

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ПІНОПОДІЙ ЕНДОМЕТРІЯ ПІД ЧАС ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОЇ ФАЗИ В ЖІНОК ІЗ ПОПЕРЕДНЬОЮ НЕВДАЛОЮ ІМПЛАНТАЦІЄЮ

DOI: <http://dx.doi.org/10.18370/2309-4117.2021.58.28-33>



Ю.Г. АНТИПКИН

д. мед. н., професор, академік НАМН України, директор ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України», президент Асоціації педіатрів України, м. Київ
ORCID: 0000-0002-8018-4393

О.О. ЛИТВАК

к. мед. н., провідний науковий співробітник наукового відділу малоінвазивної хірургії ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС, м. Київ
ORCID: 0000-0001-9152-507X

О.Г. КУРИК

д. мед. н., професор кафедри патологічної анатомії №1 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, м. Київ
ORCID: 0000-0003-3093-4325

Г.П. ПАСІЧНИК

к. мед. н., провідний науковий співробітник наукового відділу малоінвазивної хірургії ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС, м. Київ
ORCID: 0000-0002-4481-5696

Ю.М. БОНДАРЕНКО

мол. наук. співробітник лабораторії патоморфології ДУ «ІПАГ ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України», м. Київ
ORCID: 0000-0003-0635-3969

Контакти:

Литвак Олена Олегівна
ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС, науковий відділ малоінвазивної хірургії
01014, Київ, Верхня, 5
Тел.: +38 (044) 254 68 01;
+38 (050) 690 22 42
email: 0506902242@ukr.net

ВСТУП

Безпліддя – це стан, що характеризується відсутністю зачаття протягом 1,5 року регулярно статевого життя без застосування будь-яких контрацептивів [1, 13, 18].

Найпоширенішим сучасним медичним методом подолання неплідності є екстракорпоральне запліднення (ЕКЗ). Настання вагітності після його застосування залежить від морфологічних показників ендометрія, наприклад, рецептивності, тобто здатності забезпечити необхідні етапи імплантації: орієнтацію бластоцисти в порожнині матки відносно місця майбутньої імплантації, адгезію на поверхні ендометрія та інвазію в порожнину матки. На жаль, показники фертильності після ЕКЗ залишаються невисокими. За даними міжнародних джерел, настання клінічної вагітності в циклах ЕКЗ не перевищує 33% [24–25]. Основною проблемою невдалих спроб ЕКЗ у 70% випадків залишається відсутність імплантації після ембріотрансферу бластоцисти хорошої якості в порожнину матки [5, 6, 9, 15, 20]. У своєму стрімкому розвитку методики ЕКЗ перш за все були орієнтовані на вдосконалення та вивчення біологічного потенціалу ембріонів *in vitro*, а дослідженням рецептивності ендометрія приділялося менше уваги. Тому попри те, що наразі достатньо велика кількість науковців присвячує свої роботи вивченню молекулярних і морфологічних маркерів імплантації, комплексна динаміка усього процесу імплантації та роль кожного маркера окремо досі залишається дискусійною [7, 12, 16, 23].

Морфофункціональний стан, при якому ендометрій підготовлений до нідації ембріона, отримав назву «вікна імплантації». У природному менструальному циклі (МЦ) воно спостерігається на 6–10-й дні після овуляції (20–24-й день МЦ), проте в кожній жінки цей процес відбувається індивідуально [4, 8]. Однією з передумов для вдалої імплантації ембріона є наявність піноподій рецептивного ендометрія. Морфологічно в цей період відбуваються зміни ендометріальних епітеліальних клітин та плазматичних мембран просвітного епітелію, що супроводжуються втратою мікрворсинок і формуванням куполоподібних випинань – піноподій – на апікальній поверхні клітин. Імовірно, це явище зумовлено змінами в конфігурації мікрофіламентів, що містяться у поверхневих відділах

клітин [10, 22]. Даний процес є прогестеронозалежним. І хоча утворення піноподій давно вважається проявом і ознакою рецептивного ендометрія, абсолютна роль піноподій у взаємодії ембріона та ендометрія ще досі залишається недоведеною [15, 17]. Незважаючи на дані деяких вчених про вираженість піноподій протягом усієї секретуючої фази МЦ і навіть після імплантаційного періоду (до 11 місяця гестації), останні міжнародні дослідження схиляються до визнання піноподій істинним маркером рецептивності ендометрія [19].

Метою дослідження став аналіз морфологічних змін ендометрія в інфертильних жінок, зокрема дослідження апікальної поверхні епітеліальних клітин і формування піноподій.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Впродовж 2012–2018 рр. у хірургічному центрі Державної наукової установи «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами (м. Київ) було проведено 12 діагностичних гістероскопій із біопсією ендометрія, які представили когорту пацієнок нашого дослідження. Вік пацієнок становив від 26 до 40 років. Всі жінки мали в анамнезі невдалі спроби ЕКЗ на момент проведення дослідження.

Усі учасниці були проінформовані та надали письмову згоду на участь у дослідженні та обробку їхніх персональних даних. Протокол дослідження узгоджено і підтримано керівництвом закладу та оформлено відповідно до вимог Гельсінської декларації (1975). Пацієнтки були обстежені відповідно до пакету необхідної передопераційної підготовки в рамках програми допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) згідно з локальними протоколами та наказом №387 МОЗ України. Всім пацієнткам проводили ультразвуковий моніторинг стану ендометрія та його ехоструктурних змін у динаміці 1–2 природних чи умовних МЦ (п/у МЦ) на 5–7 і на 19–22 день у залежності від тривалості циклу. Дослідження проводили за допомогою ультразвукових апаратів Canon i600 та Philips HD11XE з використанням трансвагінального електронного датчика з частотою від 7,5 до 9,5 МГц. Кольорове доплерівське картування використовувалося для оцінки інтенсивності субендометріального кровотоку та кровотоку в маткових судинах [2, 3, 21].

