

ISSN 2313-7347 (print)

ISSN 2500-3194 (online)

АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

2019 • Том 13 • № 2

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта <http://www.gynecology.su>. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND REPRODUCTION

2019 Vol. 13 No 2

www.gynecology.su



Особенности эндометриальной экспрессии лейкемия-ингибирующего фактора у женщин с различным эстроген-прогестерон-рецепторным статусом эндометрия

С.С. Аганезов¹, В.Н. Эллиниди², А.В. Мороцкая¹,
А.С. Артемьева³, А.О. Нюганен³, Н.В. Аганезова¹

¹ ФГБОУ ВО «Северо-Западный медицинский университет имени И.И. Мечникова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации;
Россия, 191015 Санкт-Петербург, Кирочная ул., д. 41;

² ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины
имени А.М. Никитова» МЧС России;
Россия, 194044 Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2а;

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;
Россия, 197758 Санкт-Петербург, поселок Песочный, ул. Ленинградская, д. 68

Для контактов: Наталия Владимировна Аганезова, e-mail: aganezova@mail.ru

Резюме

Цель исследования: у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе провести анализ эндометриальной экспрессии лейкемия-ингибирующего фактора (ЛИФ) в соотношении с эстроген-прогестерон-рецепторными характеристиками эндометрия.

Материалы и методы. В основную группу включены пациентки с бесплодием ($n = 81$) и ранними потерями беременности ($n = 40$) в анамнезе, в контрольную группу – 16 здоровых фертильных женщин. На 6–8 день после овуляции выполняли пайпель-биопсию эндометрия и получали образец периферической крови для оценки уровней эстрадиола и прогестерона. Проводили гистологическое и иммуногистохимическое исследование эндометрия с определением экспрессии эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов и ЛИФ.

Результаты. У здоровых женщин в среднюю фазу секреции выраженная экспрессия ЛИФ в железах (94 %; $n = 15$) и строме (88 %; $n = 14$) эндометрия определена достоверно чаще, чем у пациенток с репродуктивными дисфункциями – 69 % ($n = 84$) и 44 % ($n = 53$) соответственно ($p < 0,05$). Не было различий экспрессии ЛИФ в эндометрии в зависимости от вида нарушений репродукции. В когорте женщин с полноценным гормонально-рецепторным «ответом» эндометрия выраженная экспрессия ЛИФ в люминальном эпителии (87 %; $n = 52$ из 60) и строме (68 %; $n = 47$ из 69) определена значимо чаще ($p < 0,01$), чем у пациенток с недостаточными гормонально-рецепторными взаимодействиями (61 %, $n = 27$ из 44; 29 %, $n = 20$ из 68). Установлено, что при значении экспрессии PR в железах эндометрия H-score > 105 имеет место риск снижения экспрессии ЛИФ в 2,6 раза в поверхностном эпителии (OR = 2,6) и в 2,5 раза в строме слизистой тела матки (OR = 2,5). При гиперэкспрессии ER в строме эндометрия (H-score > 155) существует риск снижения ЛИФ в железах в 2,5 раза (OR = 2,5) и в 2,8 раза в строме слизистой тела матки (OR = 2,8).

Заключение. Установлена значимая связь между эстроген-прогестерон-рецепторным статусом эндометрия и активностью экспрессии ЛИФ. При полноценных гормонально-рецепторных взаимодействиях в эндометрии достоверно чаще определена выраженная эндометриальная экспрессия ЛИФ. Рассчитаны значения счета ER в строме и PR в железах эндометрия как прогностические факторы сниженной экспрессии ЛИФ в слизистой тела матки.

Ключевые слова: рецептивность эндометрия, лейкемия-ингибирующий фактор, эстрогеновые рецепторы, прогестероновые рецепторы

Статья поступила: 16.04.2019; в доработанном виде: 22.05.2019; принята к печати: 14.06.2019.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии необходимости раскрытия финансовой поддержки или конфликта интересов в отношении данной публикации.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Для цитирования: Аганезов С.С., Эллиниди В.Н., Мороцкая А.В., Артемьева А.С., Нюганен А.О., Аганезова Н.В. Особенности эндометриальной экспрессии лейкоemia-ингибирующего фактора у женщин с различным эстроген-прогестерон-рецепторным статусом эндометрия. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2019;13(2):85–94. DOI: 10.17749/2313-7347.2019.13.2.085-094.

Endometrial expression of leukemia inhibitory factor in women with different estrogen/progesterone receptor status of the endometrium

Sergey S. Aganezov¹, Vera N. Ellinidi², Anastasia V. Morotskaya¹,
Anna S. Artemyeva³, Anna O. Nyuganen³, Natalia V. Aganezova¹

¹ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Health Ministry of Russian Federation;
41 Kirochnaya St., Saint Petersburg 191015, Russia;

² All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine named after A.M. Nikiforov, EMERCOM of Russia;
4/2a Akademika Lebedeva St., Saint Petersburg 194044, Russia;

³ National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Petrov, Health Ministry of Russian Federation;
68 Leningradskaya St., Pesochny Village, Saint Petersburg 197758, Russia

Corresponding author: Natalia V. Aganezova, e-mail: aganezova@mail.ru

Abstract

Aim: to analyze the endometrial expression of leukemia inhibitory factor (LIF) related to the estrogen/progesterone receptor endometrial status in women with the history of reproductive dysfunctions.

