе нарушенного иммунного статуса экспрессия NRF2 в железистом компартменте эндометрия оказалась достоверно выше, чем в остальных группах ($p < 0,001$), диспластическом – была наименьшей ($p < 0,001$). В строме эндометрия экспрессия маркера значимо отличалась от группы сравнения: при диспластическом фенотипе – в 1,2 раза ниже ($p < 0,001$), пролиферативном – в 1,4 раза ($p = 0,02$).

Приведенные данные доказывают несоответствие в период предполагаемого «окна имплантации» патоморфологического статуса эндометрия ультраструктурному и молекулярному. Особенности иммуногенеза позволяют расширить представления о патогенезе изменений эндометрия, приводящих к повторным неудачам ЭКО, с выделением адаптационно-гомеостатических реакций (фенотипов).

Патоморфологические особенности нерцептивного профиля при фенотипах: нарушенном иммунном статусе – преобладание средней стадии фазы секреции (59,4%); пролиферативном – поздней стадии фазы пролиферации (55,0%); диспластическом – гипопластически-диспластического типа (76,6%); хроническом воспалении – несоответствие средней стадии фазе секреции (66,7%) обосновывают необходимость расширенного обследования данной выборки женщин с повторными неудачами ЭКО.

Лактобациллярный тип микробиоты эндометрия преобладал при фенотипе нарушенного иммунного статуса (68,4%) и пролиферативном (81,2%), достоверно реже встречался при диспластическом (52,9%) ($p = 0,002$; $\chi^2 = 9,9$), нелактобациллярный – значимо чаще в сравнении с остальными группами выявлен при фенотипе воспаления (63,3%) ($p < 0,05$).

Вариабельность типа пиноподий при фенотипах эндометрия – зрелых – в секреторном (70,0%), созревающих – в 71,9% образцов с нарушенным иммунным статусом, в 2,5 раза реже, чем пролиферативном ($p = 0,002$; $\chi^2 = 9,9$) и секреторном ($p = 0,02$; $\chi^2 = 5,7$) (32,1%), в 54,4% – с хроническим воспалением и диспластическим подтверждает неоднородность молекулярно-биологических реакций в период «окна имплантации» (Рисунок 9).

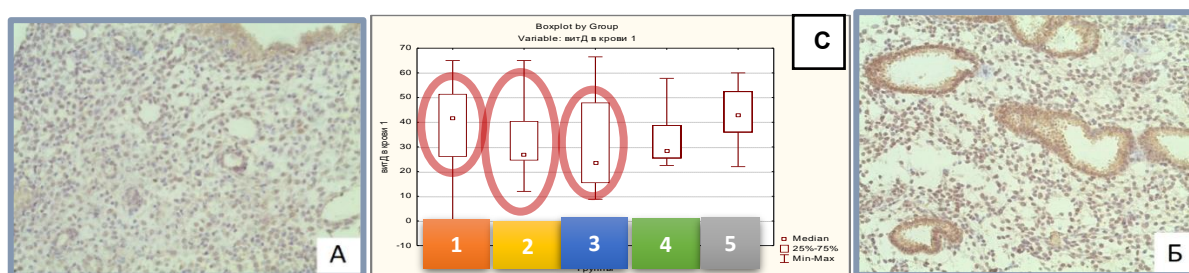


Примечание – статистически значимые отличия от фенотипа нормы ($p < 0,05$)

Рисунок 9 – Типы пиноподий при различных фенотипах эндометрия

Нерецептивный профиль эндометрия, выявленный у всех женщин с фенотипом хронического воспаления, 86,7% – с остальными был представлен: гипоэкспрессивным – при диспластическом, гиперэкспрессивным – пролиферативном; с ранней экспрессией PR – при нарушенном иммунном статусе; более низкой экспрессией PR, чем ER – при хроническом воспалении.

При исследовании уровня сывороточного 25 (ОН) D значимо больший средний показатель определен в группе с нарушенным иммунным статусом [41,5(26;51,5)], в полтора раза, чем с диспластическим [26,8(24,5;40,5)] ($p=0,04$) и пролиферативным фенотипом [23,5(15,3;48,0)] ($p=0,03$). Достоверные отличия содержания витамина D от группы сравнения [43(36;52,5)] отмечены при диспластическом фенотипе ($p=0,005$), пролиферативном ($p=0,009$) и хроническом воспалении [28,5(25,5;38,8)] ($p=0,02$) (Рисунок 10).



Примечание – статистически значимые отличия от фенотипа нормы и нарушенного иммунного статуса ($p<0,05$)

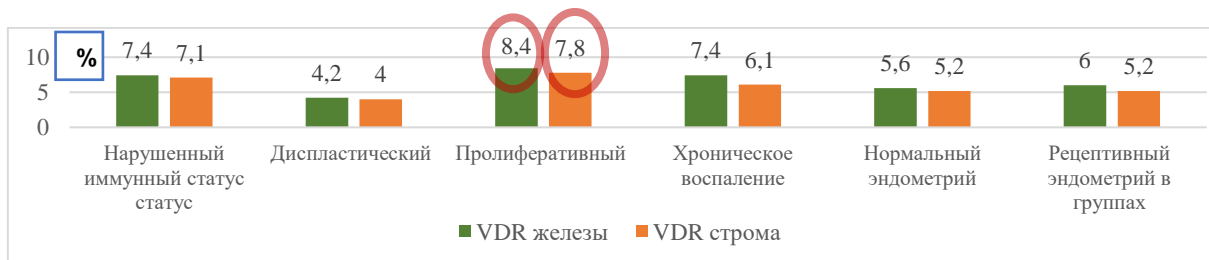
Рисунок 10 – Содержание сывороточного витамина D (нг/мл) при фенотипах эндометрия

(С) (1 – нарушенный иммунный статус, 2 – диспластический,

3 – пролиферативный, 4 – хроническое воспаление, 5 – группа сравнения);

иммуногистохимическая реакция с антителами к VDR в железистом компартменте при рецептивном (А) и нерецептивном профиле (Б), х 200

Показатели маркера в обоих компартментах эндометрия при нарушенном иммунном статусе и пролиферативном были значимо выше, чем при рецептивном профиле ($p<0,001$) и в группе сравнения ($p<0,001$), диспластическом – ниже ($p<0,001$) (Рисунок 11).



Примечание — значимые отличия фенотипа нормы от всех групп, кроме рецептивного эндометрия ($p<0,001$)

Рисунок 11 – Экспрессия VDR при различных фенотипах эндометрия

При исследовании экспрессии НОХА 10 межгрупповых различий не выявлено, НОХА 11 – при пролиферативном и фенотипе нарушенного иммунного статуса экспрессия была достоверно выше, чем в группе сравнения ($p<0,001$) и секреторном при ТПБ ($p<0,001$), диспластическом – ниже ($p<0,001$), при воспалении – не отличалась (Рисунок 12).

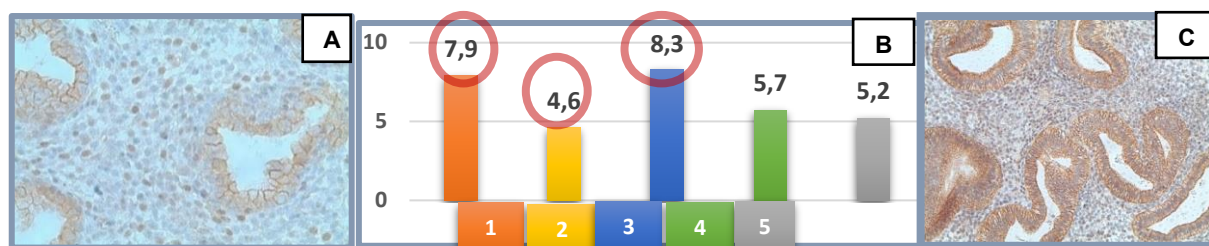


Рисунок 12 – Иммуногистохимическая реакция с антителами к NOXA11 в строме эндометрия при рецептивном профиле (А) и пролиферативном фенотипе (С), х 400; экспрессия маркера при фенотипах эндометрия (В)

Фенотип секреторного эндометрия

Особенности рецепторного профиля при данном фенотипе [ER в железистом компартменте – 120(110;125), в строме – 130(125;130), PR – 160(145;165) и 270(265;280) соответственно] соответствуют данным, что регулируемое прогестероном снижение ER α в средне-секреторной фазе – критически необходимое событие для экспрессии генов в период «окна имплантации» (Аганезов С.С. и соавт., 2017). Обосновано утверждение, что рецепторный профиль эндометрия достигается при сбалансированной экспрессии Th1-провоспалительных [в железистом и стромальном компартментах соответственно: GM-CSF – 220(200;240) и 220(200;240); TNF- α – 245(220;260) и 230(220;240); BCA1 – 157,5(155;170) в железистом; CXCL16 – 230(200;250) и 220(210;240)] и T-регуляторных (Treg) клеток [IL-10 – 220(200;240) и 215(200;220), NRF2 – 267,5(260;275) и 265(255;270), TGF- β 1 – 2(2;3)].

Умеренный провоспалительный Th1-иммунный ответ необходим для децидуальной модификации эндометрия и имплантации бластоцисты (Tersigni С. et al., 2020). Преобладание в выборке адекватного уровня витамина D [43(36;52,5, нг/мл)] обеспечивает оптимальную для децидуализации и имплантации иммунную реакцию при умеренной экспрессии в эндометрии VDR [в железистом компартменте – 6,0(5,2-6,3), в стромальном – 5,2(4,6-5,6)].

Другими авторами лишь отчасти раскрыто влияние содержания витамина D на передачу сигнальных каскадов с целью поддержания эффекторных противовоспалительных функций клона Treg (Cuprian F. et al., 2019) и секреторной трансформации эндометрия. Вероятно, интерфейс «витамин D-VDR» участвует в реализации не только эффекторных функций Treg-противовоспалительного клона (White J.H. et al., 2022), но и антипролиферативного влияния, наибольшего в сравнении с ранней секреторной фазой, что подтверждает обратная корреляционная связь между реализацией сигнала PR и экспрессией VDR ($r=-0,53$, $p<0,05$).

Преобладание лактобациллярного типа микробиоты эндометрия (100,0%) следует рассматривать с позиций участия в ограничении воспалительного «иммунного ответа» и активации механизма иммунологической толерантности (Vitale S.G. et al., 2021; Gao X. et al., 2024). Выявленные особенности позволяют предполагать, что микробный гомеостаз в эндометрии формирует не только устойчивость к колонизации условно-патогенной флорой, но и способность генов к адекватной экспрессии рецепторов к половым гормонам в период «окна имплантации» (Power M.L. et al., 2017; Baker J.M. et al., 2018).

Обнаруженные корреляционные связи между экспрессией маркеров в железистом компартменте эндометрия подтверждают реализацию пролиферативного потенциала GM-CSF при умеренной экспрессии защитного цитокина IL-10 (связь прямая умеренная, $r=0,5$) и в обратном отношении с активностью хемокина CXCL16 (связь умеренная, $r=-0,47$). Выявлена обратная связь между реализацией эффекта PR и экспрессией VDR ($r=-0,53$) как подтверждение необходимого для секреторных преобразований эндометрия прогестероноподобного влияния рецептора 25(OH)D (Ярмолинская М.И. и соавт., 2021) и прямая – между NRF2 и ER ($r=0,49$), указывающая на антиоксидантную активность эстрогенового сигнала (Qian X. et al., 2021).

Анализ корреляционных связей в строме эндометрия показал, 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 в период «окна имплантации» (70,0%) не противоречил тенденции их превалирования у здоровых фертильных женщин (71,4%) (Мелкозерова О.А., 2017). Выявленные особенности фенотипа эндометрия подтверждают его имплантационную компетентность (ER/PR=2,1) при адекватных кофакторах рецептивности, сбалансированном составе и функциональной активности субпопуляций лейкоцитов. 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.