Біопсія ендометрія проводилась під час гістероскопії як рутинного діагностично-лікувального етапу ЕКЗ, у випадку недосягнення бажаної вагітності під час попередньої спроби застосування методів ДРТ в лікуванні безпліддя матки [1]. Всі біопсії проводились під загальним знеболенням – довшим наркозом 1% розчином пропофолу. Доза для індукції складала 0,5–1 мг/кг протягом 2–5 хв, а підтримуюча доза – 1,5–4 мг/кг/год. У жодної з пацієнок не спостерігалось пригнічення дихання, ознак гіпоксії та зниження рівня SpO_2 нижче 95%. Після ввідного наркозу середній артеріальний тиск у пацієнок знизився на 5–9% від вихідного рівня, а частота серцевих скорочень – на 6–11%. В подальшому, під час проведення процедури, коливання показників гемодинаміки було ще менш суттєвим (в межах 3–7%). Тобто застосування загального знеболення не призводило до порушень мікроциркуляції в організмі, в т. ч. і в ендометрії.

Біопсія проводилась на ЛГ+6 до ЛГ+10 день МЦ, де ЛГ = 0 – це день підвищення базального рівня лютеїнізуючого гормону (ЛГ). У жінок порівнювали показники естрадіолу та прогестерону в крові. Під час УЗД вимірювали товщину ендометрія.

Морфологічне дослідження проводили за допомогою світлової мікроскопії та скануючої електронної мікроскопії (СЕМ). Біопсійний матеріал ендометрія для СЕМ фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну. Для проводки матеріалу після фіксації використовували гістопроцесор карусельного типу STP-120, для заливки парафінових блоків – станцію ЕС-350, для різання парафінових блоків – ротаційний мікротом серії HM-340E (Microm, Німеччина). Зрізи товщиною 4–5 мкм зафарбовували гематоксиліном-еозином. Використовували мікроскоп Axioskop 40 з фотокамерою AxioCam MRc5 (Carl Zeiss).

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки тканини фіксували в 1,6% розчині глутарового альдегіду на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4) на 1,5 год при постійному перемішуванні за температури +4 °С. Потім шматочки промивали в 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4) упродовж 18–20 годин за температури +4 °С і фіксували в 2% розчині тетраоксиду осмію (OsO_4) протягом 1,5 год. Після цього шматочки зневоднювали в серії спиртів зростаючої концентрації, інкубували в окису пропілену (1 год), витримували в суміші епону і окису пропілену (співвідношення 1:1) упродовж 1,5 год, після чого утримували в суміші епонів за температури + 37 °С тривалістю 2 год. Шматочки розміщували в поліетиленових капсулах, заповнених свіжою порцією суміші епонів, і полімеризували при 60 °С упродовж 24 год. Виготовлення суміші епонів з вихідних компонентів, а також введення каталізатора полімеризації ДМР-30 проводилось за Лафтом. Напівтонкі (1 мкм) і ультратонкі (50 нм) зрізи виготовляли на ультрамікротомі Tesla BS-490A з використанням скляних ножів. Напівтонкі зрізи монтували на предметних скельцях і забарвлювали в суміші, що містить рівні частини 1% розчину метиленового синього і 1% розчину бури з подальшою світловою мікроскопією. Після вибору ділянки прицільно виточувалась «піраміда». Ультратонкі зрізи розміщували на мідних сіточках, попередньо вкритих формваровою плівкою. Для покращення якості зображення проводили подвійне контрастування тканини ацетатом уранілу і цитратом свинцю за Рейнольдсом. Вивчення ультраструктури клітин проведено в електронно-мікроскопі УЕМБ-100В (Японія) при прискорюючій напрузі

75 кВ з наступним фотографуванням на ядерні і діапозитивні пластинки при збільшенні від 1000 до 40 000.

Було підраховане співвідношення між вільними та секреторними епітеліоцитами (%). Також відмічали наявність повністю розвинених або регресуючих піноподій.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

При проведенні УЗД на 5–7 добу МЦ у жінок з невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі визначалося вірогідне зниження індексу пульсації (ІП) – $0,94 \pm 0,003$ та підвищення індексу резистентності (ІР) – $0,87 \pm 0,001$ в артеріях на межі з ендометрієм, відповідно до референтних значень ІП $1,24 \pm 0,05$ та ІР $0,55 \pm 0,001$ ($p < 0,05$). В маткових артеріях спостерігалось вірогідне збільшення ІП ($4,1 \pm 0,36$) та ІР ($0,88 \pm 0,04$) в порівнянні з референтними значеннями ІП ($2,33 \pm 0,36$) та ІР ($0,72 \pm 0,04$) ($p < 0,05$) [6, 7]. Під час аналізу характеру субендометріального кровотоку та кровотоку в маткових судинах виявлено ознаки зниження перфузії в ендометрії у 5 пацієнок з ендокринопатіями: у 2 осіб із синдромом гіперпролактинемії та в 3 жінок з ознаками субклінічного гіпотиреозу.

За результатами ехографії на 5–7 день п/у МЦ товщина ендометрія у більшості обстежуваних ($n = 7$) складала в середньому $4,2 \pm 0,5$ мм, що відповідало дню МЦ. У 5 пацієнок із супутніми ендокринними факторами цей показник в середньому становив $2,5 \pm 0,3$ мм, що вказувало на невідповідність товщини ендометрія дню МЦ. У день передбачуваного «вікна імплантації» (19–22 день п/у МЦ) за даними УЗД тільки в 2 пацієнок із 12 середня товщина ендометрія відповідала дню п/у МЦ та складала $9,8 \pm 1,4$ мм. У 5 пацієнок вона складала в середньому $6,3 \pm 1,2$ мм, тобто була меншою за референтні значення (8–10 мм). Ще у 5 пацієнок товщина ендометрія становила $11,5 \pm 0,9$ мм, при цьому в 3 із них визначалися локальні гіперехогенні ділянки, характерні для сонографічних ознак поліпів ендометрія. Ехографічні особливості ендометрія в період імовірного «вікна імплантації» в обстежуваних збігалися з даними лікувально-діагностичної гістероскопії.

