



УДК 618.145-036-091

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЦЕПТИВНОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ МАТКИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ

**Е.Л. КАЗАЧКОВ<sup>1</sup>**  
**З.А. КАЗАЧКОВА<sup>1</sup>**  
**Е.Е. ВОРОПАЕВА<sup>2</sup>**  
**И.Г. ХЕЛАШВИЛИ<sup>1</sup>**  
**Л.Е. МИРОШНИЧЕНКО<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Южно-Уральский  
государственный медицинский  
университет, г. Челябинск

<sup>2</sup>МБУЗ ГКБ № 8, г. Челябинск

e-mail: doctorkel@narod.ru

В статье проведена оценка рецептивности эндометрия у женщин с хроническим эндометритом на основании изучения структурных особенностей поверхностного эпителия, характера экспрессии к стероидным гормонам и лейкоemia-ингибирующему фактору в период «окна имплантации». Проанализировано морфологическое состояние эндометрия у 76 пациенток (основная группа) с хроническим эндометритом и 20 гинекологически здоровых женщин (группа сравнения). Установлено, что у пациенток с хроническим эндометритом наблюдается расстройство рецептивности эндометрия, включающее повреждение поверхностного эпителия слизистой оболочки матки, нарушение созревания пиноподий к моменту «окна имплантации», снижение экспрессии лейкоemia-ингибирующего фактора и гиперэкспрессию рецепторов к эстрогенам. Это может лежать в основе нарушения репродуктивной функции у женщин с хроническим эндометритом.

Ключевые слова: рецептивность эндометрия, хронический эндометрит.

Среди многих причин нарушения фертильности у женщин большую роль играет рецептивность эндометрия. Это комплекс структурно-функциональных характеристик слизистой оболочки матки, определяющий способность ее к имплантации [1, 2]. Это процесс сложной интеграции и многоуровневого «диалога» между эндометрием и бластоцистой в специфический период «окна имплантации» [3, 4]. Потеря эндометрием рецептивности влечет за собой срыв имплантации или развитие ее патологических вариантов. Так, неадекватная рецептивность эндометрия обуславливает около 2/3 неудачных имплантаций, в то время как «эмбриональный фактор» ответственен лишь за 1/3 [5, 6].

Продолжительность «окна имплантации» у человека составляет в среднем 4 дня: с 6 по 8-10 день после пика секреции лютеинизирующего гормона, или 20-24-й день цикла (при 28-дневном менструальном цикле) [7, 8].

Среди протеомных маркеров, связанных с рецептивностью эндометрия, выделяют различные молекулы адгезии, факторы роста, цитокины и рецепторы: семейство IL-1, LIF и LIF-R,  $\alpha V\beta 3$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  и др. Из них наиболее изученным является лейкоemia-ингибирующий фактор (LIF) – член семейства интерлейкина-6. Максимальная его экспрессия в эндометрии наблюдается на 20-й день цикла [9, 10].

«Окно имплантации» в эндометрии соответствует средняя стадия фазы секреции. Эндометрий может обладать рецептивными свойствами только в том случае, если молекулярные маркеры рецептивности выявляются точно в среднюю стадию фазы секреции менструального цикла [11-13].

Одним из ключевых ультраструктурных образований, участвующих в формировании рецептивности, являются пиноподии [14], представляющие собой «структуры адаптации эндометрия к имплантации» [2]. Это микроскопические выпячивания в апикальной части поверхностного эпителия эндометрия, образующиеся на месте микроворсинок в «окно имплантации» и выступающие в полость матки. Предполагают, что основные рецепторы для прикрепления бластоцистов располагаются на поверхности пиноподий, где также концентрированно экспрессируется LIF [10].

Эстрадиол и прогестерон регулируют большинство идентифицированных маркеров «окна имплантации» (пиноподии, LIF и др.) [11, 15]. Поскольку действие стероидных гормонов осуществляется путем связывания со специфическими ядерными рецепторами, любой дисбаланс в экспрессии стероидных рецепторов может привести к нарушению морфофункциональных свойств эндометрия, его рецептивности. Поэтому определение уровня эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в среднюю стадию фазы секреции позволяет дополнить морфологическое исследование эндометрия, оценить его рецептивность. В норме показатель соотношения PR/ER в строме колеблется от 2 до 4 [16].

В настоящее время активно обсуждается роль различных патологических процессов, способных повлиять на рецептивность эндометрия. Среди них следует особо выделить хрониче-



ский эндометрит, приводящий к стойкому нарушению менструальной и генеративной функций [17]. При этом влияние хронического эндометрита на рецептивность эндометрия изучено недостаточно. В этой ситуации своевременное квалифицированное морфологическое исследование слизистой оболочки матки может иметь решающее значение для выяснения механизмов нарушения рецептивности эндометрия и восстановления возможных нарушений репродуктивного здоровья [18, 19].