Materials and methods. The main group consisted of patients with the history of infertility ($n = 81$) or early pregnancy loss ($n = 40$). The control group included 16 women with normal fertility. At days 6–8 after ovulation, endometrial biopsy was performed and peripheral blood samples were taken to assess the estradiol and progesterone levels. Histological and immunohistochemical (to quantify the estrogen (ER)/progesterone (PR) receptors and LIF expression) examinations of the endometrium biopsy materials were carried out.

Results. In the middle phase of the secretion, women of the control group showed higher levels of LIF expression in the endometrial glands (94%; $n = 15$) and stroma (88%; $n = 14$) significantly more often than patients with reproductive dysfunctions – 69% ($n = 84$) and 44% ($n = 53$) respectively ($p < 0.05$). There was no difference in the endometrial LIF expression between women with infertility and those with early pregnancy loss. In women with a sizable hormone-receptor 'response', a pronounced expression of LIF in the luminal epithelium (87%; $n = 52$ out of 60) and stroma (68%; $n = 47$ out of 69) was detected more often ($p < 0.01$) than that in patients with impaired hormone-receptor interactions (61%, $n = 27$ of 44; 29%, $n = 20$ of 68). High PR expression in the endometrial glands (H -score > 105) indicates the risk of impaired LIF expression in the luminal epithelium ($OR = 2.6$) and stroma ($OR = 2.5$). Overexpression of ER (H -score > 155) in the endometrial stroma is associated with the risk of sub-normal LIF expression in the endometrial glands ($OR = 2.5$) and stroma ($OR = 2.8$).

Conclusion. A meaningful connection has been found between the endometrial estrogen/progesterone receptor status and the expression of LIF. Women with well-pronounced endometrial hormone-receptor interactions show high levels of endometrial LIF expression more often. The stromal ER and glandular PR expression levels are considered to be prognostic factors of reduced endometrial LIF expression in the uterine body mucosa.

Key words: endometrial receptivity, leukemia inhibitory factor, estrogen receptor, progesterone receptor

Received: 16.04.2019; **in the revised form:** 22.05.2019; **accepted:** 14.06.2019.

Conflict of interests

The authors declare they have nothing to disclose regarding the funding or conflict of interests with respect to this manuscript.

Authors contributed equally to this article.

For citation: Aganezov S.S., Ellinidi V.N., Morotskaya A.V., Artemyeva A.S., Nyuganen A.O., Aganezova N.V. Endometrial expression of leukemia inhibitory factor in women with different estrogen/progesterone receptor status of the endometrium. *Akusherstvo, Ginekologiya i Reprodukcya = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2019;13(2):85–94. (In Russ.). DOI: 10.17749/2313-7347.2019.13.2.085-094.

Введение / Introduction

Последние десятилетия бесплодие и невынашивание беременности находятся в фокусе внимания специалистов здравоохранения большинства развитых стран мира [1]. 10–15 % желанных беременностей прерываются в ранние сроки или до достижения плодом жизнеспособности [2]. В России частота бесплодных пар среди населения репродуктивного возраста достигает 17 % [3]. Ряд исследователей считают, что эндометриальная дисфункция может быть причиной репродуктивных неудач [4, 5].

В норме имплантация бластоцисты происходит в ограниченный период времени, называемый «окном имплантации», который наступает на 6–8 день после овуляции. В эти дни функциональная активность желтого тела максимальна, а эндометрий обладает наибольшей рецептивностью. Эндометрий «окна имплантации» соответствует средней стадии фазы секреции [5]. На ультраструктурном уровне полноценной секреторной трансформации эндометрия соответствуют снижение экспрессии эстрогеновых рецепторов (англ. Estrogen Receptors, ER) в железах и строме слизистой тела матки, низкая экспрессия прогестероновых рецепторов (англ. Progesterone Receptors, PR) в эндометриальных железах, высокая экспрессия PR в строме эндометрия [6, 7]. Такой вариант соотношений ER и PR в железах и строме слизистой тела матки определен как норморецепторный (первый) иммунофенотип (ИФТ-1) гормонально-рецепторного взаимодействия в эндометрии [7]. Выделено 3 варианта иммунофенотипов гормонально-рецепторного «ответа» слизистой тела матки, характерных для неполноценных секреторных преобразований эндометрия: с высокой экспрессией ER и PR в железах и строме слизистой тела матки – второй иммунофенотип (ИФТ-2); с изолированной высокой экспрессией ER в железах и строме, низкой экспрессией PR в железах, высокой экспрессией PR в строме эндометрия – третий иммунофенотип (ИФТ-3); со сниженной экспрессией ER в железах и строме, высокой экспрессией PR в железах и строме слизистой тела матки – четвертый иммунофенотип (ИФТ-4) [7].

Лейкемия-ингибирующий фактор (ЛИФ) считают одним из биомаркеров рецептивности эндометрия. ЛИФ – это цитокин, связывание которого со своим специфическим рецептором в клетках эндометрия приводит к активации сигнальных путей, что оказывает влияние на синтез других белковых маркеров в слизистой тела матки и, в целом, повышает рецептивность эндометрия [8, 9].

Цель исследования: у женщин с репродуктивными дисфункциями в анамнезе провести анализ эндометриальной экспрессии ЛИФ в соотношении с эстроген-прогестерон-рецепторными характеристиками эндометрия.

Материалы и методы / Materials and methods

Проведено проспективное когортное наблюдательное исследование по типу «случай–контроль». В основную группу включена 121 пациентка (средний возраст – $32,7 \pm 0,4$ лет) с различными вариантами репродуктивных дисфункций. Основная группа разделена на 2 подгруппы: Ia – 81 женщина с бесплодием, в том числе 33 с неудачами имплантации плодного яйца при проведении экстракорпорального оплодотворения (ЭКО); Ib – 40 женщин с ранними потерями беременности в анамнезе.