Аналізуючи результати лікувально-діагностичної гістероскопії, можна зробити висновок, що в 12 жінок із невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі визначалися наступні супутні патологічні зміни ендометрія: гіпопластичні зміни – в 5 пацієнок (41,7%), поліпи – в 3 (25%), гіперпластичні зміни – в 2 (16,7%), що збігалося з результатами патогістологічного дослідження.

У всіх препаратах, взятих під час діагностичної гістероскопії, було досліджено люмінальну поверхню ендометрія. У 10 пацієнок (83,3%) спостерігався незмінений циліндричний епітелій, що містив вільні та секретуючі клітини. В той же час у 2 жінок (16,7%) апікальна поверхня епітеліоцитів була пошкоджена. Було виявлено, що у 5 пацієнок (41,7%) морфологічна картина та зрілість залоз ендометрія не відповідала фактичному дню МЦ. Ступінь зрілості залоз ендометрія в цих пацієнок був низьким, відповідно клінічно спостерігалася затримка МЦ.

Співвідношення розміру залоз до строми ендометрія було однаковим (1:1) у 5 пацієнок (41,7%), що свідчило про незрілість залоз ендометрія та невідповідність фактичному дню МЦ. У 2 пацієнок (17,7%) площа залоз превалювала над розмірами сполучної тканини строми, а у 5 (40,6%) більшими були виміри строми. У зразках, що вивчалися, морфологічна

будова строми ендометрія характеризувалась чіткою вираженістю клітин сполучної тканини зі значно меншою кількістю нейтрофілів і лімфоцитів.

Дослідження спіральних артерій показало їх добру вираженість у 7 пацієнток (58,3%). Водночас відповідність між наявністю спіральних артерій та презентацією на поверхні клітин піноподій вдалося виявити тільки у 6 із них, а в 1 зразку спостерігався нормальний розвиток спіральних артерій із відсутністю виразності піноподій при СЕМ. У решти 5 пацієнток (41,7%) не вдалося візуалізувати ані спіральних артерій функціонального шару, ані піноподій.

При УЗД прослідковувалися чіткі зміни у будові секретуючих та війчастих клітин у 4 жінок (33,3%). На апікальній поверхні секретуючих клітин спостерігалася відсутність або мала кількість мікрворсинок, війки війчастих клітин були вкорочені або подекуди зрощені між собою (рис. 1). У 8 пацієнток (77,7%) суттєвих змін у будові секретуючих та війчастих клітин не виявлено.

Під час вивчення секретуючих і війчастих епітеліоцитів за допомогою СЕМ була знайдена низка відмінностей. Незважаючи на те, що кількість секретуючих епітеліоцитів перевищувала кількість війчастих клітин у всіх зразках, у 2 пацієнток (16,7%) це співвідношення було практично рівним (рис. 2). У 7 пацієнток (58,3%) СЕМ підтвердила нормальну будову секретуючих епітеліоцитів, секретуючі клітини містили на апікальній поверхні регулярні та короткі мікрворсинки. Проте в 5 пацієнток (41,7%) секретуючі епітеліальні клітини характеризувалися наявністю «голих полів», позбавлених мікрворсинок або з дуже малою їх кількістю.

Під час аналізу піноподій як одного з найважливіших компонентів імплантації ембріона їх наявність була встановлена у 6 зразках (50,0%). Кількість піноподій у досліджуваних біоптатах варіювала: 4 препарати (33,3%) містили цілком розвинені піноподії – великі та повністю гладкі, з деякими зморшкуватими ділянками, 1 зразок (8,3%) характеризувався наявними маленькими та регресуючими піноподіями, з превалюючими зморшкуватими ділянками (рис. 3), та 1 препарат (8,3%) містив у собі комбінацію повністю розвинених і регресуючих піноподій (рис. 4).

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Спроможність ендометрія до секреторних трансформацій як умови нормальної гравідарної здатності широко обговорюється в репродуктивній медицині [9–12]. Складна ієрархія циклічних, структурних і рецепторних трансформацій ендометрія, залежних від фаз МЦ, підпорядкована ендокринним, інтракринним та паракринним регулятивним факторам впливу. Це зумовлює інтерес дослідників до вивчення періоду оптимальної сприйнятливості ендометрія до нідації ембріона і попередження ранніх ембріональних втрат [2, 10]. У вивченні морфофункціональних характеристик ендометрія класичними методами залишаються неінвазивний – УЗД, а також інвазивний – біопсія ендометрія з наступним патоморфологічним дослідженням і визначення рівня готовності та стадій дозрівання епітеліального і стромально-го компонента ендометрія [2, 9].

Аналіз власних клініко-морфологічних даних свідчить, що ендометрій пацієнток із попередньою невдалою імплантацією характеризується вираженими морфологічними змінами

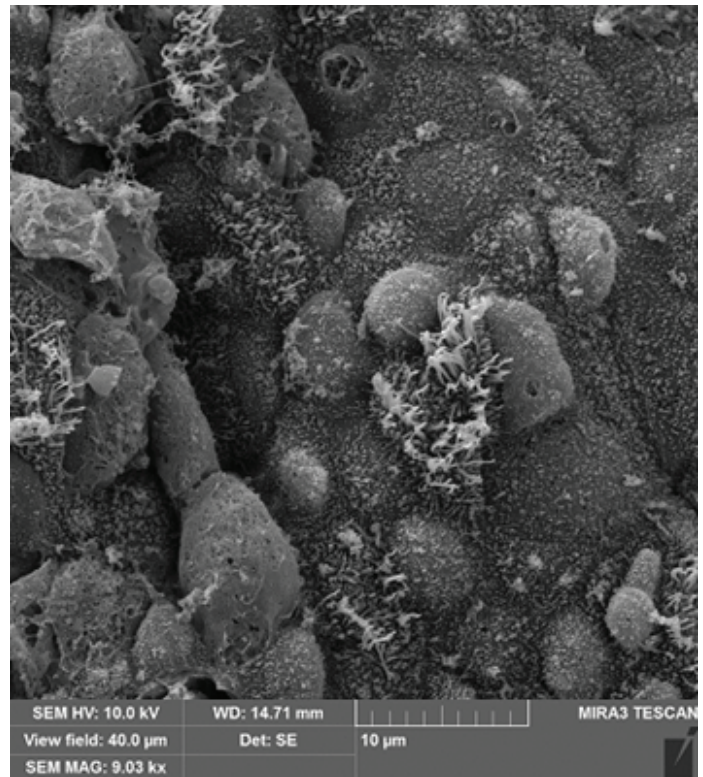


Рисунок 1. Мала кількість мікрворсинок на апікальній поверхні секретуючих клітин, війки війчастих клітин вкорочені або зрощені між собою СЕМ, збільшення x 9030. Поле зору 40,0 мкм.