**Целью** исследования явилась оценка рецептивности эндометрия у женщин с хроническим эндометритом на основании изучения характера секреторных преобразований, количества зрелых пиноподий в поверхностном эпителии, уровня экспрессии рецепторов к стероидным гормонам и лейкоингибирующего фактора (LIF) в период «окна имплантации».

**Материал и методы.** Осуществлен анализ морфологического состояния эндометрия у 76 пациенток, страдающих хроническим эндометритом (основная группа), и 20 гинекологически здоровых женщин (группа сравнения), обратившихся по вопросам планирования семьи.

Критерий исключения: прием гормональных препаратов в течение последних двух месяцев перед исследованием.

Все женщины дали информированное согласие на участие в исследовании и открытую публикацию его результатов.

Обследование пациенток проводили по единой схеме, включающей анализ жалоб, анамнеза, общепринятые клинические и лабораторные, а также специальные методы исследования. Последние включали комплекс методов диагностики генитальной инфекции (ПЦР, микроскопия, культуральный метод), морфологические методы исследования эндометрия, полученного путем пайпель-биопсии на 7-8-й день после овуляции (20-21-й день менструального цикла). Все пациентки находились в репродуктивном возрасте, имели овуляторный менструальный цикл, нормальный уровень гормонов гипоталамо-гипофизарной системы, стероидных гормонов яичников, гормонов надпочечников, щитовидной железы в сыворотке крови.

Эндометрий подвергали комплексному морфологическому и морфометрическому исследованию. Гистологическое изучение парафиновых срезов эндометрия проводили при окраске материала гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону и метиловым зеленым-пиронином по Браше. При этом обращали внимание на степень активности хронического эндометрита [20].

В биоптатах эндометрия, окрашенных гематоксилином и эозином, при увеличении светового микроскопа х600 подсчитывали процент покровных эпителиоцитов, имеющих пиноподии в 10 полях зрения.

Тканевые образцы для иммуногистохимического исследования готовили по общепринятой методике. Используемые моноклональные антитела были предназначены для работы с парафиновыми срезами по общепринятым протоколам (Novocastroprotocols). Для визуализации антигенреактивных клеток использовали тест-систему «NovostainUniversalDetectionKit» («Novocastra», UK). Использование каждого вида антител сопровождалось постановкой реакций положительного контроля на тех же самых срезах согласно оригинальным инструкциям по их использованию.

Для суждения о состоянии стероидной рецепции эндометрия определяли процент клеток поверхностного эпителия, желез и стромы, экспрессирующих ER $\alpha$  и PR (ER $\alpha$  – clone 6F11, r.t.u.; PR – clone 1A6, r.t.u.; «Novocastra», UK) с помощью метода гистологического счета HISTOScore с вычислением прогестерон-эстрогенового индекса (PR/ER $\alpha$ ). Для этого использовали формулу: HS=1a+2b+3c, где a – % слабо окрашенных клеток, b – % умеренно окрашенных клеток, c – % выражено окрашенных клеток. 1, 2, 3 – степень выраженности экспрессии, выраженная в баллах. Степень выраженности экспрессии ER $\alpha$  и PR оценивали в баллах следующим образом: 0-10 баллов – отсутствие экспрессии, 11-100 – слабая экспрессия, 101-200 – умеренная экспрессия, 201-300 – выраженная экспрессия.

Исследование уровня экспрессии LIF проводили, используя поликлональные кроличьи антитела системы «EpitomicsInc.» (USA). Результаты иммуногистохимических реакций для LIF анализировали с помощью полуколичественного метода, подсчитывая баллы по следующей методике: отсутствие иммуноокрашенных клеток (-) – 0 баллов, менее 5% иммуноокрашенных клеток ( $\pm$ ) – 0,5 балла, менее 20% иммуноокрашенных клеток (+) – 2 балла, от 20 до 40% иммуноокрашенных клеток (++) – 4 балла, более 40% иммуноокрашенных клеток (+++) – 6 баллов

Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли при оптимальном увеличении на микроскопе Axioplan 2 («CarlZeissJena», Germany) с использованием цифровой фотокамеры («CarlZeissJena», Germany).