Критерии включения:

- возраст 20–40 лет;
- наличие в анамнезе репродуктивных дисфункций (бесплодие, невынашивание беременности ранних сроков);
- нормальный уровень гонадотропных гормонов, пролактина в крови;
- эутиреоз;
- овуляторный менструальный цикл.

Критерии исключения:

- тяжелые соматические заболевания:
 - сахарный диабет,
 - артериальная гипертензия,
 - тяжелые заболевания печени и почек,
 - органическая патология центральной нервной системы,
 - системные аутоиммунные заболевания (кроме аутоиммунного тиреоидита при эутиреозе),
 - гормон-продуцирующие опухоли,
 - злокачественные новообразования;
- ожирение;
- тромбофилии или факторы риска их наличия,
- клинически значимая миома матки (миоматозные узлы 30 мм и более, субмукозная форма миомы);
- эндометриоз;
- аномалии развития матки;
- прием эстроген- и/или гестагенсодержащих препаратов менее, чем за 3 мес до включения в исследование.

Контрольная группа

Контрольную группу составили 16 здоровых фертильных женщин (средний возраст – $32,5 \pm 0,6$ лет) без отягощенного гинекологического анамнеза и без тяжелых соматических заболеваний.

Ультразвуковое мониторирование фолликулогенеза и овуляции

Наблюдение за динамикой роста фолликулов/овуляцией и изменением величины М-эха (ультразвуковое мониторирование) проводили, как минимум, в 2 менструальных циклах, в том числе в цикле, в котором получали пайпель-биоптат слизистой тела матки.

Пайпель-биопсия эндометрия

Биопсию эндометрия выполняли на 6–8 день после овуляции (при условии нормобиоценоза влагалища); в этот же день получали образец периферической крови для определения уровней эстрадиола и прогестерона.

Полученные пайпель-аспираты эндометрия обрабатывали в гистопротекторе Leica ASP200 (Leica Biosystems, Германия); из готовых парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 2–3 мкм на микротоме Microm HM340E (Thermo Scientific, США), окрашивали эозином и гематоксилином по стандартной методике.

Оценка экспрессии эстрогеновых, прогестероновых рецепторов и лейкоингибирующего фактора

Рецепторы половых стероидов в железах и в строме эндометрия определяли иммуногистохимическим полимерным методом с применением системы визуализации EnVision (Dako Cytomation, Дания) и следующих моноклональных мышиных антител: к рецепторам эстрогенов – клон 1D5, RTU (Dako Cytomation, Дания), к рецепторам прогестерона – клон PgR 636, RTU (Dako Cytomation, Дания).

Визуальную оценку экспрессии ER и PR в железах и строме эндометрия проводили при помощи микроскопа Leica DM200 (Leica Biosystems, Германия) с использованием системы H-score (Histochemical Score). Для получения количественного результата применяли формулу: $H\text{-score} = 1 \times (\% \text{ клеток со слабо окрашенными ядрами}) + 2 \times (\% \text{ клеток с умеренно окрашенными ядрами}) + 3 \times (\% \text{ клеток с сильно окрашенными ядрами})$; значения H-score были в интервале от 0 до 300.

Результаты экспрессии ER и PR в эндометрии в основной и контрольной группах определяли в соответствии с ранее предложенной градацией гормонально-рецепторных иммунофенотипов [7].

Из парафиновых блоков были сформированы 18 TMA-матриц (мультиблоков) в установке TMA Grand Master (3D Histech, Венгрия).

Окрашивание микропрепаратов проводили с использованием поликлональных кроличьих антител anti-LIF в автоматизированной системе Ventana BenchMark ULTRA (Ventana, США). Полученные препараты эндометрия сканировали в установке Panoramic 250 (3D Histech, Венгрия); цифровые изображения TMA-матриц оценивали с использованием программного обеспечения Case Viewer 3D (Histech, Венгрия). Экспрессию ЛИФ определяли отдельно в клетках люминального эпителия, железах и строме слизистой тела матки с применением визуально-количественной шкалы. Оценку экспрессии ЛИФ проводили полуколичественно: 0 – отсутствие окрашивания, 1 – умеренное окрашивание, 2 – выраженное окрашивание. Для статистического анализа экспрессию ЛИФ определяли как выраженную (выраженное окрашивание) или сниженную (умеренное окрашивание или его отсутствие).

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica Portable v.10.0 (TIBCO Software Inc., США). Использовали методы описательной, параметрической и непараметрической статистики. Для выявления предикторов нарушения рецептивности эндометрия проведен логико-структурный анализ и применена теория шансов с расчетом odds ratio (OR). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (95 % уровень значимости).

Результаты / Results

Характеристики менструальной функции у женщин обеих групп не различались. Возраст менархе составил в основной группе $13,1 \pm 1,2$ лет, в контрольной – $12,9 \pm 0,7$ лет ($p > 0,05$). Длительность менструаций и менструального цикла у пациенток с репродуктивными дисфункциями были $5,5 \pm 0,3$ и $30,8 \pm 1,1$ дней, у здоровых фертильных женщин – $5,7 \pm 0,2$ и $30,9 \pm 0,9$ дней соответственно ($p > 0,05$). В основной группе в структуре гинекологической патологии отмечены хронический сальпингоофорит вне обострения (24 %; $n = 29$), клинически незначимая миома матки (13 %; $n = 16$). В анамнезе у пациенток основной группы имели место инфекции, передающиеся половым путем: хламидийная (2 %; $n = 2$); гонококковая (1 %; $n = 1$); инфекции, вызванные *Mycoplasma genitalium* (5 %; $n = 6$), *Trichomonas vaginalis* (2 %; $n = 2$). У половины женщин с неудачами репродукции (45 %; $n = 54$) были выскабливания матки в прошлом, у каждой второй из них (у 27 из 54) – 2 и более. У женщин контрольной группы не было гинекологических заболеваний и внутриматочных вмешательств в анамнезе.