Фенотип нарушенного иммунного статуса эндометрия

Формирование выборки женщин основано на результатах ИГХ исследования, показавшего дисрегуляцию иммунных маркеров в период «окна имплантации». Клинические факторы риска фенотипа – первичное бесплодие (62,5%), выявляемое в два раза чаще, чем в остальных группах (30,6%) ($p<0,05$), рецидивы БВ (43,8%) – в четыре раза, чем с пролиферативным ($p=0,003$; $\chi^2=8,9$) и вариантом нормы (10,8%) ($p=0,007$; $\chi^2=7,5$).

Особенности фенотипа указывали на преимущественное отсутствие визуальных изменений эндометрия в 81,2% – при сонографии, 75,0% – гистероскопии и во всех образцах при патоморфологическом исследовании (100,0%). Различия заключений в 18,8% и 25,0% соответственно связывали с «неравномерной толщиной» эндометрия. Несоответствие морфологической зрелости эндометрия молекулярной (нерецептивный профиль при констатации средней стадии фазы секреции) у 21,9% всех женщин указывает на критичность исследования маркеров, особенно в протоколах ЭКО для синхронизации с эмбрионом. Параметры нерецептивного эндометрия при фенотипе (81,8%) обусловлены незначительно повышенной в отличие от группы сравнения экспрессией в эпителиоцитах маточных желез ER [132,5(120;140)] ($p=0,01$), умеренной – PR [220(210;260)] (в 1,4 раза) ($p<0,001$).

Иммунный профиль фенотипа демонстрирует более низкую, чем в группе сравнения экспрессию в железистом компартменте эндометрия маркеров [GM-CSF ($p<0,001$), BCA1 ($p=0,01$), CXCL16 ($p<0,001$) – в 1,4 раза, TNF- α ($p<0,001$) – в 1,3 раза, IL-10 – в 1,2 раза ($p<0,001$)] и строме [GM-CSF ($p<0,001$), TNF- α ($p<0,001$), CXCL16 ($p<0,001$) – в 1,3 раза, IL-10 ($p<0,001$) – в 1,2 раза]. Некоторое усиление экспрессии антиоксидантного фактора NRF2 в эпителиоцитах маточных желез ($p<0,001$) считаем компенсаторным с целью энергообеспечения иммунных реакций. Обосновано утверждение о причастности данного иммунного паттерна к нарушению передачи сигнала рецепторам стероидных гормонов. Дисбаланс иммунных каскадов эндометрия и отсутствие умеренного провоспалительного Th1-сдвига обуславливает невосприимчивость рецепторного аппарата к факторам регуляции процесса децидуализации. Эти предположения согласуются с данными, что нарушение количества и соотношения иммунокомпетентных клеток с развитием селективного дефицита вторичных мессенджеров и нижестоящих сигнальных путей препятствует адаптивным изменениям эндометрия при адекватной концентрации прогестерона (Altmae S. et al., 2017).

Иммуномодулирующие эффекты витамина D позволяют рассуждать о взаимосвязи его недостатка в сыворотке крови женщин в период «окна имплантации» (75,0%) с дисбалансом пулов клеток Th1/Th2 и срывом локальных эффектов В-звена иммунитета и натуральных киллеров (NK). Повышение экспрессии VDR [в железистом компартменте – 7,4 (6,5-8,4) ($p<0,001$), строме – 7,1 (6,2-8,2) ($p<0,001$)] в отличие от группы сравнения при диффузном типе распределения ($p<0,001$, $\chi^2=21,0$) может соответствовать нарушению активности иммунокомпетентных клеток при структурной целостности эндометрия.

Полученные данные позволяют прийти к заключению, что несостоятельность специфического иммунного ответа детерминирована нарушением эффектов комплекса «VDR-локальный 1,25-дигидроксивитамин», ответственного за регуляцию экспрессии генов в период «окна имплантации». Возрастание экспрессии HOXA11 при фенотипе [7,9(6,6;9,2)] в отличие от группы сравнения ($p < 0,001$) следует рассматривать как причину изменения экспрессии генов и метилирования ДНК, аналогично мнению других авторов (Nazarenko T.A. et al., 2019). Достоверных межгрупповых различий в экспрессии HOXA10 у женщин с повторными неудачами ЭКО и в группе сравнения не выявлено. Преобладание созревающих пиноподий практически в два раза (71,9%) в сравнении с пролиферативным и секреторным фенотипом (32,1%) ($p = 0,02$, $\chi^2 = 5,7$) представляется особенностью архитектоники «незрелого» эндометрия ($p = 0,002$, $\chi^2 = 9,9$). Выявленные корреляционные связи подтверждают дисбаланс в период «окна имплантации» молекулярной картины, реализованный в нарушении адаптивного иммунного воспаления и дефектной децидуализации на фоне резистентности PR и неспособности противодействовать индуцированной эстрадиолом пролиферации. Опосредованность нарушений рецептивности эндометрия иммунными реакциями подтверждает положительная корреляция экспрессии в железистом компартменте маркеров VDR и PR ($r = 0,45$, $p < 0,05$), в строме – NRF2 и HOXA11 ($r = 0,43$, $p < 0,05$). Обратная умеренная взаимосвязь между CXCL16 и PR ($r = -0,44$, $p < 0,05$) указывает на нарушение реализации прогестеронового эффекта в отсутствие адекватной экспрессии хемокинов, заметная – между NRF2 и VDR ($r = -0,53$, $p < 0,05$) – на подавление антиоксидантной активности с повышением пролиферативного потенциала ткани.

Отличием фенотипа выступало преобладание лактобациллярного типа микробиоты эндометрия (81,2%) – в полтора раза, чем при диспластическом ($p = 0,015$, $\chi^2 = 5,9$), практически в два раза – с хроническим воспалением ($p < 0,001$, $\chi^2 = 12,7$), которое указывает на высокий функциональный резерв ткани с позиций адаптивного иммунного ответа. Выявленные закономерности обосновывают роль типа микробиоты в формировании «фертильной» микросреды, что отличается от банальной констатации связи нелактобациллярного пула с неудачами имплантации (Moreno I. et al., 2016).

Полагаем возможным утверждать, 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 обеспечении локального метаболизма. Выявление при лактобациллярном типе микробиоты как рецептивного (31,2%), так и нерцептивного профиля эндометрия (50,0%) может объясняться концентрацией лигандов рецепторов и выступать причиной смещения «окна имплантации», что доказывает клиническую ценность персонализированной оценки молекулярных сигнатур рецептивного статуса. Отсутствие в период «окна имплантации» адекватной воспалительной реакции, 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». Резюмируя вышесказанное, патогенез фенотипа обусловлен снижением экспрессии иммунных маркеров и нерцептивным 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.

Диспластический фенотип эндометрия

Патоморфологическую основу фенотипа составляли очаговый фиброз стромы (78,7%) и ХЭ (21,3%). Базис нерцептивного профиля эндометрия (91,5%) представлен гипопластически-

диспластическим типом с асинхронностью созревания и нарушением распределения маточных желез, очагами уплотнения стромы у 66,7% женщин, что втрое реже, чем при фенотипе хронического воспаления (20,0%) ($p < 0,001$, $\chi^2 = 23,7$).

Среди сонографических стигм диспластической несостоятельности эндометрия преобладало истончение (100,0%), аналогично данным о взаимосвязи толщины < 7 мм в день овуляции с низкой частотой наступления беременности (ЧНБ) (Nishihara S. et al., 2020), фиброз стромы (55,3%), внутриматочные синехии (8,5%). Визуальные признаки диспластического типа диагностировали изолированно [истончение, бледность (80,9%), синехии (19,1%)] и в виде рубцово-измененных зон на фоне хронического воспаления (локусы гиперемии) (16,7%). Явления структурной дезорганизации и неполноценной регенерации эндометрия вероятны в исходе неоднократных внутриматочных вмешательств (80,9%). Выраженный фиброз и фибропластическую трансформацию стромы при диспластическом типе ХЭ (16,7%) полагаем результатом отсутствия лечебно-восстановительного курса после репродуктивных потерь (Радзинский В.Е. и соавт., 2017).

Структурно-метаболическую неполноценность эндометрия подтверждало преобладание нерцептивного профиля (91,5%) с подавлением экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов, вероятно, на фоне гиперпродукции проапоптических белков и дисрегуляции межклеточных взаимодействий. Наблюдениям соответствует снижение экспрессии VDR, регулирующего транскрипцию генов в иммунных клетках эндометрия [в железистом компартменте – 4,2(3,8-4,7), строме – 4,0 (3,5-4,4)], в отличие от группы сравнения ($p < 0,001$), что при очаговом типе распределения (95,7%) выступает кофактором нарушений иммуномодулирующего воздействия.

Недостаток 25(OH)D у 72,3% женщин, аналогично данным авторов в выборке с бесплодием и невынашиванием беременности (Abdullah U.H. et al., 2017), полагаем значимым фактором нарушения эффектов комплекса «VDR-25(OH)D», опосредующего в эндометрии процессы клеточного роста, воспаления и иммунного ответа.

Обосновано утверждение, что нарушение имплантационного потенциала эндометрия обусловлено подавлением экспрессии рецепторов ER/PR, утратой клеточного кворума с нарушением синхронизации ответов на сигнальные каскады других клеток, дезорганизацией микроокружения (продукции цитокинов, высвобождения и хемоаттракции иммунных факторов).

Выраженное снижение экспрессии маркеров в отличие от группы сравнения отмечено в железистом компартменте [GM-CSF – в 3,7 раза ($p < 0,001$), TNF- α – в два раза ($p < 0,001$), IL-10 – в 1,8 раза ($p < 0,001$), CXCL16 – в два раза ($p < 0,001$), BCA1 – в 2,6 раза ($p < 0,001$), NRF2 – в 1,1 раза] и строме эндометрия [GM-CSF – в 2,7 раза ($p < 0,001$), TNF- α – в 4,6 раза ($p < 0,001$), IL-10 – практически в три раза ($p < 0,001$), CXCL16 – в 3,3 раза, NRF2 – в 1,2 раза при повышенном показателе TGF- β 1(3 балла)]. Нарушение развития иммунотолерантной среды подтверждает положительная корреляционная связь между сниженной экспрессией в железистом компартменте эндометрия TNF- α и GM-CSF ($r = 0,53$, $p < 0,05$), в строме этот эффект ($r = 0,54$, $p < 0,05$) реализуется через подавление пролиферативного потенциала клеток. Представление о диспластическом эндометрии как субстрате в исходе срыва иммунных каскадов и локального метаболизма подтверждают обратные достоверные ($p < 0,05$) корреляционные связи в строме: между TNF- α и VDR ($r = -0,41$), ER и TGF- β 1 ($r = -0,49$).

Выявлена взаимосвязь гиперэкспрессии TGF- β 1 с многократными внутриматочными вмешательствами, при которой (Ni N., 2017; Wu L. et al., 2020) нарушение гормонально-иммунного взаимодействия опосредуется через каскад аутоиммунных реакций, подавление активности В-клеток и индукцию процесса апоптоза. Избыточную экспрессию TGF- β 1 с активацией сигнального пути ядерного фактора «каппа би» (NF- κ B), TGF- β 1/Smad3/smad7 полагают причиной образования внутриматочных синехий (Salma U. et al., 2016). Угнетение экспрессии NRF2 указывает на нарушение защитных механизмов и регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза, снижение активности антиоксидантных ферментов. Превалирование реакций катаболизма обусловлено хроническим «стрессом» – механической травмой или воспалительным процессом, изменяющими экспрессию генов, кодирующих

продукцию цитокинов, факторов фагоцитоза, пролиферации, активных форм кислорода (АФК) и эффекторные функции иммунных клеток (O'Neill L.A.J., 2016). Обозначенные нарушения иммунного метаболизма как причины неудач имплантации в других источниках представлены фрагментарно (Chen P. et al., 2022).

