



Нарушения экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в период окна имплантации в эутопическом эндометрии женщин с бесплодием, ассоциированным с наружным генитальным эндометриозом

В.Е. Радзинский¹, М.Р. Оразов¹, Л.М. Михалева², С.В. Волкова¹, Т.Н. Хованская², В.Б. Шустова³

¹ ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, г. Москва

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»; Россия, г. Москва

³ ООО «МедИнСервис» — Центр репродукции и генетики Nova Clinic; Россия, г. Москва

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: изучить экспрессию изоформ эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в период окна имплантации в эутопическом эндометрии женщин с бесплодием, ассоциированным с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ).

Дизайн: проспективное открытое сравнительное исследование.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 32 пациентки с эндометриоз-ассоциированным бесплодием и неудачными попытками имплантации в программе вспомогательных репродуктивных технологий (основная группа) и 33 фертильные женщины с НГЭ rAFS (от I до IV стадий) (группа сравнения). Проведены морфологическое и иммуногистохимическое исследования биоптатов эндометрия, полученных путем пайпель-биопсии в период предполагаемого окна имплантации.

Результаты. В эутопическом эндометрии пациенток с НГЭ и бесплодием в период окна имплантации выявлена статистически значимо ($p < 0,05$) более высокая экспрессия ER α (в 19 раз), ER β (в 2,3 раза) в строме и PR-B в железах (в 1,7 раза), чем у фертильных женщин с НГЭ, на фоне более низкой экспрессии PR-A в строме (в 2,5 раза).

Заключение. Морфофункциональное состояние эндометрия и его рецептивные свойства в период окна имплантации у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием отражают характер экспрессии изоформ ER (α и β) и PR (A и B), аномалии которой лежат в основе патогенеза нарушений рецептивности эндометрия, что клинически выражается в отсутствии наступления беременности.

Ключевые слова: бесплодие, ассоциированное с эндометриозом; окно имплантации, рецептивность эндометрия.

Вклад авторов: Радзинский В.Е. — разработка дизайна исследования, проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации; Оразов М.Р. — отбор пациенток, разработка дизайна исследования, проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации; Михалева Л.М. — разработка дизайна исследования, проведение, анализ и интерпретация морфологического и иммуногистохимического исследований, проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации; Волкова С.В. — обзор публикаций по теме статьи, сбор клинического материала, обработка, анализ и интерпретация, статистическая обработка данных, написание текста рукописи; Хованская Т.Н. — проведение морфологического и иммуногистохимического исследований, анализ, интерпретация и статистическая обработка данных; Шустова В.Б. — обзор публикаций по теме статьи, сбор клинического материала.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Для цитирования: Радзинский В.Е., Оразов М.Р., Михалева Л.М., Волкова С.В., Хованская Т.Н., Шустова В.Б. Нарушения экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в период окна имплантации в эутопическом эндометрии женщин с бесплодием, ассоциированным с наружным генитальным эндометриозом. Доктор.Ру. 2021; 20(6): 53–56. DOI: 10.31550/1727-2378-2021-20-6-53-56

Impaired Expression of Estrogen and Progesteron Receptors During the Implantation Window in Eutopic Endometrium of Infertile Women Associated with Endometriosis Genitalis Externa

V.E. Radzinsky¹, M.R. Orazov¹, L.M. Mikhaleva², S.V. Volkova¹, T.N. Khovanskaya², V.B. Shustova³

¹ Peoples' Friendship University of Russia (a Federal Government Autonomous Educational Institution of Higher Education); 6 Miklouho-Maclay St., Moscow, Russian Federation 117198

² Scientific and Research Centre of Human Morphology; 3 Tsiurupa Str., Moscow, Russian Federation 117418

³ MedInService LLC — Centre for Reproduction and Genetics Nova Clinic; 20 Lobachevsky Str., Moscow, Russian Federation 119415

Радзинский Виктор Евсеевич — член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института ФГАУ ВО РУДН. 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. eLIBRARY.RU SPIN: 4507-7510. <https://orcid.org/0000-0003-4956-0466>. E-mail: radzinsky@mail.ru

Оразов Мекан Рахимбердыевич (автор для переписки) — профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института ФГАУ ВО РУДН, д. м. н., профессор. 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. eLIBRARY.RU SPIN: 1006-8202. <https://orcid.org/0000-0002-5342-8129>. E-mail: omekan@mail.ru (Окончание на с. 54.)