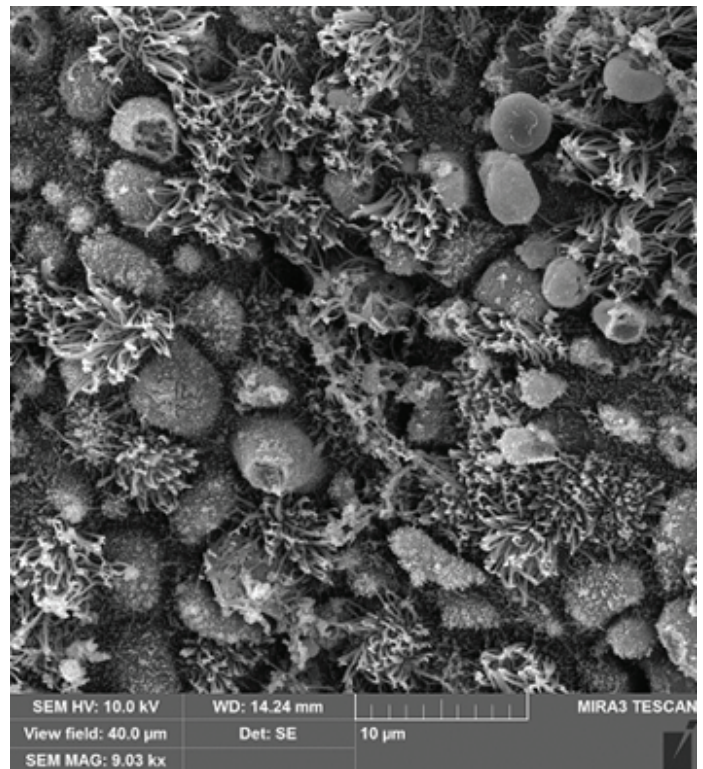


Рисунок 2. Співвідношення секретуючих епітеліоцитів та війчастих клітин СЕМ, збільшення x 9030. Поле зору 40,0 мкм.

або незрілістю із затримкою МЦ. Наявність піноподій спостерігалася на ЛГ+6 до ЛГ+10 дні МЦ, хоча на ЛГ+10 піноподії візуалізувалися лише в 1 пацієнтки (8,7%) з 5 (41,7%), які перебували у тій самій фазі МЦ.

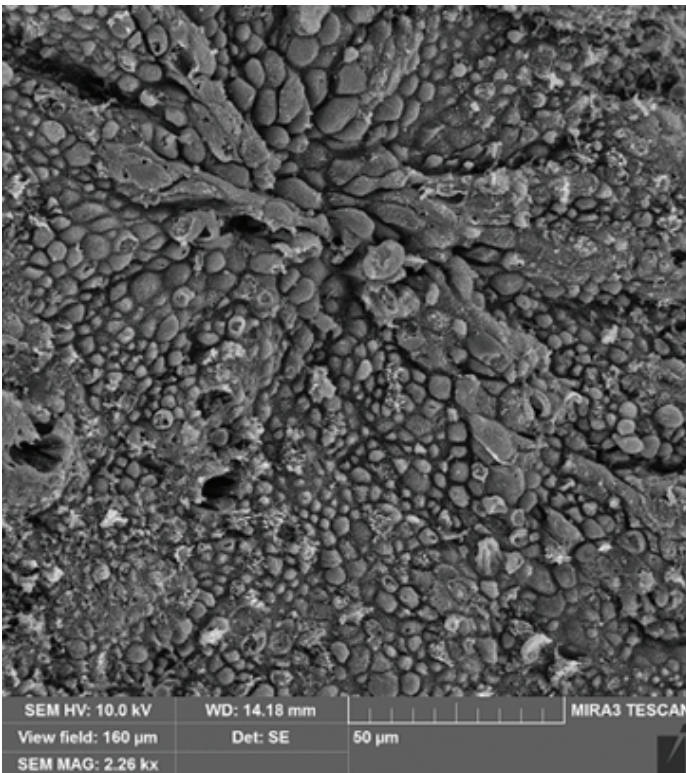


Рисунок 3. Маленькі та регресуючі піноподії
SEM, збільшення x 2260. Поле зору 160 мкм.

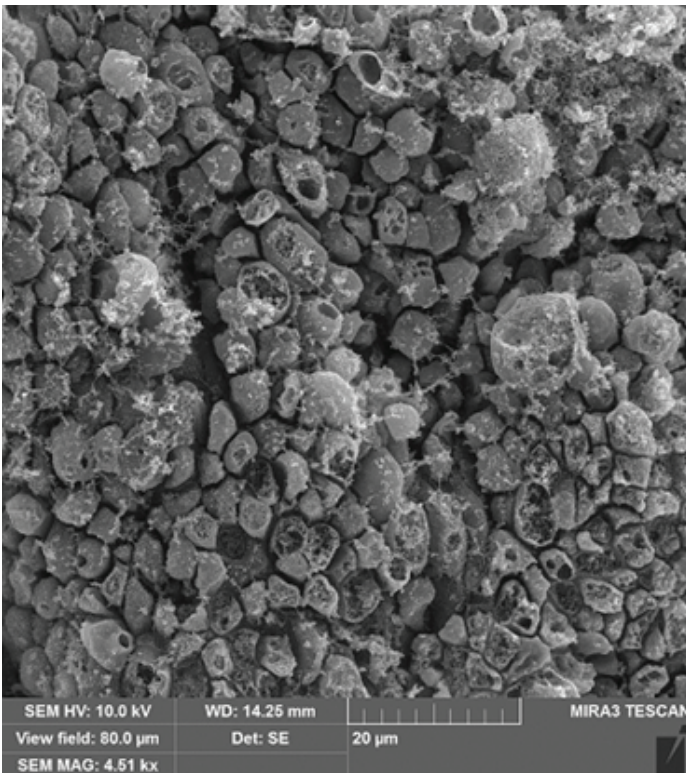


Рисунок 4. Комбінація розвинених та регресуючих піноподій
SEM, збільшення x 4510. Поле зору 80,0 мкм.