Достоверным отличием фенотипа было преобладание пиноподий с диссоциированным развитием – практически в четыре раза, чем при пролиферативном и фенотипе нарушенного иммунного статуса (55,9% против 14,6%, $p < 0,05$). Особенности ультраструктурного микроокружения эндометрия – преобладание «спокойного» эпителия (61,8%) со слабой секреторной активностью (23,5%), гетероморфными секреторными клетками (58,8%) и гипоплазией реснитчатых клеток (52,9%), сохранностью межклеточных контактов (61,8%), в норме разрушенных к периоду «окна имплантации», отчасти представлены в образцах «тонкого» эндометрия женщин с бесплодием и нарушением имплантации (Львова А.В., 2018). Бактериальная контаминация пиноподий (14,7%) выявлена в образцах эндометрия с нелактобациллярным типом микробиоты [дисбиотическим (5,9%) и смешанным профилем (8,8%)].

Сохранность в отдельных образцах эндометрия лактобациллярного пула микробиоты (52,9%), зрелых пиноподий (20,6%) связываем с биологической целостностью ткани и способностью к регенерации. Выявление нерцептивного профиля в присутствии лакто- (41,2%) и нелактобациллярного типа микробиоты (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 (Wang N. et al., 2022) о реализации эффектов лактобактерий через метаболизм, иммунитет, экспрессию генов и эпигенетику. Наиболее асинхронное молекулярно-клеточное профилирование эндометрия отмечено при нелактобациллярном типе микробиоты.

Дефицит синтеза и дифференцировки иммунных факторов Th1/Th2 пулов, избыточное профибротическое влияние TGF- β 1, низкая экспрессия ER/PR и оксидативный стресс определяют дефектные механизмы децидуализации стромы и секреторного потенциала маточных желез, экспрессии генов контроля процессов пролиферации, адгезии и клеточного метаболизма. Снижение резерва эндометрия обусловлено фибротической трансформацией стромы (100,0%), диссоциативным развитием пиноподий (55,9%), нелактобациллярным типом микробиоты (47,1%).

Пролиферативный фенотип эндометрия

Морфологическую основу пролиферативного фенотипа эндометрия составляли ПЭ (62,5%) и очаговая ГЭ (37,5%). Частота выявления сонографических маркеров (ПЭ – 30,0%, ГЭ – 22,5%) уступала результатам визуализации при гистероскопии (ПЭ – 30,0%, ГЭ – 37,5%). Среди факторов риска формирования данного фенотипа обращают внимание рецидивы ПЭ, ГЭ (62,5%), отмечаемые в научных источниках как причина неудач ЭКО (Гришкина А.А., 2021). Преобладание у женщин с данным фенотипом доброкачественных заболеваний молочных желез – в 4,6 раза чаще, чем с секреторным, диспластическим и нарушенным иммунным статусом (9,7%) ($p < 0,05$) соответствует концепции единства патогенеза гиперпластических процессов в органах репродуктивной системы (Радзинский В.Е. и соавт., 2017).

Возрастание пролиферативного потенциала эндометрия было выявлено на фоне вызывающих повреждение защитных барьеров факторов: доброкачественных заболеваний шейки матки [62,5% против 10,4% в остальных группах, кроме фенотипа воспаления ($p < 0,05$)], вмешательств по поводу лейкоплакии/CIN I, II (60,0%) – практически в два раза, чем с воспалением (30,0%) ($p = 0,02$, $\chi^2 = 6,2$) и цитопатического воздействия ВПЧ ВР при репликации в

клетках эпителия зоны трансформации (60,0% против 11,5% в остальных группах, кроме фенотипа воспаления) (Kim Y.S. et al., 2017). Особенности микробиоты генитального тракта, отмеченные в ходе исследования, позволяют утверждать о последствиях бактериально-вирусной инфекции (дистрофические изменения эпителия шейки матки, нарушение межклеточных контактов, воспалительная инфильтрация стромы) как индукторов усиления экспрессии макрофагов и НК, цитокинов, подавления реакций врожденного и приобретенного иммунитета (Lacroix G. et al., 2020).

Нарушения микробиоты влагалища при данном фенотипе достоверно чаще, в отличие от нормоценоза выявляли при большей частоте в анамнезе ВПЧ ВР (100,0% против 46,7%, $p=0,02$, $\chi^2=6,4$) и ИППП (70,0% против 23,3%, $p=0,02$, $\chi^2=7,2$), что согласуется с мнением об ассоциации БВ с персистенцией в эндоцервиксе ДНК-содержащих вирусов (Jakobsen R.R. et al., 2020).

Отличием цервикального микробиома оказалось наличие ВПЧ ВР у 40% женщин (в сочетании с условно-патогенной флорой – 15,0%); миксты ИППП с условно-патогенными штаммами составили 30,0%. Причиной нарушения эпигенетической регуляции процессов пролиферации и апоптоза у женщин с ПНБ неясного генеза полагают снижение экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) гена PR-A и противоонкогенных miR-145 и miR-34a в эндоцервиксе (Дамирова К.Ф., 2022). Эти факты применимы при моделировании фенотипа: повреждение рецепторного аппарата эндоцервикса при вирусной персистенции приводит к каскаду молекулярно-клеточных «поломок» и нарушению передачи внутри- и межклеточных сигналов в эндометрии. Выявленные механизмы позволяют сформулировать концепцию иммунорегуляторного повреждения экспрессии ключевых молекул контроля процесса имплантации и формирования нерцептивного эндометрия (87,5%). 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 (16,7%) ($p=0,002$, $\chi^2=10,6$), многократно – в остальных группах ($p<0,05$). Пролиферативную направленность молекулярно-клеточных реакций эндометрия доказывает повышенная экспрессия Ki-67 (6,0-19,0%), ER в железистом компартменте ($p<0,001$) (в 1,8 раза) и строме ($p<0,001$) (в 1,2 раза) на фоне гипоэкспрессии PR [в 1,1 раза ($p<0,001$) и 2,3 раза ($p<0,001$) соответственно], индекс ER/PR снижен (0,8) в отличие от остальных групп.

Потенциальным механизмом развития ГЭ и ПЭ на фоне ХЭ (33,3%) можно считать повреждение эпителия, нарушение регуляции клеточного деления с экспрессией генов, определяющих избыточный пролиферативный потенциал, угнетение апоптоза при инфильтрации эндометрия популяциями пула Th1-клеток. Аналогичное мнение об изменении иммунного ответа при ГЭ и ПЭ с развитием при воспалении в 67,7% дисбаланса процессов пролиферации и апоптоза представлено другими исследователями (Kosei N., 2017). Воспалительную основу пролиферативных процессов (ГЭ – 20,0%, ПЭ – 13,3%) в отличие от прилежащего неизмененного эндометрия доказывает повышенная экспрессия CD138+ и Ki-67. Отличием фенотипа оказалось ультраструктурное многообразие степени зрелости пиноподий [(зрелые (39,5%), созревающие (34,2%), регрессивные (26,3%)] наряду с наименьшей частотой в сравнении с остальными группами зон с диссоциированным развитием (10,5%).

Молекулярный профиль при фенотипе отличался повышенной экспрессией в железистом компартменте воспалительных цитокинов: GM-CSF – в 1,2 раза ($p<0,001$), умеренной – TNF- α ($p<0,001$), низкой – IL-10 – в 1,3 раза ($p<0,001$). В строме эндометрия достоверные отличия от группы сравнения были выявлены только в отношении GM-CSF – в 1,2 раза ($p<0,001$), IL-10 – в 1,6 раза ($p<0,001$); индекс TNF- α /IL-10=1,6. Избыточная экспрессия TNF- α соответствует модели нарушения регуляции апоптоза на фоне гипериммунного ответа, что подтверждает достоверная ($p<0,05$) взаимосвязь экспрессии в эпителиоцитах маточных желез цитокинов разнонаправленного действия: положительная – TNF- α и IL-10 ($r=0,47$), отрицательная – хемокина CXCL16 с IL-10 ($r=-0,44$). Определена гиперэкспрессия в железистом компоненте фрагментов удаленного ПЭ – GM-CSF, TNF- α в отличие от неизмененного эндометрия. Эти результаты согласуются с данными о различном иммунном статусе патоморфологически

неоднородных тканей, с наибольшими значениями маркеров ангиогенеза CD34+, CD105+ и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A) при ПЭ (Иванов И.А., 2020).

Влияние дефектного метаболизма 25(OH)D на нарушение реализации антипролиферативного эффекта в эндометрии соответствует данным о связи его неадекватного уровня с риском прогрессирования и рецидивами тазовой боли у женщин с НГЭ (Барсегян Л.К. и соавт., 2018). Отличием рецепторного профиля при фенотипе было преобладание очагового типа распределения VDR (70,0%) – в три раза, чем при диспластическом ($p=0,002$, $\chi^2=9,9$) и ХЭ (24,9%) ($p<0,001$, $\chi^2=17,1$); у женщин с лактобациллярным типом микробиоты – в четыре раза чаще, чем при хроническом воспалении (42,1% против 10,0%, $p=0,006$, $\chi^2=8,6$). Возрастание экспрессии VDR приводило к достоверным эффектам ($p<0,05$): подавлению антиоксидантного потенциала NRF2 ($r=-0,53$) и передачи сигнала PR ($r=-0,47$), что согласуется с данными о способности 25(OH) D к регуляции реакций клеточного цикла и апоптоза через активацию генов, кодирующих антиоксидантные ферменты (Pawlowska E., 2016). Влияние состава и активности иммунокомпетентных клеток на рецептивность эндометрия подтверждает достоверная ($p<0,05$) обратная умеренная связь между экспрессией в строме PR, нарушение эффектов которого отмечали при низкой экспрессии IL-10 ($r=-0,46$), гиперэкспрессии ER ($r=-0,44$); положительная умеренная связь – между CXCL16 и NRF2 ($r=0,49$).

Нарушения микробиома матки, выявляемые при данном фенотипе реже, чем с хроническим воспалением (нелактобациллярный профиль – 31,6%, смешанный – 26,3%), соответствуют данным о снижении при ГЭ титра лактобактерий при увеличении микробной нагрузки Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria, Bacteroides, E. coli и Bacteroides fragilis (Cai L., 2021). Полученные результаты позволяют предполагать участие в генезе ГЭ взаимодействия микробиоты с иммунными провоспалительными маркерами Th1-типа (GM-CSF, TNF- α), индукторами нарушения локального стероидогенеза, в соответствии с мнением других авторов – через повышение активности фермента β -глюкуронидазы (Kubyshkin A.V., 2016). Обосновано утверждение, что триггером пролиферативных изменений выступает длительное присутствие в эндометрии продуктов тканевой деструкции, активирующих факторы врожденного иммунного ответа. Вероятно, в развитие пролиферативных изменений у 40,0% женщин с воспалением определенную лепту вносит геномная нестабильность эпителия эндометрия, зависящая от факторов транскрипции микробиоты и/или эпигенетических факторов. Роль локального оксидативного стресса в генезе воспаления с пролиферативным потенциалом подтверждает угнетение экспрессии NRF2 ($p=0,02$) при избыточной – GM-CSF ($p<0,001$) и CXCL16 ($p<0,001$).