ABSTRACT

Study Objective: To study impaired expression of estrogen (ER) and progesterone (PR) receptor isoforms during the implantation window in eutopic endometrium of infertile women associated with endometriosis genitalis externa (EGE).

Study Design: open perspective comparative study.

Materials and Methods. The study included 32 patients with endometriosis-associated infertility and implantation failures within the scope of assisted reproductive technology programme (study group), and 33 fertile women with EGE rAFS (stages I to IV) (comparison group). We performed morphological and immunohistochemical examination of endometrium biopsy samples (pipelle biopsy) during an expected implantation window.

Study Results. Eutopic endometrium of women with EGE and infertility during the implantation window demonstrated statistically higher ($p < 0.05$) expression of ER α (19-fold), ER β (2.3-fold) in stroma and PR-B in glands (1.7-folds) as compared to fertile women with EGE with lower PR-A expression in stroma (2.5-fold).

Conclusion. The morphofunctional condition of endometrium and its receptive properties during the implantation window in women with endometriosis-associated infertility reflect the nature of ER (α and β) and PR (A and B) isoforms expression, the abnormalities underlying the endometrium receptivity disorders, with clinical manifestations being absent pregnancy.

Keywords: endometriosis-associated infertility; implantation window; endometrium receptivity.

Contributions: Radzinskiy, V.E. — study design; review of critically important material; approval of the manuscript for publication; Orazov, M.R. — patient selection; study design, review of critically important material, approval of the manuscript for publication; Mikhaleva, L.M. — study design; analysis and interpretation of morphology and immunohistochemistry results; review of critically important material; approval of the manuscript for publication; Volkova, S.V. — thematic publications reviewing; collection of clinical materials; data processing, analysis and interpretation; text of the manuscript; Khovanskaya, T.N. — analysis and interpretation of morphology and immunohistochemistry results; statistical data processing; Shustova, V.B. — thematic publications reviewing; clinical materials collection.

Conflict of interest: The authors declare that they do not have any conflict of interests.

For citation: Radzinsky V.E., Orazov M.R., Mikhaleva L.M., Volkova S.V., Khovanskaya T.N., Shustova V.B. Impaired Expression of Estrogen and Progesterone Receptors During the Implantation Window in Eutopic Endometrium of Infertile Women Associated with Endometriosis Genitalis Externa. Doctor.Ru. 2021; 20(6): 53–56. (in Russian). DOI: 10.31550/1727-2378-2021-20-6-53-56

ВВЕДЕНИЕ

В немногочисленных работах последних лет, посвященных изучению особенностей эутопического эндометрия при эндометриоз-ассоциированном бесплодии, нашла свое отражение концепция его отличия от эндометрия здоровых фертильных женщин. Показано, что изменения экспрессии биологически активных веществ в эндометрии женщин с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) могут приводить к нарушению его рецептивности, негативно влияя на фертильность [1–3]. В качестве ключевого этиологического фактора рассматривают изменения рецепторного ответа ткани на влияние половых стероидов [4].

Известно, что трансформация эндометрия — циклический гормонозависимый процесс. Одной из важнейших характеристик, определяющих имплантационную состоятельность и рецептивность эндометрия на гистологическом уровне, является соответствие состояния его стромы и желез средней секреторной фазы менструального цикла. С помощью иммуногистохимического исследования биоптатов эндометрия возможно оценить экспрессию эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов, которая в норме имеет определенные закономерности для разных фаз менструального цикла.

Именно средняя стадия фазы секреции характеризуется максимальной выработкой прогестерона желтым телом, и только на этой стадии эндометрий способен быть рецептивным за счет максимальной экспрессии и равномерного распределения PR в стромальном компартменте. В то же время в эпителии желез экспрессия PR уменьшается вплоть до нуле-

вых значений или находится на низком уровне, а экспрессия ER в железах и строме эндометрия начинает повышаться, но распределение носит неравномерный характер [5].

Согласно данным отечественных исследователей, при НГЭ наблюдаются иные закономерности в экспрессии стероидных рецепторов [3, 6, 7]. Поскольку НГЭ является хроническим воспалительным эстроген-зависимым и прогестерон-резистентным заболеванием, мы считаем необходимым детальное изучение экспрессии в период окна имплантации не только общих фракций стероидных рецепторов, которые в большей степени проанализированы в современной литературе, но и их изоформ с целью выявления особенностей стероидного рецепторного профиля и более тщательной оценки рецептивности эндометрия.