Варто зазначити, що неповноцінна секреторна трансформація ендометрія може спорадично спостерігатися й у жінок репродуктивного віку зі збереженою репродуктивною функцією. Неадекватна реакція залоз і стромы ендометрія

зумовлена порушенням гормонального гомеостазу, зокрема співвідношенням рівнів естрогену і прогестерону в крові. Специфічний зв'язок репродуктивної системи і системи гіпоталамус–гіпофіз підтверджується результатами численних досліджень, які вказують на розвиток вираженої гіперплазії і появу вогнищового аденоматозу в пацієнок із гіперестрогенемією, що поєднується з високим рівнем пролактину [10].

Сьогодні широкого розповсюдження набуло морфологічне вивчення та встановлення вірогідних маркерів рецептивності, таких як муцини (MUC-1), інтегрини, які ще потребують ретельніших і прицільних досліджень [11, 12]. Існують дані, що свідчать про невідповідність експресії молекулярних маркерів рецептивності та даних СЕМ тих самих зразків [1, 2]. Тобто навіть за наявності експресії інтегрину $\beta 3$, MUC-1 при імуногістохімічному дослідженні наявність піноподій не завжди була вираженою при СЕМ. Отже, необхідні достовірні дані, які узагальнили б взаємозв'язок і закономірність експресії маркерів рецептивності та ультраструктурну будову в одному дослідженні. Відомо, що на 20–22 дні МЦ, які вважаються «вікном імплантації» бластоцисти, на поверхні епітелію повністю зникають рецептори естрогену та прогестерону з наступним підвищенням їх кількості в стромі ендометрія. Деякі вчені вважають, що саме різке зниження числа цих рецепторів на поверхні ендометрія зумовлює появу білків клітинної адгезії – інтегринів. Це також збільшує чутливість до факторів росту, що виділяються стромою ендометрія [9, 11].

Дослідження експресії маркерів рецептивності в стимульованих циклах ЕКЗ у порівнянні з натуральними важливе для визначення того, наскільки значущими можуть бути відмінності у затримці, або навпаки – передчасному настанні лютеїнової фази та можливості імплантації в даних умовах. Наприклад, у стимульованих циклах часто спостерігалася передчасна секреторна трансформація та зміна експресії маркерів рецептивності у постовуляторній та ранній лютеїновій фазі, вірогідним результатом чого стала несинхронна взаємодія між життєздатним ембріоном та рецептивним або субрецептивним ендометрієм [9–10].

Для дослідження будови ендометрія вже давно використовується трансмісійна електронна мікроскопія та СЕМ [10, 13]. При СЕМ матеріалу наших пацієнок на поверхні секретуючих епітеліоцитів були дуже короткі або взагалі відсутні мікроворсинки у 5 випадках (41,7%), що зазвичай індуковано гормональним дисбалансом. Окрім цього, при гістологічному дослідженні та СЕМ піноподії візуалізувалися в 6 пацієнок (50,0%). При ознайомленні з викладеними в актуальних міжнародних виданнях поглядами на фізіологічне значення піноподій стає зрозуміло, що конкретна роль цих структур досі залишається невідомою, погляди на важливість і вирішальну роль піноподій у процесі імплантації контроверсійні [9–12]. Було показано, що в препаратах різних видів ссавців піноподії можуть існувати від лічених годин до декількох тижнів, у людини цей проміжок теж досить варіабельний.

У нашому дослідженні піноподії вдалося візуалізувати з ЛГ+6 по ЛГ+10 дні МЦ. Але з 5 пацієнок (41,7%), які перебували у ЛГ+10 фазі, піноподії були знайдені в зразках лише 1 (8,7%) пацієнтки. І хоча наша вибірка пацієнок не дозволяє розрахувати статистично значущу тривалість існування піноподій, у даному дослідженні піноподії візуалізувалися протягом приблизно 5 днів МЦ.

ВИСНОВКИ

Результати нашого дослідження демонструють наявність відповідних ехографічних і морфологічних змін-маркерів в ендометрії жінок із невдалою імплантацією в анамнезі:

- сонографічні ознаки патологічних змін характеру субендометріального кровотоку та кровотоку в маткових судинах;
- сонографічні ознаки невідповідності структури і товщини ендометрія дню МЦ в динаміці;
- затримка секреторної фази, тобто невідповідність розвитку та зрілості ендометрія принаймні на 2 дні МЦ;
- десинхронізація розвитку спіральних артерій та піноподій у секретуючу фазу циклу ендометрія.

Таким чином, зазначеному контингенту пацієнток рекомен-

довано застосування в програмах ДРТ пайпель-біопсії ендометрія з наступним морфологічним та імуногістохімічним дослідженням рівня експресії рецепторів стероїдних гормонів з метою визначення персонального вікна імплантації.

Перспективи подальших досліджень: оскільки аналіз гістологічних і клініко-лабораторних показників не є вичерпним для представлення картини рецептивності ендометрія, для вдосконалення дизайну і результатів подальших досліджень необхідне вивчення взаємозв'язку експресії маркерів рецептивності та ультраструктурної будови в одному дослідженні.