Представление о негативном влиянии на гомеостаз клеток эндометрия дисбиотического типа микробиоты с развитием прооксидантной среды базируется на данных об изменении модуляции рецептивности и механизмов, связывающих эубиоз, с благоприятной имплантацией эмбриона (Chen W. et al., 2021). При исследовании наличия и особенностей микробиоты методом ПЦР-РВ целенаправленное исследование виroma эндометрия не проводили, присутствие в образцах ткани ВПЧ ВР, ВПГ2, ЦМВ было единичным, однако персистенция ВПЧ ВР в эндоцервиксе 40,0% женщин может указывать на гиперметилирование генов контроля клеточного цикла, ассоциация которого с вирусным инфицированием эндометрия доказана. Обоснованием данной концепции выступают данные исследователей: гиперэкспрессия в эндометрии онкобелка p16ink4a Г.Х. Толибовой (2018) представляется значимой в генезе пролиферативных и гиперпластических заболеваний; снижение прогестерон-позитивных клеток при вирусном инфицировании (ВПЧ ВР, вирус Эпштейн-Барра, ВПГ2) отмечено Р.И. Шариповой (2021). Эти наблюдения доказывают, что изменение рецепторного статуса при гиперметилировании гена NOXA11, индуцированном преимущественно вирусной инфекцией, является причиной неэффективного лечения ХЭ.

Фенотип хронического воспаления

Выявлены клинические факторы риска фенотипа: хронические воспалительные заболевания органов матки и придатков (53,3%), цервикальный фактор [доброкачественные заболевания шейки матки (70,0%), хронический цервицит (46,7%), эктропион шейки матки более трех лет в анамнезе (43,3%) вкуче с персистенцией ВПЧ ВР]. Развитие тканевого «дистресса» полагаем следствием недиагностированного ХЭ, доказанной причины НБ (46,7%) (Радзинский В.Е. и соавт., 2017; Vitagliano A. et al., 2018; McQueen D.V. et al., 2022) и механической травмы при опорожнении матки после репродуктивных потерь (60,0%). Преобладание в выборке болезней пищеварительной системы (60,0%) позволяет представить воздействие продуктов бактериального метаболизма на целостность эпителиального барьера органов малого таза и регуляцию врожденного иммунного ответа. Аналогично мнение о взаимодействии этих экосистем, изменении метаболического гомеостаза организма, вероятности выкидыша при попадании в кровоток иммунных триггеров при повышенной проницаемости кишечника (Tersigni C. et al., 2019; Amabebe E. et al., 2020).

Обосновано утверждение, что негативное влияние на иммунный статус женщин с данным фенотипом оказывают нарушения микроэкологии нижних отделов репродуктивного тракта [рецидивирующие вагиниты (80,0%), рецидивы БВ с контаминацией эндоцервикса (60,0%)], бактериально-вирусная нагрузка эндоцервикса (условно-патогенные инфекции в диагностически значимых титрах – 80,0%, ВПЧ ВР – 46,7%). Эти данные согласуются с фактами констатации риска неудач имплантации при снижении титра *Lactobacillus* spp. и повышении вагиноз-ассоциированных штаммов *Atorobium*, *Megasphaera*, *Gardnerella* и *Prevotella* (Elovitz M.A. et al., 2019; Kitaya K., Yasuo T., 2023). Нарушения микробного гомеостаза влагалища при фенотипе воспаления (39,0%) втрое чаще, чем при нормоценозе сочетались с персистенцией ВПЧ ВР (75,0% против 27,8%) ($p=0,02$, $\chi^2=6,4$), вмешательствами на шейке матки – в пять раз (58,3% против 11,1%) ($p=0,01$, $\chi^2=7,6$). Наличие ВПЧ ВР у 46,7% женщин с фенотипом воспаления, 60,0% с пролиферативным показывает реализацию патофизиологического континуума: вагинальный дисбиоз – персистенция ВПЧ ВР – повреждение цервикального эпителия – модуляция иммунной активности с участием молекулярных медиаторов и эффекторов в эндометрии. Мнение о формировании «порочного круга», создающего благоприятную для жизненного цикла вируса среду, разделяют также другие исследователи (Klein C. et al., 2019).

Несоответствие патоморфологических характеристик эндометрия фазе МЦ при фенотипе воспаления (66,7%) согласуется с данными о фазовой задержке при неблагоприятных исходах ЭКО (José B., Carlos S., 2018). Особенности нерецептивного профиля эндометрия заключались в некоторой гипоекспрессии ER в железистом компартменте [115(100;130)] ($p=0,02$) и строме [125(110;135)] ($p=0,006$), выраженном снижении экспрессии PR в строме [137,5(130;145)] (в два раза, $p<0,001$) в связи с фибропластической трансформацией. Мозаичность архитектоники эндометрия убеждает в одновременном течении гистопатических фаз хронического воспаления (альтерация, экссудация и репарация).

Основу патогенеза фенотипа составляют нарушения молекулярных взаимодействий иммунокомпетентных клеток, аномальное рекрутирование и инфильтрация эндометрия клетками Th1-типа: избыточная экспрессия в эпителиоцитах желез провоспалительных цитокинов в сравнении с противовоспалительными [повышение TNF- α ($p<0,001$), GM-CSF ($p<0,001$), CXCL16 ($p<0,001$) – в 1,1 раза, BCA1 ($p<0,001$) – в 1,7 раза, снижение IL-10 ($p<0,001$) – в 2 раза, при соотношении TNF- α /IL-10 = 2,5 (норма – 1,1)]. В строме эндометрия экспрессия GM-CSF ($p<0,001$), TNF- α ($p<0,001$), CXCL16 ($p<0,001$) оказалась значимо выше – в 1,2 раза, чем в группе сравнения, IL-10 – в 1,8 раз ниже ($p<0,001$), TGF- β 1 ($p=0,01$) – была наименьшей. Аномальное иммунное микроокружение при фенотипе обусловлено индукцией GM-CSF избыточной воспалительной реакции за счет нарушения передачи сигналов TNF- α (Katz S. et al., 2018).

Гиперэкспрессия TNF- α повышает биосинтез эстрогенов в эпителиоцитах желез эндометрия, что может быть связано с микрополипозом, маркером хронического воспаления (Salamonsen L.A. et al., 2016). Избыточное иммунное воспаление, обусловленное нарушением

аутоиммунитета (дефицит IL-10, TGF- β 1) и оксидативным стрессом, реализованным на фоне снижения опосредованной NRF2 антиоксидантной защиты в Treg-клетках, указывает на повреждение ткани, высвобождение медиаторов воспаления и нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза (Song P. et al., 2023). Экспрессия NRF2 отражает активность воспаления, при умеренном возрастании ассоциирована с подавлением АФК, генерация которых эндо- и экзотоксинами бактерий связана со стимуляцией функции макрофагов.

Фенотипическую пластичность субпопуляций иммунорегуляторных молекул при хроническом воспалении подтверждает снижение соотношения CD4⁺/CD8⁺ клеток, соответственно, дисбаланс иммунных реакций Th1/Th2. Аналогичные наблюдения приведены Михалевой Л.М. и соавт. (2019). Неблагоприятное влияние на секреторный потенциал желез и имплантацию эмбриона воспалительной микросреды эндометрия (Kitaya K. et al., 2018) объясняет причину повторных неудач ЭКО в группе с ТПБ, как и после удаления гидросальпинкса в отсутствие восстановительного курса. Влияние хемоаттрактантов на развитие избыточной пролиферации доказывает синергичность экспрессии VDR и CXCL16 ($r=0,5$, $p<0,05$). При фенотипе воспаления эндометрия корреляция экспрессии в эпителиоцитах желез ER и PR ($r=0,6$, $p<0,05$) подтверждает роль полноценной пролиферативной фазы МЦ для последующих секреторных преобразований.

Преобладание в сыворотке крови недостатка 25(OH)D у 86,7% женщин с фенотипом выступает основанием полагать, что блокирование иммунорегуляторных эффектов витамина приводит к усилению реакций Th1-типа, хемокин-опосредованной миграции эффекторных CD4⁺T-клеток, нарушению функции Treg-клеток (TGF- β 1 и IL-10). Аналогичный иммунный дисбаланс, выявленный при неадекватном содержании 25(OH)D другими исследователями (Ikemoto Y. et al., 2018), позволяет утверждать о срыве механизмов иммунной толерантности и противоинфекционной защиты. Диффузный тип распределения VDR в строме эндометрия женщин с хроническим воспалением (73,3%) ($p<0,05$) и нелактобациллярным типом микробиоты (46,7%) – в пять раз чаще, чем в остальных группах (8,8%) ($p<0,05$) предполагает наличие морфологической целостности ткани. Данные отражают способность эндометрия к aberrантной экспрессии генов, кодирующих локальные пути метаболизма витамина D. Полагаем, нарушение эффектов интерфейса «VDR-25(OH)D» заключается в изменении активности транскрипционных факторов дендритных и T-клеток с преобладанием Th1-ответа и подавления активности Treg-клеток (L. Bishop E. et al., 2020). Экспрессия HOXA11 [5,7(4,6;7,0)] при фенотипе достоверно не отличалась от группы сравнения [5,2(4,5;5,9)], аналогично оценке метилирования гена у женщин с ТПБ и неудачными попытками ЭКО (Князева Е.А. и соавт., 2020).

При СЭМ образцов эндометрия отмечены зоны «спокойного» эпителия (53,3%), сохраненных межклеточных контактов (36,7%) между гетероморфными секреторными клетками (30,0%), атипичных клеток с «редкими» ресничками при высокой плотности распределения (23,3%). На поверхности созревающих и зрелых пиноподий в 16,7% образцов выявлены структуры, морфологически идентичные бактериальным клеткам. Вариабельность морфотипа пиноподий [зрелые (13,3%), созревающие (50,0%), регрессивные (36,7%), зоны с диссоциированным развитием (30,0%)] связывали с неоднородной архитектурой воспаленного эндометрия. Эти предположения согласуются с наблюдениями смещения при дисхронозе созревания пиноподий «окна имплантации» и нарушения передачи сигналов, обеспечивающих межмолекулярные взаимодействия эндометрия и бластоцисты (Aunaru M. et al., 2018).

Преобладание нелактобациллярного типа микробиоты эндометрия (63,3%) при фенотипе воспаления отмечали в два раза чаще, чем с пролиферативным (31,6%) ($p=0,01$, $\chi^2=6,8$), в 3,4 раза – с нарушенным иммунным статусом (18,8%) ($p<0,001$, $\chi^2=12,7$), причем при дисбиотическом профиле (только условно-патогенные представители) наибольшую частоту нарушений децидуализации и «нерецептивного» статуса – в четыре раза, чем с нарушенным иммунным статусом (63,3% против 12,5%) ($p<0,001$, $\chi^2=16,0$). Гетерогенность состава микробиоты матки при фенотипе воспаления (лакто- и нелактобациллярный) объясняет неоднородность данных о репродуктивных исходах при ХЭ – от бесплодия, ПНИ, выкидышей до успешного родоразрешения (Garcia-Grau I. et al., 2019; Bhattacharya K. et al., 2023; Muraoka A. et al., 2023).