Цель исследования: изучить экспрессию изоформ ER и PR в период окна имплантации в эутопическом эндометрии женщин с бесплодием, ассоциированным с НГЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в 2020–2021 гг. на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН — в центре репродукции и генетики Nova Clinic и Центральной клинической больнице № 6 ОАО «Российские железные дороги».

В настоящее исследование включены 65 женщин в возрасте от 29 до 40 лет (средний возраст составил $35 \pm 4,2$ года) с морфологически верифицированным НГЭ (rAFS от I до IV стадий). В основную группу вошли 32 пациентки с НГЭ

Михалева Людмила Михайловна — д. м. н., профессор, директор ФГБНУ НИИМЧ. 117418, Россия, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3. eLIBRARY.RU SPIN: 2086-7513. <https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>. E-mail: mikhalevalm@yandex.ru

Волкова Снежана Владимировна — аспирант кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН. 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. eLIBRARY.RU SPIN: 4330-9246. <https://orcid.org/0000-0003-2198-7927>. E-mail: dr.slupus@yandex.ru

Хованская Татьяна Николаевна — младший научный сотрудник ФГБНУ НИИМЧ. 117418, Россия, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3. eLIBRARY.RU SPIN: 4330-9246. <http://orcid.org/0000-0002-5646-2605>. E-mail: zimavnebe@mail.ru

Шустова Виктория Борисовна — врач акушер-гинеколог, репродуктолог ООО «МедИнСервис» — Центр репродукции и генетики Nova Clinic. 119415, Россия, г. Москва, ул. Лобачевского, д. 20. <https://orcid.org/0000-0003-4397-0042>. E-mail: shustova.vik@yandex.ru (Окончание. Начало см. на с. 53.)

и бесплодием, проходившие лечение последнего с помощью ВРТ, в анамнезе у которых было 2 и более неудачных попытки переноса эмбрионов хорошего качества в полость матки. Группу сравнения составили 33 пациентки с НГЭ, реализовавшие свою репродуктивную функцию не более 3 лет назад на момент исследования и не имевшие в анамнезе бесплодия, которые обратились для хирургического лечения тазовой боли, ассоциированной с НГЭ, и на момент исследования имели сохраненный овариальный резерв.

С помощью пайпель-биопсии получали эндометрий. День забора материала определяли путем отсчитывания от овуляции 5–7 дней, которую регистрировали по пику концентрации ЛГ в крови. Таким образом, определенный день менструального цикла (19–22-й) считали периодом, соответствующим предполагаемому окну имплантации.

Полученный материал помещали в 10% формалин, срок фиксации составлял 24–48 часов. Далее выполняли гистологическую проводку образцов эндометрия в автоматическом гистопроцессоре Leica ASP 30, после чего их заливали в парафин на станции Leica EG 1150 (Германия). В автоматической станции Leica ST 5010 окрашивали гематоксилином и эозином гистологические срезы толщиной 4 микрометра. С помощью триокулярного микроскопа Leica DMLB (окуляры с 10-кратным увеличением) и цифровой камеры Leica DFC 420 (Германия) осуществляли микроскопическое исследование.

В полученных микропрепаратах проводили патоморфологическую оценку состояния эндометрия и при отсутствии патологических процессов биоптат включали в исследование. Двухэтапный стрептавидин-биотин-пероксидазный метод с демаскировкой антигена и применением стандартных наборов моноклональных и поликлональных антител фирм Ventana, Cell Marque и Diagnostic BioSystems (США) применяли для проведения иммуногистохимического исследования биоптатов эндометрия. По стандартной методике на парафиновых срезах с предварительной демаскировкой антигенов в СВЧ-печи производили иммуногистохимическое окрашивание с использованием антител к ER α , ER β , PR-A и PR-B в иммуностейнере Ventana BenchMark Ultra IHC-SH (США).

Базу данных составляли с помощью электронных таблиц Microsoft Excel. Статистическую обработку данных выполняли, используя пакет прикладных программ IBM SPSS Statistics 26. Распределение параметрических переменных на нормальность проверяли с помощью критерия Шапиро — Уилка. Значения количественных переменных выражали в виде медианы (Me) и межквартильного интервала (Q1–Q3), так как в нашем исследовании распределение было отличным от нормального.