У всех женщин основной ($n = 121$) и контрольной ($n = 16$) групп был овуляторный менструальный цикл при достаточной эстрогенной насыщенности. Величина М-эха на 12–14 день менструального цикла была сравнима у участниц основной и контрольной групп и не различалась ($p > 0,05$) у пациенток с различными видами репродуктивных дисфункций в анамнезе (табл. 1).

Результаты гистологического исследования эндометрия, экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов

По результатам гистологического исследования эндометрия полноценная секреторная трансформация слизистой тела матки определена у всех женщин контрольной группы ($n = 16$) и только у 42 % ($n = 51$) испытуемых с репродуктивными неудачами в прошлом.

Норморецепторный иммунофенотип (ИФТ-1) гормонально-рецепторного «ответа» слизистой тела матки определен у 44 % ($n = 53$) участниц основной группы и у всех здоровых фертильных женщин ($n = 16$). Более чем у половины (56 %; $n = 68$) пациенток с нарушениями фертильности установлены различные иммунофенотипы нарушенного эндометриального

Таблица 1. Значения эстрадиола и прогестерона в периферической крови и М-эха у обследованных женщин ($M \pm m$).**Table 1.** Levels of estradiol and progesterone in the peripheral blood and M-echo in the examined women ($M \pm m$).

Показатели Parameters	Группы Groups	Основная группа (n = 121) Main group		Группа контроля Control group (n = 16)	Референсные значения Reference values
		Бесплодие Infertility (n = 81)	Невынашивание беременности Miscarriage (n = 40)		
		1	2		
Эстрадиол, пмоль/л (6–8 день после овуляции) Estradiol, pmol/l (Day 6–8 post-ovulation)		692,2 ± 29,1		707,4 ± 66,1	180–1070
		678,5 ± 32,4	718,6 ± 58,3		
Прогестерон, нмоль/л (6–8 день после овуляции) Progesterone, nmol/l (Day 6–8 post-ovulation)		45,1 ± 2,0		39,1 ± 4,9	16,1–59,1
		43,6 ± 2,5	48,2 ± 3,1		
М-эхо, мм (12–14 день менструального цикла) M-echo, mm (Day 12–14 of menstrual cycle)		8,4 ± 0,3		8,3 ± 0,8	
		8,8 ± 0,4	7,7 ± 0,4		

Примечание: $p > 0,05$ для всех показателей.**Note:** $p > 0.05$ for all the above values.

гормонально-рецепторного «ответа»: ИФТ-2 – у 36 % ($n = 44$), ИФТ-3 – у 7 % ($n = 8$), ИФТ-4 – у 13 % ($n = 16$) женщин. Частота определения различных иммунофенотипов, отражающих взаимодействие половых стероидов с соответствующими рецепторами в эндометрии у женщин с бесплодием и ранними потерями беременности, была сравнима ($p > 0,05$).

При многофакторном линейном дискриминантном анализе определено, что наиболее существенным предиктором нарушенного гормонально-рецепторного «ответа» слизистой тела матки является факт наличия 2 и более выскабливаний матки в анамнезе ($p = 0,03$).

Экспрессия лейкоцит-ингибирующего фактора

Оценку экспрессии ЛИФ проводили в люминальном и железистом эпителии и строме эндометрия. В ряде образцов эндометрия в сформированной ТМА-матрице не было люминального эпителия слизистой тела матки, в связи с чем данные об экспрессии ЛИФ в поверхностном эпителии эндометрия оценивали у 88 пациенток основной группы и у 16 здоровых фертильных женщин (всего у 104 участниц исследования).

Выраженная экспрессия ЛИФ в железах и строме эндометрия достоверно чаще была отмечена у здоровых фертильных женщин, чем у пациенток с репродуктивными дисфункциями. При этом частота выраженной/сниженной экспрессии ЛИФ в железах и строме слизистой тела матки была сравнима у испытуемых с бесплодием и невынашиванием беременности в анамнезе (табл. 2).

Характеристики экспрессии ЛИФ в люминальном эпителии эндометрия были сходны у испытуемых с репродуктивными неудачами в прошлом и у здоровых женщин, не различались у пациенток основной группы ($p > 0,05$) в зависимости от варианта репродуктивной дисфункции в анамнезе (табл. 3).

Оценка связи экспрессии эстрогеновых, прогестероновых рецепторов и лейкоцит-ингибирующего фактора

Для проверки гипотезы о том, что характеристики эстроген-прогестерон-рецепторного статуса эндометрия могут быть существенными для эндометриальной экспрессии ЛИФ, оценили особенности его экспрессии в когортах женщин с нормальным (женщины основной и контрольной групп) и отличными от нормального (пациентки основной группы) иммунофенотипами гормонально-рецепторного взаимодействия в слизистой тела матки.