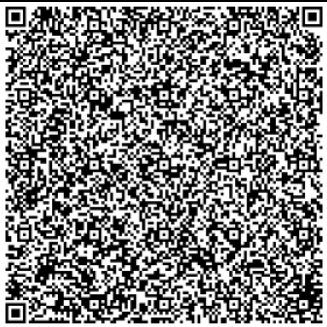
Этот факт доказывает участие в регуляции сложных механизмов имплантации не только микробиоты, но и иммунной системы эндометрия, изменения которой не всегда синергичны рецептивному профилю. Ключевыми звеньями патогенеза полипоидного эндометрия выступает возрастание пролиферативного потенциала (гиперэкспрессия ER, VDR, HOXA11, Ki-67 и сниженная – PR) на фоне развития хронического оксидативного стресса:

- при ПЭ (62,5%) – гиперэкспрессия GM-CSF ($p < 0,001$) и TNF- α ($p < 0,001$) в железистом компартменте; при ПЭ (13,3%) на фоне хронического воспаления – гиперэкспрессия в железистом компартменте GM-CSF ($p < 0,001$) и CXCL16 ($p < 0,001$), угнетение экспрессии NRF2 в строме ($p < 0,001$); при микрополипах на фоне ХЭ (50,0%) – гиперэкспрессия GM-CSF в железистом компартменте ($p < 0,001$), TNF- α в строме эндометрия ($p < 0,001$), хемокинов CXCL13 и CXCL16 в обоих компартментах ($p < 0,001$); угнетение экспрессии NRF2 в строме ($p < 0,001$).

Потенциальные механизмы повторных неудач ЭКО, обусловленные нарушением гомеостаза, молекулярного профиля и локального иммунного статуса представлены в виде паспорта (Таблица 1) и вариантов фенотипов эндометрия (Рисунки 13-16).

Массив результатов обследования [анамнез, патоморфологическое и ИГХ (ER, PR, VDR), ПЦР-РВ исследования биоптатов эндометрия, оценка содержания 25(OH)D в сыворотке крови] позволил выделить информативные для прогнозирования вариантов нарушений локального иммунного статуса признаки и разработать ряд математических моделей.

Определение персонифицированного риска снижения эндометриального резерва возможно с помощью разработанной Модели А по формуле:

$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где } z = -3,913 + X_{СЭ} * 2,01 + X_{ЛБТ} * 2,083 + X_{РП} * 1,285 + VDR * 1,547 + HOXA11 * 1,924,$ <p>где перечисленные факторы: $X_{СЭ}$ – секреторный эндометрий (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{РП}$ – ER/PR рецептивный профиль (0 – отсутствие, 1 – наличие), $VDR_{\text{железы}}$ – рецептор 25(OH)D [0 – отсутствие ($>5,6$), 1 – наличие (5,6)], 25(OH)D (0 – отсутствие, до 30 нг/мл, 1 – наличие, >30), $X_{ЛБТ}$ – лактобациллярный тип микробиоты (0 – отсутствие, 1 – наличие), HOXA11 – ген гомеобокса [0 – отсутствие ($>5,2$), 1 – наличие (5,2)].</p>	
---	--

При значении функции $P < 0,5$ возможно достоверно прогнозировать снижение эндометриального резерва в период «окна имплантации» ($p < 0,05$), при $P > 0,5$ имеет место его сохранность. Данные ROC-анализа подтверждают прогностическую значимость модели (AUC выбранных предикторов – 0,68-0,8, чувствительность – 90,2%, специфичность – 77,4%, диагностическая эффективность – 84,2%). Модель является статистически значимой ($p < 0,05$).

Расчет персонифицированного риска нарушений локального иммунного статуса осуществляется по сумме клинико-анамнестических факторов (Модели 1-4) и уже сформированных фенотипов эндометрия – на основании оценки экспрессии иммунных маркеров в период «окна имплантации» (Модели I-IV).

Модель 1 персонифицированного риска нарушений иммунного статуса эндометрия:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где } z = -1,473 + 2,394 * X_{РБВ} + 1,976 * X_{ЛТМ},$$

где $X_{РБВ}$ – рецидивы бактериального вагиноза (0 – отсутствие, 1 – наличие),

$X_{ЛТМ}$ – лактобациллярный тип микробиоты эндометрия (0 – отсутствие, 1 – наличие)

– при значении $P > 0,5$ позволяет прогнозировать наличие иммунной дисрегуляции эндометрия с высокой чувствительностью (77,3%), специфичностью (96,7%) и диагностической эффективностью (88,5%). Модель признана статистически значимой ($p < 0,05$).

Таблица 1 – Структурно-функциональный «паспорт» фенотипов эндометрия

Фенотипы	Морфологический профиль		ER железы stroma	PR железы stroma	VDR железы stroma	HOXA11	Иммунный профиль (ИГХ маркеры)
Пролиферативный	Полипы и гиперплазия эндометрия	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	Отсутствие патологических изменений эндометрия	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



Рисунок 13 – Патогенез молекулярно-адаптационных нарушений в период «окна имплантации» при пролиферативном фенотипе

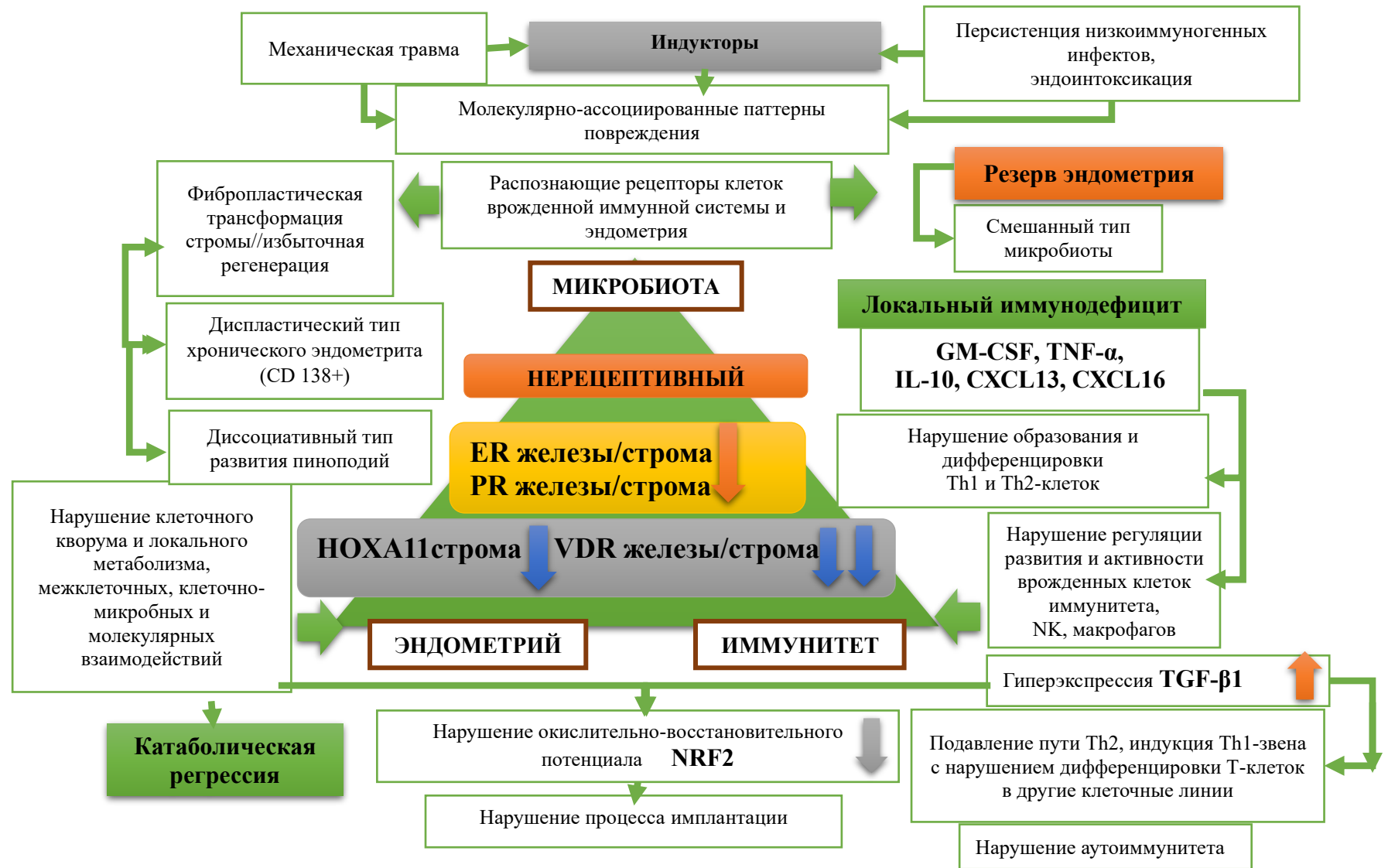


Рисунок 14 – Патогенез молекулярно-адаптационных нарушений в период «окна имплантации» при диспластическом фенотипе

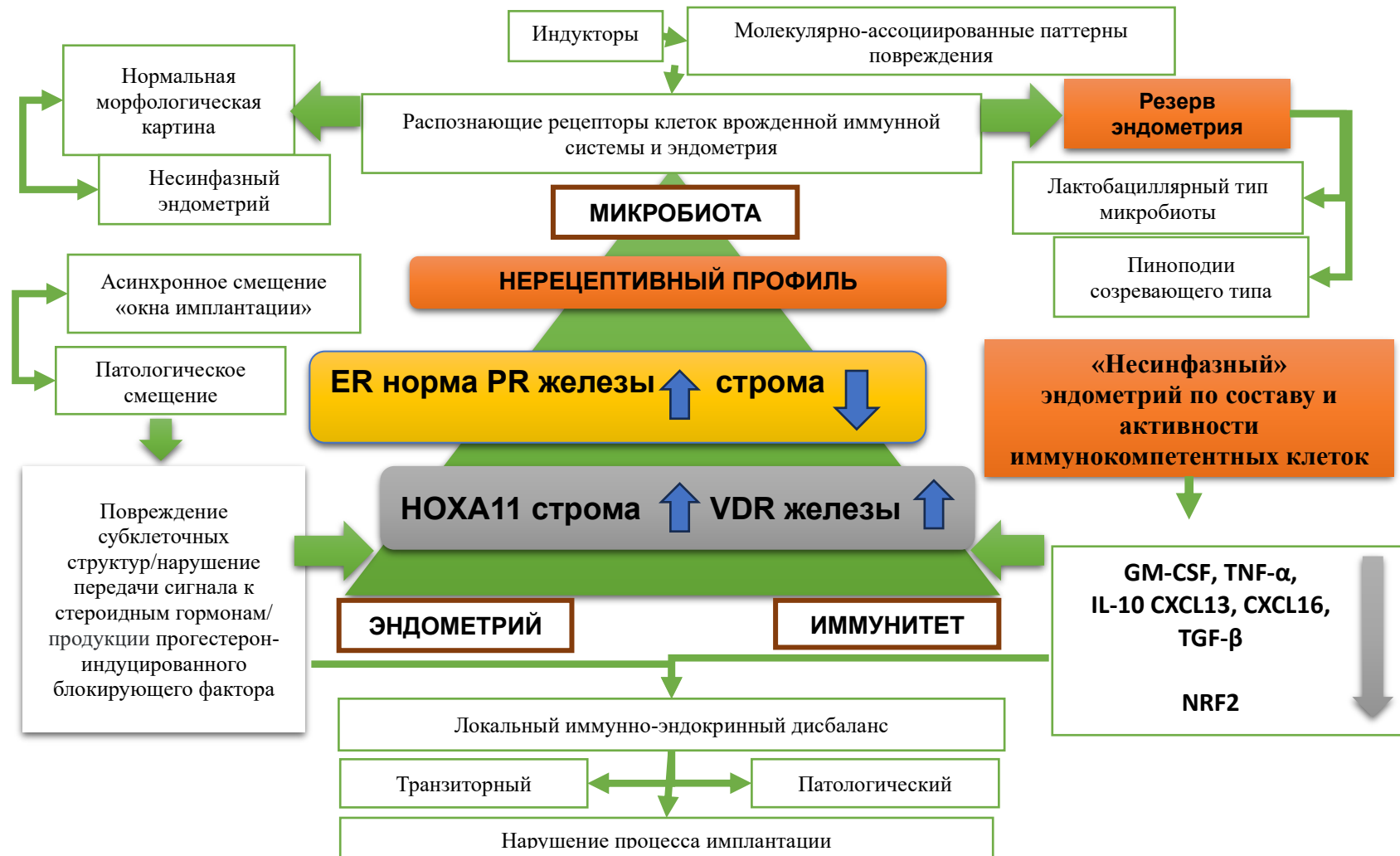


Рисунок 15 – Патогенез молекулярно-адаптационных нарушений в период «окна имплантации» при фенотипе нарушенного иммунного статуса