Сравнение между группами проводили непараметрическими статистическими методами с использованием критерия Манна-Уитни. Применялись методы вариационного, регрессионного анализа. Пороговую величину вероятности ошибки устанавливали традиционно на



уровне, равном 0,05. Достоверность различий величин в группах по изучаемым факторам оценивали по критериям Стьюдента (различие средних) и Фишера (различие дисперсий), критерию согласия Пирсона, с использованием точного метода Фишера и линейного дискриминантного анализа. Расчеты выполнены с помощью персонального компьютера с использованием программы «Биостатистика» и статистического пакета «Microsoft Excel-97» для операционной системы «Windows-98».

**Результаты и обсуждение.** Группы обследованных женщин были сопоставимы по характеру менструальной функции, сексуальному дебюту, количеству родов и аборт, характеру контрацептивного поведения.

Каждая третья пациентка основной группы имела те или иные гинекологические заболевания в анамнезе, преимущественно, осложненную эктопию цилиндрического эпителия шейки матки и хронический цервицит, сальпингоофорит, инфекции, передающиеся половым путем.

Морфологическое исследование биоптатов эндометрия показало, что у всех женщин основной группы имеются структурные изменения слизистой оболочки матки, характерные для хронического эндометрита. Основными структурными компонентами воспаления в слизистой оболочке матки были значительные дистрофические изменения покровных эпителиоцитов и клеток желез, различно выраженная полиморфноклеточная инфльтрация с преобладанием лимфоплазмозитарных элементов, фибробластическая перестройка стромы и сосудов эндометрия. При этом степень активности воспалительного процесса наиболее часто была низкой либо умеренной.

Наличие различных микроорганизмов в ткани эндометрия у женщин основной группы выявлено в 100% случаев. Хламидийная инфекция зарегистрирована в эндометрии у 23,7% пациенток, микоплазменная – у 50%, вирусная инфекция – у 49%, аэробные и неспорообразующие анаэробные бактерии обнаружены у 31,6% женщин. Следует отметить, что в эндометрии микроорганизмы выявлялись чаще, чем в цервикальном канале, что свидетельствует о необходимости идентификации возбудителей непосредственно в слизистой оболочке матки. Моноинфекция в эндометрии была зарегистрирована у 44,7% женщин основной группы.

В группе сравнения во всех биоптатах эндометрий соответствовал средней стадии фазы секреции менструального цикла. Число поверхностных эпителиоцитов, имеющих апикальные выпячивания цитоплазмы (пиноподии), колебалось от 65 до 80% (в среднем –  $69,3 \pm 2,1$ ). Мы, как и Е.А. Коган и соавт. [7], различали среди пиноподий созревающие, зрелые и увядающие их варианты. Созревающие пиноподии имели вид сливающихся апикальных реснитчатых цитоплазматических выростов. Зрелые пиноподии представляли собой булбовидные выпячивания апикальной части эпителиоцитов с вакуолизацией цитоплазмы и смещением в эту зону клеточного ядра. Увядшие пиноподии выглядели спавшимися, деструктурированными, напоминая структурные характеристики апокриновой секреции.

Среднее значение уровня PR в поверхностном и железистом эпителии составило  $124,8 \pm 8,3$  балла, в клетках стромы –  $212,3 \pm 14,5$  балла. Одноименные значения параметров экспрессии ER $\alpha$  оказались равными  $60,8 \pm 4,5$  и  $96,4 \pm 5,3$  балла соответственно. Соотношение PR/ER $\alpha$  во всех наблюдениях группы сравнения было больше двух: для поверхностных эпителиоцитов и клеток желез средний показатель PR/ER $\alpha$ -индекса составил  $2,1 \pm 0,1$ , для клеток стромы –  $2,2 \pm 0,1$ .

У женщин с хроническим эндометритом слизистая оболочка матки находилась преимущественно в ранней стадии фазы секреции, реже – в средней стадии. Уровень поверхностных эпителиоцитов с пиноподиями был достоверно ниже, чем в группе сравнения (средний показатель  $37,5 \pm 2,1$ ;  $p < 0,01$ ), что мы связываем с альтеративными изменениями покровных клеток различной степени выраженности, обусловленными активным хроническим эндометритом. При этом обнаружено уменьшение высоты покровного эпителия и его объемной плотности ниже контрольных значений, а также нарушение дифференцировки эпителиоцитов в виде резкого снижения числа реснитчатых клеток и повышения количества активно секретирующих эпителиальных элементов. Наблюдалось увеличение уровня экспрессии ER $\alpha$  в покровном и железистом эпителии (в среднем  $102,5 \pm 6,8$  балла;  $p < 0,01$ ), а также в клетках стромы ( $110,2 \pm 8,3$  балла;  $p > 0,05$ ). Интенсивность экспрессии PR, напротив, была достоверно ниже относительно одноименных показателей группы сравнения как в покровном эпителии и glanduloцитах желез (в среднем  $104,7 \pm 5,5$  балла;  $p < 0,01$ ), так и в клетках стромы ( $178,5 \pm 11,3$  балла;  $p < 0,01$ ). Соотношение PR/ER $\alpha$  в наблюдениях основной группы во всех случаях было меньше двух: средний показатель PR/ER $\alpha$ -индекса для поверхностных эпителиоцитов и клеток желез составил  $1,1 \pm 0,09$ , для клеток стромы –  $1,6 \pm 0,1$ .