Значения эстрадиола и прогестерона в периферической крови и величина М-эха не различались ($p > 0,05$) у пациенток основной группы с ИФТ-1 (1), другими ИФТ (2) гормонально-рецепторного «ответа» эндометрия и у здоровых фертильных женщин (3): соответственно, эстрадиол – 701,7 ± 43,7 пмоль/л (1), 684,4 ± 39,3 пмоль/л (2), 707,4 ± 66,1 пмоль/л (3); прогестерон – 44,1 ± 3,3 нмоль/л (1), 45,8 ± 2,4 нмоль/л (2), 39,1 ± 4,9 нмоль/л (3); М-эхо – 8,7 ± 0,4 мм (1), 8,2 ± 0,3 мм (2), 8,3 ± 0,8 мм (3).

Показатели счета ER и PR в железах и строме эндометрия были сопоставимы у пациенток основной группы с ИФТ-1 гормонально-рецепторного «ответа» эндометрия и у здоровых женщин. В то же время у пациенток с репродуктивными дисфункциями в анамнезе и ИФТ-2, ИФТ-3, ИФТ-4 показатели экспрессии ER и PR в эндометрии существенно отличались от таковых у женщин основной группы с ИФТ-1 и у участниц контрольной группы (табл. 4).

Был проведен сравнительный анализ экспрессии ЛИФ в эндометрии у пациенток с нормальными рецепторными характеристиками эндометрия и у здоровых женщин. Среди пациенток с ИФТ-1 гормонально-рецепторного взаимодействия в эндометрии число женщин с выраженной экспрессией ЛИФ в люминальном эпите-

Таблица 2. Характеристики экспрессии лейкоemia-ингибирующего фактора (ЛИФ) в железах и строме эндометрия обследованных женщин.**Table 2.** Expression of leukemia inhibitory factor (LIF) in the glands and stroma of the endometrium in the examined women.

Экспрессия ЛИФ LIF expression	Группы Groups	Основная группа Main group (n = 121) % (n)	Основная группа Main group (n = 121)		Группа контроля Control group (n = 16) % (n)	Уровень значимости Significance p
			Бесплодие Infertility (n = 81) % (n)	Невынашивание беременности Miscarriage (n = 40) % (n)		
		1	2	3	4	
Экспрессия ЛИФ в железах эндометрия LIF expression in the endometrial glands						
Сниженная (0–1) Reduced (0–1)	30,6 (37)	32,1 (26)	27,5 (11)	6,25 (1)	p1–4 = 0,04 p2–3 = 0,60 p2–4 = 0,03 p3–4 = 0,08	
Выраженная (2) Pronounced (2)	69,4 (84)	67,9 (55)	72,5 (29)	93,75 (15)		
Экспрессия ЛИФ в строме эндометрия LIF expression in the endometrial stroma						
Сниженная (0–1) Reduced (0–1)	56,2 (68)	60,5 (49)	47,5 (19)	12,5 (2)	p1–4 = 1×10 ^{–3} p2–3 = 0,20 p2–4 = 4×10 ^{–4} p3–4 = 0,01	
Выраженная (2) Pronounced (2)	43,8 (53)	39,5 (32)	52,5 (21)	87,5 (14)		

Таблица 3. Характеристики экспрессии лейкоemia-ингибирующего фактора (ЛИФ) в люминальном эпителии эндометрия обследованных женщин.**Table 3.** Expression of leukemia inhibitory factor (LIF) in the endometrial luminal epithelium in the examined women.

Экспрессия ЛИФ LIF expression	Группы Groups	Основная группа Main group (n = 88) % (n)		Группа контроля Control group (n = 16) % (n)
		Бесплодие Infertility (n = 60)	Невынашивание беременности Miscarriage (n = 28)	
Сниженная (0–1) Reduced (0–1)		27,2 (24)		6,25 (1)
		26,7 (16)	28,6 (8)	
Выраженная (2) Pronounced (2)		72,7 (64)		93,75 (15)
		73,3 (44)	71,4 (20)	

Примечание: $p > 0,05$ для всех показателей.

Note: $p > 0.05$ for all the above values.

лии (84 %; $n = 37$ из 44), железах (76 %; $n = 40$ из 53) и строме (62 %; $n = 33$ из 53) эндометрия было сравнимо ($p > 0,05$) с соответствующими показателями в группе здоровых участниц: люминальный эпителий и железы – 94 % ($n = 15$), строма – 87 % ($n = 14$).

В когорте женщин с полноценным гормонально-рецепторным «ответом» эндометрия (ИФТ-1) выраженную экспрессию ЛИФ в люминальном эпителии и строме слизистой тела матки отмечали существенно чаще, чем у испытуемых с иммунофенотипами, отражающими неполноценные взаимодействия половых стероидов с собственными рецепторами (ИФТ-2, ИФТ-3, ИФТ-4). Экспрессия ЛИФ в железистом эпите-

лии эндометрия была сравнима ($p > 0,05$) в обеих когортах женщин (табл. 5, 6).

Проведен логико-структурный анализ с построением деревьев классификации и расчетом отношения шансов (OR) для определения предикторов снижения рецептивности эндометрия. Установлено, что при значении H-score PR в железах эндометрия более 105 имеет место риск снижения экспрессии ЛИФ в поверхностном эпителии (OR = 2,6) и в строме слизистой тела матки (OR = 2,5). При H-score ER в строме эндометрия более 155 существует риск снижения экспрессии ЛИФ в железах (OR = 2,5) и строме слизистой тела матки (OR = 2,8).