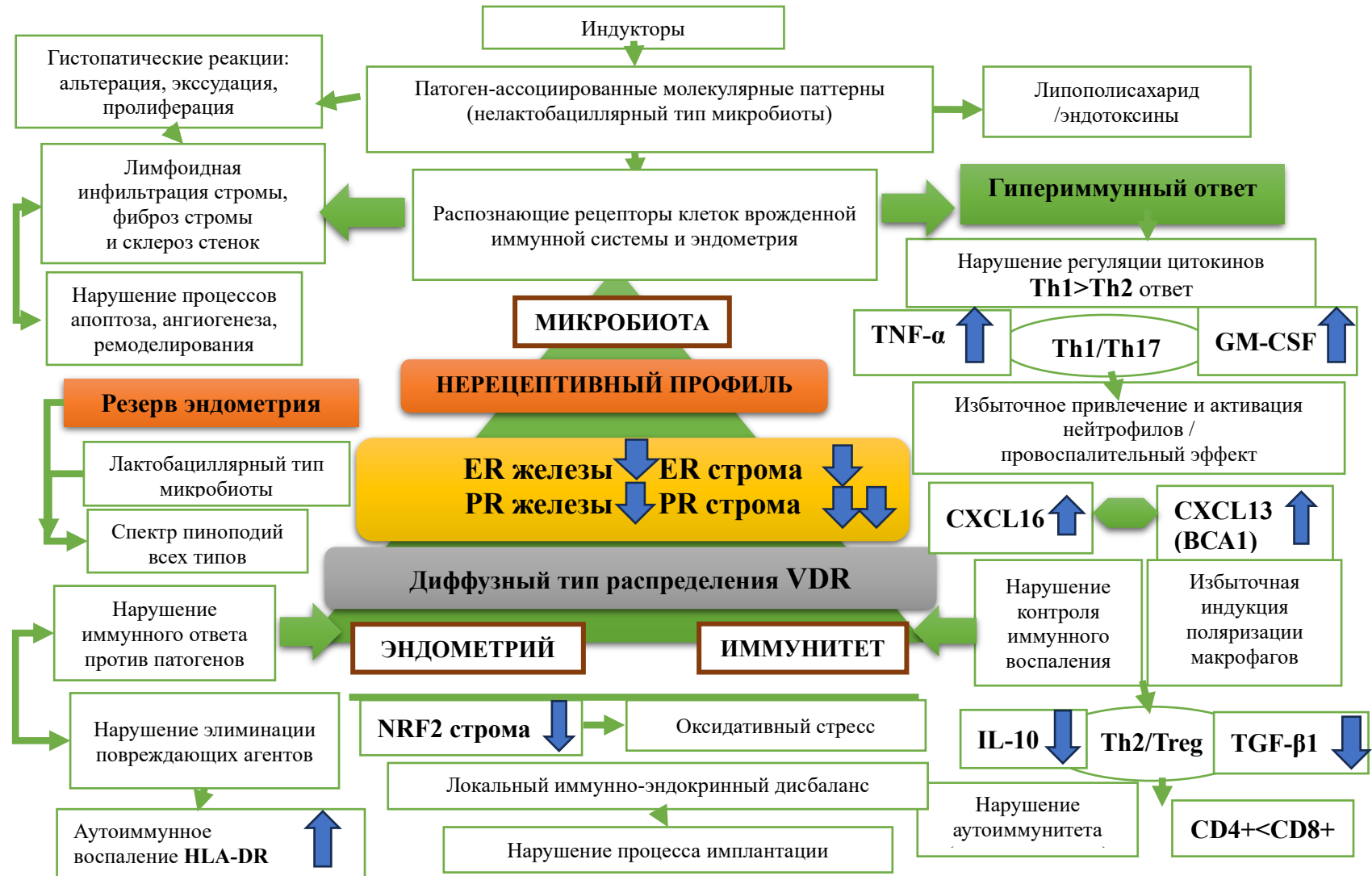


Рисунок 16 – Патогенез молекулярно-адаптационных нарушений в период «окна имплантации» при хроническом воспалении

Риск сформированного фенотипа нарушенного иммунного статуса (Модель I) прогнозируется на основании оценки экспрессии GM-CSF железы, TNF- α железы/стромы, CXCL16 железы (целые числа, баллы) по формуле:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где } z = 3,57 + \text{GM-CSF железы} * (-0,006) + \text{TNF-}\alpha \text{ железы} * (-0,003) + \text{TNF-}\alpha \text{ стромы} * (-0,004) + \text{CXCL16 железы} * (-0,003),$$

– при значении $P > 0,71$

[чувствительность и специфичность значимой модели ($p < 0,05$) – 100,0%].

Модель 2 персонифицированного риска низкоиммунного ответа эндометрия, рассчитываемая по формуле:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где } z = -4,145 + 2,969 * X_{25(\text{OH})\text{D}} + 4,8 * X_{\text{НР}} + 2,241 * X_{\text{ВМВ}},$$

где $X_{25(\text{OH})\text{D}}$ – недостаток 25(OH)D в сыворотке крови (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{\text{НР}}$ – нерцептивный профиль (ER/PR в строме < 2) (0 – отсутствие, 1 – наличие), $X_{\text{ВМВ}}$ – неоднократные внутриматочные вмешательства (0 – отсутствие, 1 – наличие)

– при значении $P > 0,1$ позволяет с высокой чувствительностью (86,4%), специфичностью (93,8%) и диагностической эффективностью (75,9%) прогнозировать данный вариант микросреды. Модель признана статистически значимой ($p < 0,05$).

Риск сформированного диспластического фенотипа (Модель II) прогнозируется на основании оценки экспрессии TGF- $\beta 1$ (целые числа, баллы) по формуле:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где } z = -0,67 + \text{TGF-}\beta 1 * 0,53,$$

при значении $P > 0,72$ (чувствительность – 86,4%, специфичность – 95,7%, диагностическая эффективность модели – 92,8%). Модель признана статистически значимой ($p < 0,05$).

Модель 3 персонифицированного риска гиперактивного иммунного ответа эндометрия, рассчитываемая по формуле:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где } z = -2,582 + 1,8 * X_{\text{ВПЧ ВР}} + 2,754 * X_{\text{оVDR}} + 2,188 * X_{\text{ЛШМ}} + 2,157 * X_{\text{ПЭ/ГЭ}},$$

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)

– при значении $P > 0,5$ позволяет достоверно ($p < 0,05$), с высокой чувствительностью (86,4%), специфичностью (92,5%) и диагностической эффективностью (90,3%) прогнозировать данный вариант микросреды эндометрия.

Риск сформированного пролиферативного фенотипа (Модель III) прогнозируется на основании оценки экспрессии маркеров GM-CSF железы, TNF- α железы (целые числа, баллы) по формуле:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где } z = -3,95 + \text{GM-CSF железы} * (0,01) + \text{TNF-}\alpha \text{ железы} * (0,006),$$

и подтверждается при значении $P > 0,55$ (чувствительность модели – 81,8%, специфичность – 95,0%, диагностическая эффективность – 90,3%). Модель является статистически значимой ($p < 0,05$).

Модель 4 персонифицированного риска избыточного иммунного воспаления эндометрия, рассчитываемая 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 $P > 0,5$ позволяет с высокой достоверностью ($p < 0,05$, чувствительность модели – 77,3%, специфичность – 96,7%, точность – 88,5%) прогнозировать данный вариант микросреды.

Риск сформированного фенотипа хронического воспаления (Модель IV) прогнозируется на основании оценки экспрессии маркеров GM-CSF железы, TNF- α строма, VCA1, CXCL16 железы, строма (целые числа, баллы) по формуле:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где } z = -3,05 + \text{GM-CSF железы} * 0,005 + \text{TNF-}\alpha \text{ строма} * 0,002 + \text{VCA1} * 0,005 + \text{CXCL16 железы} * 0,002 + \text{CXCL16 строма} * 0,001$$

при значении $P > 0,73$ ($p < 0,05$, чувствительность и специфичность – 100,0%).

Полученные данные 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 17) модифицировать алгоритм ранней диагностики (Рисунок 18) и предложить дифференцированный выбор лечебной стратегии (Таблица 2).

Основой стратегии ведения женщин с фенотипами эндометрия является дополнение рутинного блока исследований оценкой состоятельности тригона «ткань-микробиота-иммунное микроокружение». Верификация молекулярного статуса эндометрия (рецептивный и иммунный профиль) и оценка адаптационного потенциала (содержание 25(OH)D, биотопов генитального тракта, наличия оксидативного стресса) определяла персонификацию лечебной тактики. Выявление заболеваний эндометрия сопровождалось аспирационным удалением слизистой при ГЭ, полипэктомией, разделением внутриматочных синехий.

Приведены данные исследования состоятельности эндометрия [сонография, гистероскопия, микробиологический контроль в выборках с нарушением биоценоза отделов генитального тракта, патоморфологическое и ИГХ исследование (ER и PR)] после традиционной и персонифицированной терапии.

Эффективность последней при фенотипах эндометрия доказывают различия в восстановлении его параметров: диспластическом – морфологическая норма составила 53,2%, рецептивный профиль – 34,0%; пролиферативном – соответственно 90,0% и 80,0% [в 6,4 раза выше исходного показателя (12,5%, $p < 0,001$)]; нарушенном иммунном статусе – соответственно 93,7% и 81,2% [практически в четыре раза выше (18,8%, $p = 0,005$)].

При фенотипе хронического воспаления морфологическая норма определена в 70,0%, рецептивный профиль – 63,3%; контаминация эндометрия сократилась в 2,4 раза (с 63,3% до 26,7%, $p = 0,009$); в сравнении с показателем до лечения – в 1,7 раза (с 39,6% до 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%, $p < 0,001$). Данные о биологических опциях восстановления резерва эндометрия, частоте и предполагаемых причинах повторных неудач ЭКО, ЧНБ приведены в серии Рисунков 19-22.