Конфлікт інтересів

Автори статті зазначають відсутність конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Боярский, К.Ю. Современный взгляд на проблему рецептивности тонкого эндометрия в программах ВРТ: обзор литературы / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдук, Н.А. Пальченко // Проблемы репродукции. – 2013. – №4. – С. 51–60.
2. Буянова, С.Н., Гайдук, С.Н., Пальченко, Н.А. "Modern view of the problem of thin endometrial receptivity in ART programs: literature review." *Problems of reproduction* 4 (2013): 51–60.
3. Буянова, С.Н. Прогностическая значимость ультразвукового исследования у женщин с миомой матки на этапе планирования беременности / С.Н. Буянова, Н.В. Юдина, С.А. Гукасян // Рос. вестник акушера-гинеколога. – 2016. – №16 (4). – С. 61–67.
4. Буянова, С.Н., Юдина, Н.В., Гукасян, С.А. "Prognostic significance of ultrasound examination in women with uterine fibroids at the stage of pregnancy planning." *Russian Bulletin of Obstetricians and Gynecologists* 16 (2016): 61–7.
5. Абдулаев, Р.Я. Допплерография в гинекологии / Р.Я. Абдулаев, В.В. Грабарь, Т.П. Лысенко, И.Н. Сафонова. – Харьков: Нове слово, 2009. – 104 с.
6. Abdulaev, R.Y., Grabar, V.V., Lysenko, T.P., Safonov, I.N. Doppler ultrasonography in gynecology. Kharkiv. New word (2009): 104 p.
7. Ниаури, Д.А. Иммуногистохимическая характеристика рецептивности эндометрия в циклах ЭКО / Д.А. Ниаури, А.М. Гзгян, И.М. Кветной [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2014. – №9. – С. 44–50.
8. Niauri, D.A., Gzgyan, A.M., Kvetnoy, I.M. "Immunohistochemical characteristics of endometrial receptivity in IVF cycles." *Obstetrics and gynecology* 9 (2014): 44–50.
9. Левиашвили, М.М. Оценка рецептивности эндометрия у пациенток с безуспешными программами экстракорпорального оплодотворения в анамнезе / М.М. Левиашвили, Т.А. Демур, Н.Г. Мишьева // Акушерство и гинекология. – 2012. – №4. – С. 65–69.
10. Leviasvili, M.M., Demura, T.A., Mishieva, N.G. "Evaluation of endometrial receptivity in patients with unsuccessful in vitro fertilization programs in history." *Obstetrics and gynecology* 4 (2012): 65–9.
11. Дубчак, А.Є. Морфологічні та імуногістохімічні особливості ендометрія в період «вікна імплантації» у жінок з безпліддям на тлі хронічних запальних захворювань внутрішніх статевих органів / А.Є. Дубчак, Т.Д. Задорожна, О.В. Мілевський, О.І. Довгань // Здоров'я жінчини. – 2015. – №6. – С. 178–81.
12. Dubchak, A.Y., Zadorozhna, T.D., Milevskiy, O.V., Dovgan, O.I. "Morphological and immunohistochemical features of the endometrium during the 'window of implantation' in women with infertility on the background of chronic inflammatory diseases of the internal genital organs." *Women's Health* 6 (2015): 178–81.
13. Косей, Н.В. Морфофункціональні та імуногістохімічні характеристики різних клініко-патогенетичних варіантів лейоміоми матки / Н.В. Косей, Т.Д. Задорожна, Н.Ф. Захаренко [та ін.] // Патологія. – 2017. – №3 (41). – С. 319–325.
14. Kosej, N.V., Zadorozhna, T.D., Zakharenko, N.F. "Morphofunctional and immunohistochemical characteristics of different clinical and pathogenetic variants of uterine leiomyoma." *Pathology* 3 (2017): 319–25.
15. Семенюк, Л.М. Оптимізація прегравідарної підготовки жінок з хронічним цервіцитом та дисгормональною ектопією шийки матки на тлі овуляторної дисфункції / Л.М. Семенюк, Л.В. Дем'яненко, О.В. Ларіна, Н.М. Воронкова // Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. – 2017. – Вип. 2. – С. 230–235.
16. Semeniuk, L.M., Demyanenko, L.V., Larina, O.V., Voronkova, N.M. "Optimization of pre-pregnancy training of women with chronic cervicitis and dyshormonal ectopia of the cervix on the background of ovulatory dysfunction." *Collection of scientific works of the Association of Obstetricians and Gynecologists of Ukraine* 2 (2017): 230–5.
17. Парницька, О.І. Порушення формування «вікна імплантації» у пацієнток із гіперпластичними процесами ендометрія / О.І. Парницька // Патологія. – 2013. – №3 (29). – С. 12–15.
18. Parnytska, O.I. "Violation of the formation of the 'implantation window' in patients with hyperplastic processes of the endometrium." *Pathology* 3 (2013): 12–5.
19. Акуленко, Л.В. Перспективи використання комплексної оцінки клініко-морфологічних даних в діагностиці і предгравідарної підготовці пацієнток з хронічним ендометритом / Л.В. Акуленко, І.Б. Манухін, Т.К. Мачарашвілі, Э.О. Ибрагимова // Лечачий врач. – 2015. – №5. – С. 72–76.
20. Akulenko, L.V., Manukhin, I.B., Macharashvili, T.K., Ibragimova, E.O. "Prospects for the use of a comprehensive assessment of clinical and morphological data in the diagnosis and pregravid preparation of patients with chronic endometritis." *Attending physician* 5 (2015): 72–6.
21. Сюсюка, В.Г. Роль скринингової ультразвукової діагностики в оцінці стану ендометрія / В.Г. Сюсюка, А.И. Островский, М.А. Разыграева // Матеріали ХХІХ Міжнародного конгресу з курсом ендоскопії «Нові технології гінекологічних захворювань в діагностиці і ліченні», 7–10 лютого 2016. – М.: МЕДИ Експо, 2016. – С. 73–75.
22. Siusiuka, V.G., Ostrovskiy, A.I., Razygraeva, M.A. "The role of screening ultrasound diagnostics in assessing the state of the endometrium." In: materials of the XXIX International Congress with a course of endoscopy "New technologies of gynecological diseases in diagnosis and treatment", June 7–10, 2016. Moscow. MEDI Expo (2016): 73–5.
23. Яроцький, М.Є. До питання оптимізації відновлення рецепторного потенціалу ендометрія пацієнток із синдромом полікістозних яєчників та звичним невиношуванням вагітності в анамнезі / М.Є. Яроцький, Л.М. Семенюк // Здоров'я жінчини. – 2016. – №1. – С. 162–166.
24. Yarotskiy, M.Y., Semeniuk, L.M. "On the question of optimizing the restoration of the receptor potential of the endometrium of patients with a history of polycystic ovary syndrome and habitual miscarriage." *Women's Health* 1 (2016): 162–6.
25. Aunapuu, M., Kibur, P., Järveots, T., et al. "Changes in Morphology and Presence of Pinopodes in Endometrial Cells during the Luteal Phase in Women with Infertility Problems: A Pilot Study." *Medicina (Kaunas)* 10.54.5 (2018). DOI:10.3390/medicina54050069
26. Choby, B.A. "Endometrial biopsy." In: Pfenninger's procedures for primary care, 4th ed. Elsevier eBook on VitalSource (2019): 879–87.
27. Qiong, Z., Jie, H., Yonggang, W., et al. "Clinical validation of pinopode as a marker of endometrial receptivity: A randomized controlled trial." *Fertil Steril* 108 (2017): 513–7. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.07.006
28. Kosej, N., Zakharenko, N., Herman, D. "Endometrial polyps in women of reproductive age: clinical and pathogenetic variations." *Georgian medical news* 12.273 (2017): 16–22.
29. Maybin, J.A., Critchley, H.O. "Menstrual physiology: implications for endometrial pathology and beyond." *Hum Reprod Update* 21.6 (2015): 748–61.
30. Okada, H., Tsuzuki, T., Shindoh, H., et al. "Regulation of decidualization and angiogenesis in the human endometrium: mini review." *J Obstet Gynaecol Res* 40.5 (2014): 1180–7. DOI: 10.1111/jog.12392
31. Revel, A. "Defective endometrial receptivity." *Fertil Steril* 97.5 (2012): 1028–32. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.03.039
32. Sharma, A., Kumar, P. "Understanding implantation window, a crucial phenomenon." *J Hum Reprod Sci* 5.1 (2012): 2–6.
33. Stepniak, A., Czuczwar, P. "3D Power Doppler vascular indices as a novel technique in assessing the outcome of minimally invasive techniques in uterine fibroids treatment." *Prz Menopauzalny* 16.4 (2017): 118–21. DOI: 10.5114/pm.2017.72755
34. Sudoma, I., Goncharova, Y., Zukin, V. "Optimization of cryocycles by using pinopode detection in patients with multiple implantation failure: preliminary report." *Reproductive BioMedicine Online* 22 (2011): 590–6.
35. Nosenko, E.N., Saenko, A.I., Parnitskaya, O.I., et al. "The particularities of pinopodes formation in endometrium depending on availability of chronic inflammatory and hyperproliferative processes in HIM in women good responders with unsuccessful attempts of assisted reproductive technology (ART) in anamnesis." *Modern problems of science and education* 6 (2014).
36. Kasius, J.C., Broekmans, F.J., Sie-Go, D.M., et al. "The reliability of the histological diagnosis of endometritis in asymptomatic IVF cases: a multicenter observer study." *Hum Reprod* 27.1 (2012): 153–8. DOI: 10.1093/humrep/der341
37. Veropotvelyan, P.M., Tsekmystrenko, I.S. "Clinical view of the ineffectiveness of IVF problem with endometrial receptivity." *Reproductive endocrinology* 33 (2017): 32–9. DOI: 10.18370/2309-4117.2017.33.32-39