Таблица 4. Счет эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в эндометрии обследованных женщин ($M \pm m$).**Table 4.** Levels of estrogen (ER) and progesterone (PR) receptors in the endometrium of the examined women ($M \pm m$).

Показатели (6–8 день после овуляции) Parameters (Day 6–8 post-ovulation)	Группы Groups	Основная группа Main group (n = 121)		Группа контроля Control group (n = 16)	Уровень значимости Significance p
		ИФТ-1 (n = 53)	ИФТ-2, ИФТ-3, ИФТ-4 (n = 68)		
		1	2	3	
ER в железах ER in glands		105,8 $\pm$ 6,4	212,6 $\pm$ 9,1	113,8 $\pm$ 8,3	p1–2 = 1×10^{-5} p1–3 = 0,50 p2–3 = 2×10^{-5}
ER в строме ER in stroma		115,5 $\pm$ 9,4	169,6 $\pm$ 10,3	80,6 $\pm$ 8,7	p1–2 = 0,0005 p1–3 = 0,0900 p2–3 = 0,0003
PR в железах PR in glands		41,1 $\pm$ 6,7	237,1 $\pm$ 8,9	28,1 $\pm$ 2,5	p1–2 = 1×10^{-5} p1–3 = 0,05 p2–3 = 1×10^{-5}
PR в строме PR in stroma		266,0 $\pm$ 5,6	279,5 $\pm$ 3,4	285,0 $\pm$ 1,8	p1–2 = 0,50 p1–3 = 0,05 p2–3 = 0,09

Примечание: ИФТ – иммунофенотип.

Note: ИФТ – immunophenotype.

Таблица 5. Характеристики экспрессии лейкоингибирующего фактора (ЛИФ) в люминальном эпителии эндометрия в зависимости от гормонально-рецепторного иммунофенотипа (ИФТ) эндометрия.**Table 5.** Expression of leukemia inhibitory factor (LIF) in the luminal epithelium of women with different hormone-receptor immunophenotypes of the endometrium.

Экспрессия ЛИФ (люминальный эпителий) LIF expression (luminal epithelium)	Тип гормонально- рецепторного ИФТ Hormone-receptor immunophenotype	Норморецепторный (ИФТ-1) Normal immunophenotype (n = 60) % (n)	Нарушенный (ИФТ-2, ИФТ-3, ИФТ-4) Abnormal immunophenotype (n = 44) % (n)	Уровень значимости Significance p
Сниженная (0–1) Reduced (0–1)		13,3 (8)	38,6 (17)	0,005
Выраженная (2) Pronounced (2)		86,7 (52)	61,4 (27)	

Обсуждение / Discussion

Основную группу составили женщины с бесплодием и невынашиванием беременности в анамнезе. У данных пациенток не было очевидных причин репродуктивных нарушений в циклах естественного зачатия, а также неудач имплантации blastocysts в циклах ЭКО. С целью углубленного обследования для исключения/выявления эндометриальной дисфункции этим пациенткам проведено сочетанное морфологическое (гистологическое и иммуногистохимическое) исследование образцов слизистой тела матки.

Циклические преобразования эндометрия в течение менструального цикла происходят под воздействием эстрадиола и прогестерона. Определено, что взаимо-

действие половых стероидов со своими функционально полноценными рецепторами играет ключевую роль в реализации эффектов эстрадиола и прогестерона в слизистой тела матки. Эстрадиол активирует эндометриальный синтез ER и PR. Физиологические эффекты прогестерона заключаются в подавлении экспрессии как собственных, так и эстрогеновых рецепторов в слизистой тела матки [10]. Вследствие реализации прогестероном своего биологического действия в период наибольшей функциональной активности желтого тела яичника, соответствующей фазе средней секреции эндометриального цикла, на молекулярном уровне происходит выраженное снижение экспрессии ER и PR в железах эндометрия; в

Таблица 6. Характеристики экспрессии лейкоингибирующего фактора (ЛИФ) в железах и строме эндометрия в зависимости от гормонально-рецепторного иммунофенотипа (ИФТ) эндометрия.**Table 6.** Expression of leukemia inhibitory factor (LIF) in the luminal epithelium of women with different hormone-receptor immunophenotypes of the endometrium.

Экспрессия ЛИФ LIF expression	Тип гормонально-рецепторного ИФТ Hormone-receptor immunophenotype	Норморецепторный (ИФТ-1) Normal immunophenotype (n = 69) % (n)	Нарушенный (ИФТ-2, ИФТ-3, ИФТ-4) Abnormal immunophenotype (n = 68) % (n)	Уровень значимости Significance p
Экспрессия ЛИФ в железах эндометрия LIF expression in the endometrial glands				
Сниженная (0–1) Reduced (0–1)		20,1 (14)	35,2 (24)	0,08
Выраженная (2) Pronounced (2)		79,7 (55)	63,8 (44)	
Экспрессия ЛИФ в строме эндометрия LIF expression in the endometrial stroma				
Сниженная (0–1) Reduced (0–1)		49,3 (34)	70,6 (48)	0,01
Выраженная (2) Pronounced (2)		50,7 (35)	29,4 (20)	

строме определяют тенденцию к снижению экспрессии ER при высоком содержании в ней PR. Именно такой вариант соотношений рецепторов половых стероидов в слизистой тела матки, соответствующий гистологически полноценной секреторной трансформации эндометрия (средней фазе секреции), описан как нормальный иммунофенотип гормонально-рецепторного эндометриального «ответа», отражающий адекватные биологические эффекты прогестерона [6, 7].