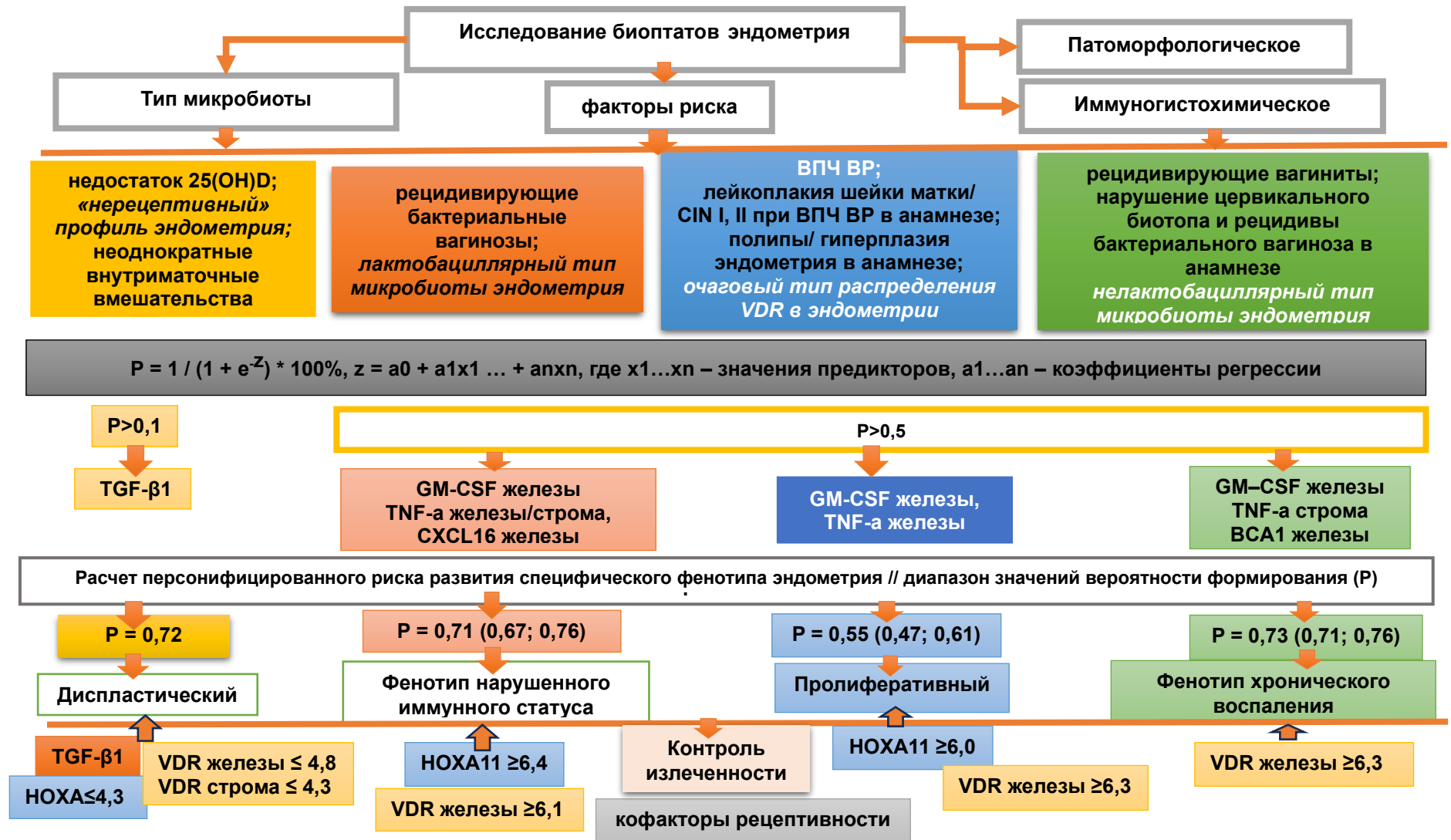


Рисунок 17 – Пошаговое прогнозирование нарушений локального иммунного статуса и формирования специфических молекулярно-адаптационных фенотипов

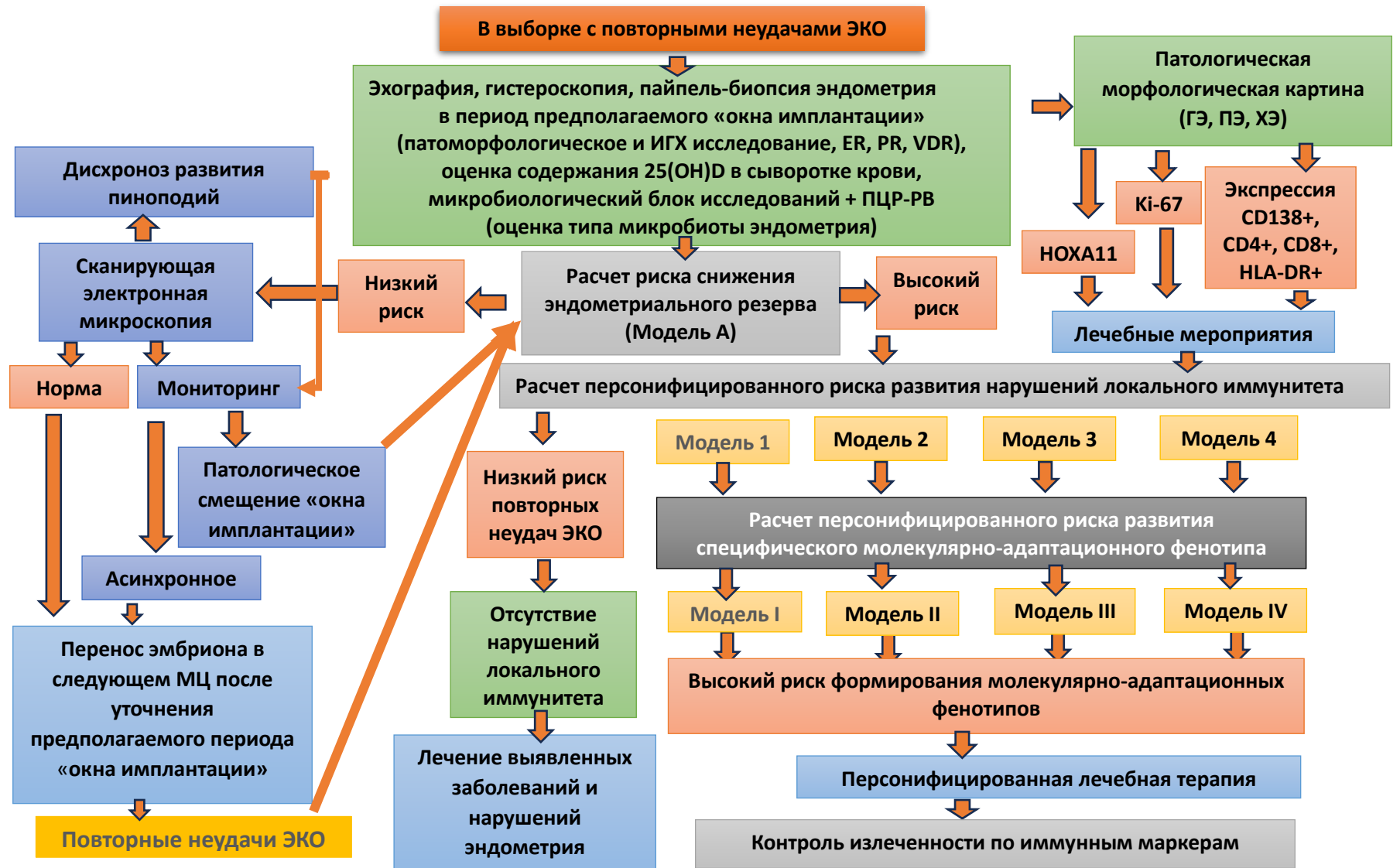
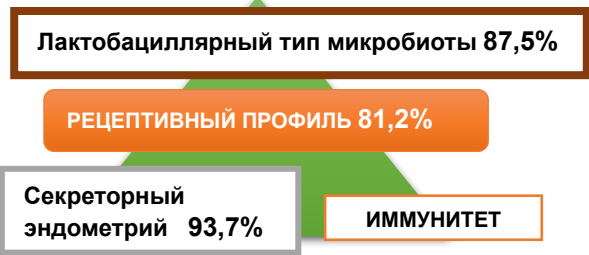
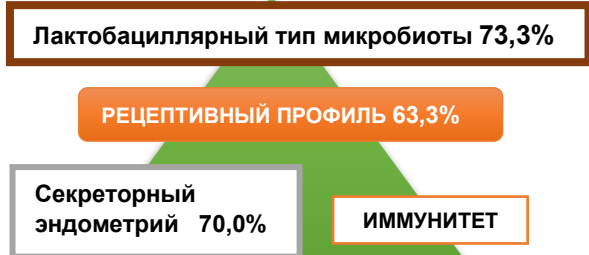
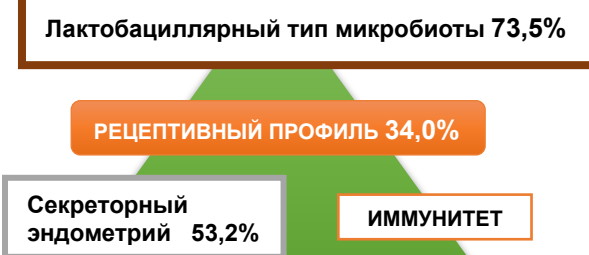
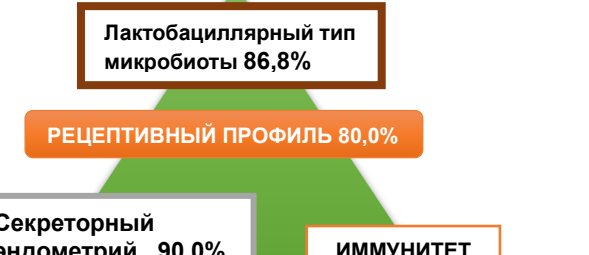


Рисунок 18 – Алгоритм ранней диагностики нарушений функции и заболеваний эндометрия и дифференцированного выбора тактики ведения женщин с повторными неудачами ЭКО

Таблица 2 – Схема подбора персонафицированной 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 патогенах, 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(OH)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.
		17 β -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, микронизированный прогестерон 200 мг на ночь вагинально) с 14го по 25 день МЦ			
3. ЛОКАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ. Восстановление иммунного статуса			
		Бовгиалуронидаза азоксимер, свечи и лиофилизат 3 000 МЕ № 10-20	
	Топическая цитокиноterapia (Суперлимф 25 ЕД 20 дней вагинально)		Топическая цитокиноterapia (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)

 <p>Рисунок 19 – Резерв эндометрия при фенотипе нарушенного иммунного статуса</p>	<p>Отсутствие эффекта от лечения (n=6, 18,8%) предпологаемо обусловлено аутоиммунными процессами (показания к обследованию на генетические формы тромбофилии и антифосфолипидный синдром, аутоиммунные заболевания щитовидной железы).</p> <p>ЧНБ составила 46,9%.</p>
 <p>Рисунок 20 – Резерв эндометрия при фенотипе хронического воспаления</p>	<p>Отсутствие эффекта от лечения (n=11, 36,7%) выявлено у женщин с неполной патоморфологической картиной ХЭ (n=5) (диспластический тип хронического воспаления), контаминацией всех биотопов генитального тракта (n=3), дисбиотическим типом микробиоты матки (n=2).</p> <p>ЧНБ – 30,0%.</p>
 <p>Рисунок 21 – Резерв эндометрия при диспластическом фенотипе</p>	<p>Отсутствие эффекта от лечения (n=31, 66,0%) отмечено у женщин с неоднократными неэффективными попытками ЭКО (три и более) (n=13).</p> <p>ЧНБ – 23,5%.</p>
 <p>Рисунок 22 – Резерв эндометрия при пролиферативном фенотипе</p>	<p>Отсутствие эффекта от лечения (n=8, 20,0%) у женщин с вирусной инфекцией эндоцервикса (ВПЧ ВР/ВПГ2) полагаем показанием к исследованию вирома эндометрия.</p> <p>ЧНБ – 34,2%.</p> <p>Показатель ЧНБ в выборке с фенотипами составил 35,4%, при фенотипе «нормы» (в группе женщин с ТПБ) – 60,0%.</p>

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 персонифицированной 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 цервикско-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

неблагополучной 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: aberrантный 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: aberrантного (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- α 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), HOXA11 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- α и гипоэкспрессию 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-anamnestических 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 HOXA11; CD138+, CD4+, CD8+; HLA-DR+; VDR) и оценкой типа микробиоты с выводами о качестве эндометриального резерва (Модель А). При его снижении рекомендуется расчет

персонализированного 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 1, 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 персонализированного 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:**

1. 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 HOXA11; ХЭ – базового комплекса маркеров CD138+, CD4+, CD8+; лимфофоликулярном ХЭ – HLA-DR+;
- типа микробиоты эндометрия методом ПЦР-РВ («Фемофлор-16»);

2. Всем пациенткам следует рекомендовать оценку адаптационных ресурсов организма (кольпоскопия, микробиологический блок исследований биотопов генитального тракта, биохимический скрининг на 25(OH)D).