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ПІНОПОДІЙ ЕНДОМЕТРІЯ ПІД ЧАС ЛЮТЕІНОВОЇ ФАЗИ В ЖІНОК ІЗ ПОПЕРЕДНЬОЮ НЕВДАЛОЮ ІМПЛАНТАЦІЄЮ

Ю.Г. Антипкін, д. мед. н., професор, академік НАМН України, директор ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України», президент Асоціації педіатрів України, м. Київ
 О.О. Литвак, к. мед. н., провідний науковий співробітник наукового відділу малоінвазивної хірургії ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС, м. Київ
 О.Г. Курик, д. мед. н., професор кафедри патологічної анатомії №1 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, м. Київ
 Г.П. Пасичник, к. мед. н., провідний науковий співробітник наукового відділу малоінвазивної хірургії ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС, м. Київ
 Ю.М. Бондаренко, мол. наук. співробітник лабораторії патоморфології ДУ «ПАГ ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України», м. Київ

Однією з передумов для успішної імплантації ембріона є наявність піноподій рецептивного ендометрія.

Мета дослідження: проаналізувати морфологічні зміни ендометрія в інфертильних жінок, зокрема дослідити апікальну поверхню епітеліальних клітин і формування піноподій.

Матеріали та методи. Було обстежено 12 пацієнок із попередньою невдалою імплантацією в анамнезі. Пацієнткам проводили гістероскопію з біопсією під внутрішньовенним наркозом на 20–24 день менструального циклу. Оцінювали морфологічну будову піноподій на поверхні епітелію ендометрія за допомогою скануючої електронної мікроскопії.

Результати. Серед досліджуваних біоптатів у 16,7% апікальна поверхня епітеліоцитів була пошкоджена. Крім того, у 41,7% морфологічна картина і зрілість залоз ендометрія не відповідала фактичному дню менструального циклу. Ступінь зрілості залоз у цих пацієнок був низьким, відповідно клінічно спостерігалася затримка менструального циклу. При ультраструктурному дослідженні простежувалися чіткі зміни в будові секретуючих і війчастих клітин у 33,3% препаратів. На апікальній поверхні секретуючих клітин спостерігалася відсутність або мала кількість мікрворсинок; ві війчастих клітин були вкорочені або подекуди зрощені між собою. Наявність піноподій – однієї з найважливіших складових імплантації, була виявлена лише у 50% пацієнок. Однак під час аналізу структури піноподій в інших пацієнок тільки у 33,3% учасниць були візуалізовані повністю розвинені, зрілі піноподії.