Известно [5], что уменьшение интенсивности экспрессии ER $\alpha$  освобождает от подавления определенные гены, запускающие внутриматочную рецептивность. Напротив, гиперэкспрессия ER $\alpha$  и снижение представительства PR, обнаруженное нами, трактуется как нарушение экспрессии биологических маркеров имплантации. При этом отсутствие физиологического



снижения ER $\alpha$  в средне-секреторную фазу менструального цикла может быть связано с неадекватным уровнем прогестерона в сыворотке крови, чрезмерной экспрессией коактиваторов стероидных рецепторов и некоторых провоспалительных цитокинов, что зачастую наблюдается при хроническом эндометрите.

Маркер рецептивности эндометрия (LIF) регистрировался в цитоплазме покровных эпителиоцитов и, в меньшей степени, glanduloцитов маточных желез. Наибольшая экспрессия этого маркера отмечалась в апикальных зонах эпителиальных клеток, особенно в проекции пиноподий, на что указывали и другие авторы [9, 12]. Показатели экспрессии LIF в биоптатах группы сравнения составили  $4,01 \pm 1,3$  балла.

При хроническом эндометрите экспрессия LIF наблюдалась не только в эпителиоцитах эндометрия, но и в цитоплазме клеток воспалительного инфильтрата (макрофаги, гистиоциты, плазмоциты) и стромы, причем интенсивность экспрессии этого маркера прямо коррелировала со степенью активности воспалительного процесса в эндометрии. При этом следует отметить, что интенсивность экспрессии LIF в покровных эпителиоцитах при хроническом эндометрите была резко снижена и оказалась равной  $0,95 \pm 1,3$  балла ( $p < 0,01$ ).

Выявленные закономерности свидетельствуют о том, что хронический эндометрит сопровождается почти четырехкратным снижением уровня экспрессии LIF покровными клетками слизистой оболочки матки, что указывает на значительное угнетение рецептивности эндометрия и может рассматриваться как прогностический маркер неудачной имплантации.

**Заключение.** У пациенток с хроническим эндометритом наблюдается расстройство рецептивности эндометрия, включающее повреждение поверхностного эпителия слизистой оболочки матки, нарушение созревания пиноподий к моменту «окна имплантации», гиперэкспрессию ER $\alpha$  и снижение экспрессии LIF в покровных эпителиоцитах эндометрия. Это может лежать в основе нарушения репродуктивной функции у женщин с хроническим эндометритом.