Межгрупповые различия изучали с применением критерия Стьюдента, U-критерия Манна — Уитни (для количественных переменных при отличном от нормального распределении). Связь между переменными определяли при помощи критерия ранговых знаков Вилкоксона. Нулевую гипотезу отвергали при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Параметры экспрессии изоформ ER α и β и изоформ PR A и B в эутопическом эндометрии в период окна имплантации у женщин с НГЭ в сочетании с бесплодием (основная группа) и фертильных женщин с НГЭ (группа сравнения) представлены в *таблице*.

В основной группе обнаружена аберрантная экспрессия изучаемых рецепторов при сопоставлении с таковой в группе сравнения. Так, выявлена статистически значимо

Результаты иммуногистохимического исследования: экспрессия изоформ эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов
Immunohistochemistry results: expression of estrogen (ER) and progesteron (PR) receptor isoforms

Параметры / Parameter, %		Основная группа / Study group (n = 32)	Группа сравнения / Comparison group (n = 33)
ER α	железы / glands	1,0 (1,0; 1,1)	1,1 (1,0; 1,2)
	строма / stroma	24,7 (7,8; 41,6)*	1,3 (1,0; 1,6)
ER β	железы / glands	11,2 (3,5; 19,0)	8,2 (2,4; 14,0)
	строма / stroma	19,5 (4,0; 35,0)*	8,4 (3,8; 13,0)
PR-A	железы / glands	12,9 (4,2; 21,7)	23,4 (12,4; 34,5)
	строма / stroma	23,4 (15,6; 31,2)*	58,0 (39,2; 76,9)
PR-B	железы / glands	46,8 (11,2; 82,4)*	27,3 (9,1; 45,5)
	строма / stroma	55,9 (38,4; 73,5)	68,6 (46,6; 90,9)

* Отличия от группы сравнения статистически значимы ($p < 0,05$).

* Statistically significant differences vs. comparison group ($p < 0.05$).

($p < 0,05$) более высокая экспрессия ER α (в 19 раз), ER β (в 2,3 раза) в строме и PR-B в железах (в 1,7 раза), чем у фертильных женщин с НГЭ, на фоне более низкой экспрессии PR-A в строме (в 2,5 раза).

Полученные данные свидетельствуют о стероидогенной (за счет эстрогена и прогестерона) рецепторной дисфункции эутопического эндометрия в период окна имплантации при бесплодии, ассоциированном с НГЭ.

ОБСУЖДЕНИЕ

В.А. Lessey и соавт. (2006) изучали экспрессию ER α у бесплодных женщин с эндометриозом и здоровых фертильных женщин в разные фазы менструального цикла методом иммуногистохимии. Авторы статьи показали, что экспрессия ER α была значительно ниже в секреторной, чем в пролиферативной фазе менструального цикла у здоровых фертильных женщин, а у пациенток с эндометриозом и бесплодием зарегистрирован более высокий уровень экспрессии ER α на протяжении всех фаз, но в особенности в средней стадии фазы секреции [8]. Полученные нами результаты частично согласуются с вышепредставленными данными, так как была обнаружена повышенная экспрессия как ER β , так и ER α , особенно последнего.

При изучении различий между экспрессией PR-A и PR-B в эутопическом эндометрии при эндометриозе в большинстве исследований выявлено снижение экспрессии PR-B, тогда как сообщения о PR-A слишком разнородны [9]. При оценке экспрессии PR-A и PR-B в течение всего менструального

цикла у пациенток с НГЭ не найдены стандартные закономерности, присущие здоровым женщинам, а отмечался аномальный характер распределения PR, свидетельствующий о резистентности [10].

Наиболее интересное исследование, в котором показано, что уровень экспрессии PR были выше у женщин с эндометриозом, перенесших хирургическое лечение, которые в последующем спонтанно забеременели, чем у тех, кому забеременеть не удалось [11]. Согласно полученным нами результатам, экспрессия PR-B в железах эндометрия женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием повышена на фоне сниженной экспрессии PR-A в строме.