3. Стратификация женщин по группам риска снижения эндометриального резерва в отсутствие явных заболеваний эндометрия осуществляется после комплексного обследования с помощью предложенной прогностической Модели А.

4. При высоком риске снижения эндометриального резерва рекомендуется расчет персонализированного риска нарушений локального иммунитета с выбором типа Модели (1-4) в зависимости от данных анамнеза и результатов комплексного исследования эндометрия.

5. При низком риске – период предполагаемого «окна имплантации» следует уточнить с учетом сроков овуляции по мочевым тестам (ЛГ7+), оценки зрелости пиноподий 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 персонализированного риска нарушений локального иммунитета.

6. При низком риске иммунных нарушений следует осуществлять лечение выявленных заболеваний эндометрия с контролем излеченности и оценкой рецептивности.

7. При высоком риске иммунных нарушений эндометрия целесообразно прогнозирование сформированного специфического молекулярно-адаптационного фенотипа на основании персонализированной оценки экспрессии маркеров (Модели I-IV).

8. Выделение фенотипов эндометрия следует рассматривать как возможность реализации персонализированной 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Возможности таргетной терапии хронического эндометрита с учетом патоморфотипа / Ю.А. Петров, В.Е. Радзинский, Е.А. Калинина [и соавт.] // Медицинский вестник Юга России. – 2015. – №4. – С. 71-75. **(перечень РУДН)**
2. Радзинский В.Е. Хронический эндометрит: современные аспекты / В.Е. Радзинский, Ю.А. Петров, М.Л. Полина // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – Т.24. – №5. – С.69-74. **(перечень РУДН)**
3. Патогенетические особенности макротипов хронического эндометрита / В.Е. Радзинский, Ю.А. Петров, Е.А. Калинина [и соавт.] // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Т.98. – №1. – С. 27-34. **(перечень РУДН)**
4. Гасанова Б.М. Рациональные методы диагностики типов хронического эндометрита после прерывания беременности у женщин с хроническим пиелонефритом и анемией / Б.М. Гасанова, М.Л. Полина, Н.И. Дуглас // Якутский медицинский журнал. – 2019. – №1. – С. 42-45. **(Web of Science)**
5. Возможности повышения эффективности лечения хронического эндометрита у женщин с экстрагенитальными заболеваниями / Б.М. Гасанова, М.Л. Полина, Н.И. Дуглас // Якутский медицинский журнал. – 2020. – №.1(69). – С.105-108. **(Web of Science)**
6. Программы вспомогательных репродуктивных технологий: клинические исходы и влияние витамина D / Е.Е. Воропаева, Е.Г. Чухнина, Э.А. Казачкова [и соавт.] // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2020. – Т.8. – № 3. – С. 29-38. **(перечень РУДН)**
7. Эффективность оценки экспрессии генов гомеобокса в прогнозировании исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий / Е.Г. Чухнина, Е.Е. Воропаева, Е.Л. Казачков [и соавт.] // Якутский медицинский журнал. – 2021. – №3(75). – С.33-37. **(Web of Science)**
8. Особенности микробиома эндометрия бесплодных женщин и его влияние на ремоделирование в фазу «имплантационного окна» / М.Л. Полина, И.И. Витязева, П.Н. Захарова, Н.И. Дуглас // Якутский медицинский журнал. – 2022. – №4 (80). – С. 23-28. **(Web of Science)**
9. Чухнина Е.Г. Роль абберрантной экспрессии генов НОХА в генезе гинекологических заболеваний / М.Л. Полина, Н.И. Дуглас // Якутский медицинский журнал. – 2022. – №2. – С. 108-113. **(перечень РУДН) (Web of Science)**
10. Микросреда имплантации при хроническом эндометрите / М.Л. Полина, И.И. Витязева, И.М. Ордынец [и соавт.] // Пермский медицинский журнал. – 2023. – Т. 40. – № 3. – С. 10–19. **(перечень РУДН)**
11. Взаимосвязь типа микробиоты и иммунных ресурсов эндометрия бесплодных женщин в фазу имплантационного окна / М.Л. Полина, Л.М. Михалева, И.И. Витязева [и соавт.] // Якутский медицинский журнал. – 2023. – №2 (82). – С. 8-13. **(Web of Science)**

12. Молекулярные сигнатуры эндометрия, ассоциированные с «маточным фактором» бесплодия / М.Л. Полина, В.Е. Радзинский, Л.М. Михалева [и соавт.] // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2023. – Т. 11. – № 3. – С. 63-73. **(перечень РУДН)**
13. Иммунологические аспекты нарушений имплантации при маточной форме бесплодия / М.Л. Полина, В.Е. Радзинский, Л.М. Михалева [и соавт.] // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2023. – Т. 11. Спецвыпуск. – С. 6-17. **(перечень РУДН)**
14. Радзинский В.Е. Эффективность импульсной электротерапии в комплексном лечении больных хроническим эндометритом / В.Е. Радзинский, Ю.А. Петров, М.Л. Полина // Казанский медицинский журнал. – 2012. – № 1. – С. 72–76. **(перечень РУДН)**
15. Фенотипический профиль эндометрия женщин с «маточным фактором» бесплодия / М.Л. Полина, В.Е. Радзинский, Л.М. Михалева, С.А. Михалев // Тез. XVII Общеросс. семинара Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии и XII Общеросс. конференции «FLORES VITAE. Контраверсии в неонатальной медицине и педиатрии». – М.: Редакция журнала StatusPraesens. – 2023. – С. 48.
16. Рецептивный статус эндометрия при различных молекулярных фенотипах женщин с «маточным фактором» бесплодия / М.Л. Полина, В.Е. Радзинский, Л.М. Михалева, С.А. Михалев // Тез. XVII Общеросс. семинара Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» и XII Общеросс. конференции «FLORES VITAE. Контраверсии в неонатальной медицине и педиатрии» (8–11 сентября 2023 года, г. Сочи). – М.: Редакция журнала StatusPraesens. – 2023. — С.49.
17. Молекулярные сигнатуры эндометрия как предикторы неудач имплантации / М.Л. Полина, И.И. Витязева, Л.М. Михалева, С.А. Михалев // «Мать и Дитя»: Матер. XXIV Всеросс. научно-образовательного форума. – М., 2023. – С.109-110.
18. Иммунные детерминанты неудач имплантации при хроническом эндометрите / М.Л. Полина, И.И. Витязева, Л.М. Михалева, С.А. Михалев // «Мать и Дитя»: Матер. XXIV Всероссийского научно-образовательного форума. – М., 2023. – С. 143-144.
19. Микробиота эндометрия и неудачи имплантации / М.Л. Полина, И.И. Витязева, Л.М. Михалева, С.А. Михалев // «Мать и Дитя»: Матер. XXIV Всеросс. научно-образовательного форума. – М., 2023. – С.144.
20. Особенности иммунной микросреды эндометрия бесплодных женщин в период «имплантационного окна» / М.Л. Полина, И.И. Витязева, Л.А. Шеленина // Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы: тез. XXIX Всеросс. Конгресса. – М.: «МЕДИ Экспо». – 2023. – С. 124-125.
21. Влияние микробиома эндометрия бесплодных женщин на морфологические паттерны / М.Л. Полина, И.И. Витязева, Л.А. Шеленина // Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы: тез. XXIX Всеросс. Конгресса. – М.: «МЕДИ Экспо». – 2023. – С.126-127.
22. Diagnostic significance of chronic endometritis macrotypes differentiation among women with reproductive losses / V.E. Radzinsky, I.N. Kostin, Yu. A. Petrov [et al.] // Gynecol Endocrinol. – 2017. – 33(sup1). – P.36-40. **(Scopus)**
23. The Effect of Vitamin D Metabolic Status and Endometrial Immune Patterns on the Outcomes of ART Programs / E.G. Chukhnina, E.L. Kazachkov, E.E. Voropaeva [et al.] // International Journal of Biomedicine. – 2021. – V.11(2). – P.188-196. **(Web of Science)**
24. Molecular predictors of effective implantation and live birth in IVF programs / E.G. Chukhnina, E.L. Kazachkov, E.E. Voropaeva [et al.] // International Journal of Biomedicine. – 2021. – V.11(4). – P.532-537. **(Web of Science)**
25. The Immune Profile of the Endometrium in the “Uterine Factor” of Infertility / M.L. Polina, V.E. Radzinsky, L.M. Mikhaleva [et al.] // International Journal of Biomedicine. – 2023. – V.13(4). – P. 255-260. **(Scopus)**

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

Полина Мирослава Леонидовна

(РОССИЯ)

Диссертационное исследование посвящено проблеме повышения эффективности преодоления повторных неудач ЭКО, ассоциированных с патологическими изменениями эндометрия. Получены приоритетные данные, расширяющие представления о реальном вкладе дисфункции эндометрия при бесплодии неясного генеза, трубно-перитонеальном, на фоне наружного генитального эндометриоза, «тонкого» эндометрия, хронического эндометрита. Установлены основные звенья патогенеза повторных неудач ЭКО, определяемые векторной направленностью интерфейса «ткань–микробиота–локальный иммунный статус» как дисбаланс процессов апоптоза/пролиферации, хроническое воспаление, иммунная дисрегуляция. Представлены адаптационно-гомеостатические особенности эндометрия, неоднородные внутри групп с бесплодием и реализуемые в виде фенотипов (нарушенный иммунный статус, хроническое воспаление, «норма», диспластический, пролиферативный) с различным иммунным профилем в период «окна имплантации». Определена молекулярно-биологическая основа полиповидных образований эндометрия: повышение пролиферативного потенциала (гиперэкспрессия ER, Ki-67, HOXA11 и VDR) на фоне иммунного дисбаланса, избыточного при хроническом воспалении и оксидативном стрессе. Разработана и научно обоснована стратегия преодоления повторных неудач ЭКО, позволяющая на основании математического персоналифицированного моделирования и ранней диагностики нарушений микросреды матки, результативно реализовать дифференцированный выбор лечебной тактики.

**PATHOGENESIS, PROGNOSIS AND EARLY DIAGNOSIS OF ENDOMETRIAL
DISEASES ASSOCIATED WITH REPEATED IVF FAILURES**

Polina Miroslava Leonidovna

(RUSSIA)

The dissertation research is devoted to the problem of improving the effectiveness of dealing with repeated IVF failures associated with pathological changes in the endometrium. Priority data have been obtained that expand the understanding of the real contribution of endometrial dysfunction to infertility of unknown origin, tubal-peritoneal infertility, external genital endometriosis, "thin" endometrium and chronic endometritis. The main links in the pathogenesis of repeated IVF failures have been established, determined by the vector orientation of the tissue–microbiota–local immune status interface as an imbalance of apoptosis/proliferation processes, chronic inflammation, and immune dysregulation. The adaptive and homeostatic features of the endometrium, heterogeneous within groups with infertility and realized in the form of phenotypes (impaired immune status, chronic inflammation, "normal", dysplastic, proliferative) with different immune profiles during the "implantation window" are presented. The molecular biological basis of endometrial polypoid formations has been determined: an increase in proliferative potential (ER, Ki-67, HOXA11 and VDR overexpression) on the background of an immune imbalance excessive in chronic inflammation and oxidative stress. A certain strategy has been developed and scientifically proved for overcoming repeated IVF failures, allowing, on the basis of mathematical personalized modeling and early diagnostics of uterine microenvironment disorders, to implement a differentiated choice of treatment tactics most efficiently.