#### Литература

1. Gautray, J.P. Uterine diseases of receptivity of central origin / J.P. Gautray // *Rev. Fr. Gynecol.* – 1959. – Vol. 29, № 1. – P. 46-53.
2. Psychoyos, A. Study of the surface of the uterine epithelium by scanning electron microscope. Observation in the rat at the 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> day of pregnancy / A. Psychoyos, P. Mandon // *C.R.Acad.Sci (Paris)*. – 1971. – Vol. 272. – P. 2723-2725.
3. Шуршалина, А.В. Морфо-функциональные перестройки эндометрия в «окно имплантации» / А.В. Шуршалина, Т.А. Демура // *Акуш. и гинекол.* – 2011. – № 7-2. – С. 9-13.
4. Bercovici, J.P. Receptiveness to sexual steroids / J.P. Bercovici // *Phys. Aspects Rev. Med. Int.* – 1983. – Vol. 4, № 4. – P. 335-342.
5. Дюжева, Е.В. Принципы индивидуальной гормональной подготовки эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО / Е.В. Дюжева, Е.А. Коган, Е.А. Калинина, А.Н. Кузьмичев // *Акуш. и гинекол.* – 2011. – № 7-2. – P. 39-45.
6. Simon, C. Cytokines and embryo implantation / C. Simon, C. Moreno, J. Remohi, A. Pellicer // *J. Reprod. Immunol.* – 1998. – Vol. 39. – P. 117-31.
7. Коган, Е.А. Молекулярные и морфологические аспекты нарушений рецептивности эндометрия при хроническом эндометрите / Е.А. Коган, Т.А. Демура, В.Я. Водяной, А.В. Шуршалина // *Архив патологии.* – 2012. – Vol. 74 (3). – P. 15-27.
8. Mercader, A. Clinical experience and perinatal outcome of blastocyst transfer after coculture of human embryos with human endometrial epithelial cells: a 5-year follow-up study / A. Mercader, J.A. Garcia-Velasco, E. Escudero // *Fertil. and Steril.* – 2003. – Vol. 80 (5). – P. 1162-68.
9. Steck, T. Leukemia inhibitor factor (LIF) gene mutations in women with unexplained infertility and recurrent failure of implantation after IVF and embryo transfer / T. Steck, R. Giess // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2004. Vol. 112. – P. 69-73.
10. Ingman, W. Cytokine knockouts in reproduction: the use of gene ablation to dissect roles of cytokines in reproduction biology / W. Ingman, R. Jones // *Hum. Reprod. Update.* – 2008. Vol. 14(2). – P. 179-92.
11. Kadaman, P.H. Hormonal regulation of implantation / P.H. Kadaman, H.S. Taylor // *Obstet. Gynecol. Clin. N. Am.* – 2004. Vol. 31. – P. 745-66.
12. Acache, H. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation / H. Acache, A. Revel // *Hum. Reprod. Update.* – 2006. – Vol. 12. – P. 731-46.
13. Haouzi, D. Identification of new biomarkers of human endometrial receptivity in the natural cycle / D. Haouzi, K. Mahmoud, M. Fourar // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24 (1). – P. 198-205.
14. Quinn, C. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity / C. Quinn, R. Casper // *Hum. Reprod. Update.* – 2009. – Vol. 15. – P. 229-36.
15. Creus, M. The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in the human endometrium: a controlled study / M. Creus, J. Ordi // *Hum. Reprod.* – 2003. – Vol. 18. – P. 683-93.



16. Ola, B. Implantation failure following in-vitro fertilization / B. Ola, T.-C. Li // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2006. – Vol. 18. – P. 440-445.
17. Казачкова, Э.А. Патогенез, клиничко-морфологическая характеристика и лечение воспалительных заболеваний матки и придатков : дис. ... д-ра мед.наук / Э.А. Казачкова. – Челябинск: ЧелГМА, 2000. – 303 с.
18. Радзинский, В.Е. Ранние сроки беременности / В.Е. Радзинский ; под ред. А.А. Оразмурадова. – М., 2009.
19. Левиашвили, М.М. Оценка рецептивности эндометрия у пациенток с безуспешными программами экстракорпорального оплодотворения в анамнезе / М.М. Левиашвили, Т.А. Демур, Н.Г. Мишиева, Н.М. Файзулина, Т.А. Назаренко, Е.А. Коган // *Акуш. и гинекол.* – 2012. – № 4-1. – С. 65-9.
20. Воропаева, Е.Е. Самопроизвольный аборт: патоморфоз, этиология, патогенез, клиничко-морфологическая характеристика, реабилитация : дис. ... д-ра мед.наук / Воропаева, Е.Е. – Челябинск: ЧелГМА. – 2011. – С. 1-449.

## MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF ENDOMETRIAL RECEPTIVITY AT CHRONIC ENDOMETRITIS

**E.I. KAZACHKOV<sup>1</sup>**  
**E.A. KAZACHKOVA<sup>1</sup>**  
**E.E. VOROPAYEVA<sup>2</sup>**  
**I.G. KHELASHVILI<sup>1</sup>**  
**L.E. MIROSHNICHENKO<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*South Ural State Medical University, Chelyabinsk*

<sup>2</sup>*Municipal Hospital № 8, Chelyabinsk*

*e-mail:*  
*doctorkel@narod.ru*

The purpose is evaluation of endometrial receptivity in women with chronic endometritis based on the study of structural features of the surface epithelium, the expression pattern of steroid hormones and leukemia-inhibitory factor in the «implantation window». The analysis of the morphological status of the endometrium in 76 patients (study group) with chronic endometritis and 20 gynecologically healthy women (control group) was carried out. It was established that patients with chronic endometritis observed disorder endometrial receptivity, including damage to the surface epithelium of the mucous membrane of the uterus, impaired maturation pinopodes the time «implantation window», decreased expression of leukemia-inhibitory factor, and this hyperexpression of estrogen receptors. This could be the basis of violations of reproductive function in women with chronic endometritis.

Key words: endometrial receptivity, chronic endometritis.