В нашей работе продемонстрировано, что наличие в анамнезе 2 и более выскабливаний матки может быть фактором риска нарушения гормонально-рецепторных взаимодействий в эндометрии.

Большинство исследователей считают, что ЛИФ является «критичной» молекулой для имплантации бластоцисты; его экспрессия увеличивается в период «окна имплантации» в люминальном и железистом эпителии [11]. Некоторыми авторами при иммуногистохимическом исследовании образцов слизистой тела матки показано, что у женщин с репродуктивными дисфункциями имеет место сниженная экспрессия ЛИФ в люминальном и железистом эпителии по сравнению со здоровыми фертильными женщинами [12]. В нашей работе продемонстрировано, что у пациенток с нарушенной фертильностью существенно чаще имеется сниженная экспрессия ЛИФ в железах и строме эндометрия, чем у участниц контрольной группы. Полученные результаты совпадают с приведенными выше данными о снижении экспрессии ЛИФ в железистом эпителии при анамнезе репродуктивных дисфункций. В то же время полученные нами данные о различии экспрессии ЛИФ в эндометриальной

строме трудно интерпретировать. В доступных литературных источниках не описана значимость экспрессии ЛИФ в стромальном компоненте эндометрия.

В нашей работе не выявлены различия характеристик экспрессии ЛИФ в слизистой тела матки у женщин с бесплодием и ранними потерями беременности в анамнезе. В исследовании F. Wu и соавт. (2018) также не определены существенные различия экспрессии ЛИФ у женщин с привычным невынашиванием беременности и неудачами имплантации в циклах ЭКО [13]. Эти данные могут свидетельствовать в пользу единого генеза эндометриальной дисфункции у пациенток с различными видами нарушений репродукции.

В нашей работе определено, что полноценные гормонально-рецепторные взаимодействия в эндометрии значимы для активности экспрессии ЛИФ в люминальном эпителии и строме эндометрия. В доступных для поиска базах данных не найдено информации о соотношениях экспрессии ER и PR в железах и строме эндометрия и экспрессии ЛИФ в слизистой тела матки. В исследовании M. Wetendorf и соавт. (2017) продемонстрировано, что снижение экспрессии PR в эндометриальных железах (соответствует характеристике нормального иммунофенотипа гормонально-рецепторного «ответа» эндометрия [7]) активирует синтез ЛИФ и его сигнальный каскад [14].

При помощи логико-структурного анализа и теории отношения шансов нам удалось определить пороговые значения счета PR в железах и ER в строме эндометрия, отражающие неполноценность биологических эффектов прогестерона, которые могут быть прогностическими факторами сниженной экспрессии ЛИФ.

Закключение / Conclusion

Выраженная экспрессия ЛИФ в железах и строме эндометрия определена достоверно чаще у здоровых фертильных женщин, чем у пациенток с репродуктивными дисфункциями в анамнезе. Экспрессия ЛИФ в эндометрии сравнима у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности. Эстроген-прогестерон-

рецепторные взаимодействия в слизистой тела матки значимы для активности экспрессии ЛИФ в люминальном эпителии и строме эндометрия.

Дополнительная информация

Все женщины основной и контрольной групп подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Литература:

- Karizbodagh M.P., Rashidi B., Sahebkar A. et al. Implantation window and angiogenesis. *J Cell Biochem.* 2017;118(12):4141–51. DOI: 10.1002/jcb.26088.
- Recurrent pregnancy loss. ESHRE Early Pregnancy Guideline Development Group. *European Society of Human Reproduction and Embryology*, 2017. 153 p. Available at: https://www.klinikum.uni-heidelberg.de/fileadmin/frauenklinik/Gyn_Endokrinologie/images/PDF/ESHRE_RPL_Guideline_28112017_FINAL.pdf.
- Шарапова Е.И., Машина М.А., Кузьмин В.Н. Возможные пути оптимизации специализированной помощи бесплодной паре. *Кремлевская медицина. Клинический вестник.* 2014;(4):25–8.
- Katzorke N., Vilella F., Ruiz M. et al. Diagnosis of endometrial-factor infertility: current approaches and new avenues for research. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2016;76(6):699–703.
- Dorostghoal M., Ghaffari H.O., Moramezi F., Keikhah N. Overexpression of endometrial estrogen receptor-alpha in the window of implantation in women with unexplained infertility. *Int J Fertil Steril.* 2018;12(1):37–42. DOI: 10.22074/ijfs.2018.5118.
- Толибова Г.Х. Эндометриальная дисфункция у женщин с бесплодием: патогенетические детерминанты и клинико-морфологическая диагностика: Автореф. дис. докт. мед. наук. СПб., 2018. 39 с.
- Аганезов С.С., Эллиниди В.Н., Пономаренко К.Ю. и др. Особенности гормон-рецепторного взаимодействия в эндометрии при овуляторном менструальном цикле у женщин с нарушениями менструальной функции. *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* 2018;(2):63–7.
- Karizbodagh M.P., Rashidi B., Sahebkar A. et al. Implantation window and angiogenesis. *J Cell Biochem.* 2017;118(12):4141–51. DOI: 10.1002/jcb.26088.
- Recurrent pregnancy loss. ESHRE Early Pregnancy Guideline Development Group. *European Society of Human Reproduction and Embryology*, 2017. 153 p. Available at: https://www.klinikum.uni-heidelberg.de/fileadmin/frauenklinik/Gyn_Endokrinologie/images/PDF/ESHRE_RPL_Guideline_28112017_FINAL.pdf.
- Sharapova E.I., Mashina M.A., Kuzmin V.N. Possible ways for optimizing specialized medical aid in infertile married couples. [Vozmozhnye puti optimizatsii specializirovannoy pomoshchi besplodnoj pare]. *Kremlevskaya medicina. Klinicheskij vestnik.* 2014;(4):25–8. (In Russ.).
- Katzorke N., Vilella F., Ruiz M. et al. Diagnosis of endometrial-factor infertility: current approaches and new avenues for research. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2016;76(6):699–703.
- Dorostghoal M., Ghaffari H.O., Moramezi F., Keikhah N. Overexpression of endometrial estrogen receptor-alpha in the window of implantation in women with unexplained infertility. *Int J Fertil Steril.* 2018;12(1):37–42. DOI: 10.22074/ijfs.2018.5118.
- Tolibova G.Kh. Endometrial dysfunction in women with infertility: pathogenetic determinants and clinical and morphological diagnosis. [Endometrial'naya disfunkciya u zhenshchin s besplodiem: patogeneticheskie determinanty i kliniko-morfologicheskaya diagnostika]. Avtoref. dis. dokt. med. nauk. *Saint Petersburg.* 2018. 39 s. (In Russ.).
- Aganezov S.S., Ellinidi V.N., Ponomarenko K.Yu. et al. Features of hormone-receptor interaction in the endometrium during the ovulatory menstrual cycle in women with reproductive failure. [Osobennosti gormon-receptornogo vzaimodejstviya v endometrii pri ovulyatornom besplud'nom cikle u zhenshchin s narusheniyami menstrual'noj funkcii]. *Vestnik Rossijskoj Voenno-meditsinskoj akademii.* 2018;(2):63–7. (In Russ.).
- Shurshalina A.V., Demura T.A. Morphofunctional rearrangements of the endometrium during the implantation window. [Morfofunkcional'nye perestrojki endometriya v «okno implantacii»]. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2011;7(2):9–13. (In Russ.).
- Huang C., Sun H., Wang Z. et al. Increased Kruppel-like factor 12 impairs embryo attachment via downregulation of leukemia inhibitory factor in women with recurrent implantation failure. *Cell Death Discov.* 2018;6:4–23. DOI: 10.1038/s41420-018-0088-8.
- Krylova Yu.S., Kvetnoy I.M., Aylamazyan E.K. Receptivity of the endometrium: molecular mechanisms of regulation of implantation. [Receptivnost' endometriya: molekulyarnye mekhanizmy regulyatsii implantacii]. *Zhurnal akusherstva i zhenskih boleznej.* 2013;62(2):63–74. (In Russ.).
- Qian Z.D., Weng Y., Wang C.F., Huang L.L. Research on the expression of integrin $\beta 3$ and leukemia inhibitory factor in the decidua of women with cesarean scar pregnancy. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2017;17(1):84. DOI: 10.1186/s12884-017-1270-3.
- Franasiak J.M., Holoch K.J., Yuan L. et al. Prospective assessment of midsecretory endometrial leukemia inhibitor factor expression versus $\alpha \nu \beta 3$ testing in women with unexplained infertility. *Fertil Steril.* 2014;101(6):1724–31. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.02.027.
- Wu F., Chen X., Liu Y. et al. Decreased MUC1 in endometrium is an independent receptivity marker in recurrent implantation failure during implantation window. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):60. DOI: 10.1186/s12958-018-0379-1.
- Wetendorf M., Wu S.P., Wang X. et al. Decreased epithelial progesterone receptor A at the window of receptivity is required for preparation of the endometrium for embryo attachment. *Biol Reprod.* 2017;96(2):313–26. DOI: 10.1095/biolreprod.116.144410.

References:

Сведения об авторах:

Аганезов Сергей Станиславович – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» МЗ РФ. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3523-9922>.

Эллиниди Вера Николаевна – к.м.н., доцент, заслуженный работник здравоохранения РФ, зав. патологоанатомическим отделением ФГБУ «ВЦЭРМ им. А.М. Никитина» МЗ РФ. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7091-3142>.

Мороцкая Анастасия Владиславовна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» МЗ РФ. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6783-1923>.

Артемова Анна Сергеевна – к.м.н., зав. патологоанатомическим отделением, руководитель научной лаборатории морфологии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» МЗ РФ. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2948-397X>.

Нюганен Анна Олеговна – врач-патологоанатом патологоанатомического отделения ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» МЗ РФ. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2685-5093>.

Аганезова Наталья Владимировна – д.м.н., доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» МЗ РФ. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9676-1570>.

About the authors:

Sergey S. Aganezov – PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, NWSMU n.a. I.I. Mechnikov HM of RF. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3523-9922>.

Vera N. Ellinidi – PhD, Associate Professor, Honored Doctor of RF, Head of Department of Pathology, All-Russian CERM n.a. A.M. Nikiforov, EMERCOM of Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7091-3142>.

Anastasia V. Morotskaya – Postgraduate Student, Department of Obstetrics and Gynecology, NWSMU n.a. I.I. Mechnikov HM of RF. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6783-1923>.

Anna S. Artemyeva – PhD, Head of Department of Pathology, Head of the Scientific Laboratory of Tumor Morphology, NICC of Oncology n.a. N.N. Petrov HM of RF. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2948-397X>.

Anna O. Nyuganen – Pathologist, Department of Pathology, NICC of Oncology n.a. N.N. Petrov HM of RF. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2685-5093>.

Natalia V. Aganezova – MD, PhD, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, NWSMU n.a. I.I. Mechnikov HM of RF. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9676-1570>.