Таким образом, мы полагаем, что в основе нарушений рецептивности эндометрия у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием лежит не только стероидогенный дис-

баланс между ER и PR, но и дисфункция лидирующих изоформ PR за счет существенно повышенной экспрессии PR-B в железах и низкой экспрессии PR-A в стромальном компартменте эндометрия. Вышеизложенные данные дополняют существующие представления о патогенезе резистентности к прогестерону при эндометриоз-ассоциированном бесплодии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Морфофункциональное состояние эндометрия и его рецептивные свойства в период окна имплантации у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием отражают характер экспрессии изоформ эстрогеновых (α и β) и прогестероновых (A и B) рецепторов, аномалии которой лежат в основе патогенеза нарушений рецептивности эндометрия, что клинически выражается в отсутствии наступления беременности.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Радзинский В.Е., Оразов М.Р., ред. Бесплодие и эндометриоз. Версии и контраверсии. М.: Редакция журнала StatusPraesens; 2019. 208 с. [Radzinsky V.E., Orazov M.R., eds. Infertility and endometriosis. Versions and controversies. M.: Editorial office of the journal StatusPraesens; 2019. 208 p. (in Russian)]
2. Focarelli R., Luddi A., De Leo V. et al. Dysregulation of GdA expression in endometrium of women with endometriosis: implication for endometrial receptivity. *Reprod. Sci.* 2018; 25(4): 579–86. DOI: 10.1177/1933719117718276
3. Парамонова Н.Б., Коган Е.А., Колотовкина А.В. и др. Морфологические и молекулярно-биологические признаки нарушения рецептивности эндометрия при бесплодии женщин, страдающих наружным генитальным эндометриозом. *Архив патологии.* 2018; 80(3): 11–18. [Paramonova N.B., Kogan E.A., Kolotovkina A.V. et al. The morphological and molecular biological signs of impaired endometrial receptivity in infertility in women suffering from external genital endometriosis. *Archive of Pathology.* 2018; 80(3): 11–18. (in Russian)]. DOI: 10.17116/ptol201880311-18
4. Lessey B.A., Kim J.J. Endometrial receptivity in eutopic endometrium of women with endometriosis: it is affected, let me show you why. *Fertil. Steril.* 2017; 108(1): 19–27. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.05.031
5. Тolibова Г.Х., Траль Т.Г., Айламазян Э.К. и др. Молекулярные механизмы циклической трансформации эндометрия. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2019; 68(1): 5–12. [Tolibova G.Kh., Tral T.G., Ailamazyan E.K. et al. Molecular mechanisms of cyclic transformation of the endometrium. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2019; 68(1): 5–12. (in Russian)]. DOI: 10.17816/JOWD6815-12
6. Колотовкина А.В., Калинина Е.А., Коган Е.А. Морфофункциональные особенности эндометрия у больных эндометриоз-ассоциированным бесплодием (обзор литературы). *Гинекология.* 2012; 4: 9–14. [Kolotovkina A.V., Kalinina E.A., Kogan E.A. Morphofunctional features of the endometrium in patients with endometriosis-associated infertility (literature review). *Gynecology.* 2012; 4: 9–14. (in Russian)]
7. Тolibова Г.Х., Траль Т.Г., Ярмолинская М.И. и др. Эндометриальная дисфункция у пациенток с бесплодием, ассоциированным с наружным генитальным эндометриозом. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2017; 66: 84–5. [Tolibova G.Kh., Tral T.G., Yarmolinskaya M.I. et al. Endometrial dysfunction in patients with infertility associated with external genital endometriosis. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2017; 66: 84–5. (in Russian)]
8. Lessey B.A., Palomino W.A., Apparao K.B. et al. Estrogen receptor-alpha (ER-alpha) and defects in uterine receptivity in women. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2006; 4 (suppl.1): S9. DOI: 10.1186/1477-7827-4-S1-S9
9. Marquardt R.M., Kim T.H., Shin J.-H. et al. Progesterone and estrogen signaling in the endometrium: what goes wrong in endometriosis? *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(15): 3822. DOI: 10.3390/ijms20153822
10. Wölfler M.M., Küppers M., Rath W. et al. Altered expression of progesterone receptor isoforms A and B in human eutopic endometrium in endometriosis patients. *Ann. Anat.* 2016; 206: 1–6. DOI: 10.1016/j.aanat.2016.03.004
11. Moberg C., Bourlev V., Ilyasova N. et al. Levels of oestrogen receptor, progesterone receptor and α B-crystallin in eutopic endometrium in relation to pregnancy in women with endometriosis. *Hum. Fertil. (Camb.)* 2015; 18(1): 30–7. DOI: 10.3109/14647273.2014.922705

Поступила / Received: 26.03.2021

Принята к публикации / Accepted: 07.06.2021