Висновки. Аналіз власних даних показав, що в ендометрії жінок із попередньою невдалою імплантацією мають місце певні морфологічні зміни, які фізіологічно проявляються затримкою лютеїнізуючої фази менструального циклу і, можливо, як результат – невідповідністю структури ендометрія і зрілості ембріона. Морфологічно час появи піноподій варіював в учасниць дослідження від 20 до 24 дня менструального циклу. Однак для вивчення взаємозв'язку експресії маркерів рецептивності й ультраструктурної будови в одному дослідженні необхідно вдосконалення дизайну і проведення подальших досліджень.

Ключові слова: інфертильність, піноподії, ендометрій, війчасті клітини, секретуючі клітини.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF ENDOMETRIAL PINOPODIA FORMATION DURING THE LUTEAL PHASE IN WOMEN WITH PREVIOUS UNSUCCESSFUL IMPLANTATION

Y.G. Antypkin, MD, professor, academician of the NAMS of Ukraine, director of the SI "O.M. Lukanova Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the NAMS of Ukraine", president of the Association of Pediatricians of Ukraine, Kyiv
 O.O. Lytvak, PhD, leading researcher, Scientific Department of Minimally Invasive Surgery, SSI of the State Administration of Affairs "Scientific and Practical Center for Preventive and Clinical Medicine", Kyiv
 O.G. Kuryk, MD, professor, Department of Pathological Anatomy No. 1, O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv
 G.P. Pasichnyk, PhD, leading researcher, Scientific Department of Minimally Invasive Surgery, SSI of the State Administration of Affairs "Scientific and Practical Center for Preventive and Clinical Medicine", Kyiv
 Y.M. Bondarenko, junior researcher, laboratory of pathomorphology, SI "O.M. Lukanova IPOG of the NAMS of Ukraine", Kyiv

Pinopodia of the receptive endometrium is one of the prerequisites for successful embryo implantation.

Study objective: to analyze the morphological changes of the endometrium in infertile women, in particular to investigate the apical surface of epithelial cells and pinopodia formation.

Materials and methods. 12 patients with a history of previous implantation failure were examined. Patients underwent hysteroscopy with biopsy under intravenous anesthesia on 20–24th day of the menstrual cycle. Morphological structure of pinopodia on the surface of the endometrial epithelium was evaluated by scanning electron microscopy.

Results. Apical surface of epitheliocytes was damaged in 16.7% studied biopsies. Morphological picture and maturity of the endometrial glands did not correspond to the actual day of the menstrual cycle in 41.7% biopsies. Degree of glands maturity in these patients was low, so there was a delay in the menstrual cycle. Ultrastructural examination showed clear changes in the structure of secretory and ciliary cells in 33.3%. On the apical surface of the secretory cells there was no or small number of microvilli; cilia of eyelashes were shortened or sometimes fused together. Pinopodia as a one of the most important components of implantation was detected in only 50% of patients. Only in 33.3% of participants visualized fully developed, mature pinopodia.

Conclusions. Analysis of own data showed that in the endometrium of women with previous unsuccessful implantation there are certain morphological changes, which are physiologically manifested by a delay in the luteinizing phase of the menstrual cycle and, possibly, as a result mismatch of endometrial structure and embryo maturity. Time of pinopodia onset in participants varied from 20 to 24 days of the menstrual cycle. It is necessary to improve the design and conduct further research to study the association between the expression of receptivity markers and ultrastructural structure.

Keywords: infertility, pinopodia, endometrium, ciliated cells, secretory cells.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПИНОПОДИЙ ЭНДОМЕТРИЯ ВО ВРЕМЯ ЛЮТЕИНОВОЙ ФАЗЫ У ЖЕНЩИН С ПРЕДЫДУЩЕЙ НЕУДАЧНОЙ ИМПЛАНТАЦИЕЙ

Ю.Г. Антипкин, д. мед. н., профессор, академик НАМН Украины, директор ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии им. акад. Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», президент Ассоциации педиатров Украины, г. Киев
 Е.О. Литвак, к. мед. н., ведущий научный сотрудник научного отдела малоинвазивной хирургии ГНУ «Научно-практический центр профилактической и клинической медицины» ГУД, г. Киев
 Е.Г. Курик, д. мед. н., профессор кафедры патологической анатомии №1 Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца, г. Киев
 Г.П. Пасичник, ведущий научный сотрудник научного отдела малоинвазивной хирургии ГНУ «Научно-практический центр профилактической и клинической медицины» ГУД, г. Киев
 Ю.М. Бондаренко, мл. науч. сотрудник лаборатории патоморфологии ГУ «ИПАГ им. акад. Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев

Одной из предпосылок для успешной имплантации эмбриона является наличие пиноподий рецептивного эндометрия.

Цель исследования: проанализировать морфологические изменения эндометрия у инфертильных женщин, в частности исследовать апикальную поверхность эпителиальных клеток и формирование пиноподий.

Материалы и методы. Были обследованы 12 пациенток с предыдущей неудачной имплантацией в анамнезе. Пациенткам проводили гистероскопию с биопсией под внутривенным наркозом на 20–24 день менструального цикла. Оценивалось морфологическое строение пиноподий на поверхности эпителия эндометрия с помощью сканирующей электронной микроскопии.

Результаты. Среди исследуемых биоптатов у 16,7% апикальная поверхность эпителиоцитов была повреждена. Кроме того, у 41,7% морфологическая картина и зрелость желез эндометрия не соответствовала фактическому дню менструального цикла. Степень зрелости желез у этих пациенток была низкой, соответственно клинически наблюдалась задержка менструального цикла. При ультраструктурном исследовании прослеживались четкие изменения в строении секреторирующих и ресничных клеток в 33,3% препаратів. На апикальной поверхности секреторирующих клеток наблюдалось отсутствие или малое количество микроворсинок; реснички ресничных клеток были укорочены или местами срослись между собой. Наличие пиноподий – одной из важнейших составляющих имплантации, было обнаружено лишь у 50% пациенток. Однако при анализе строения пиноподий у остальных пациенток только у 33,3% испытуемых были визуализированы полностью развитые, зрелые пиноподии.

Выводы. Анализ собственных данных показал, что в эндометрии женщин с предыдущей неудачной имплантацией имеют место определенные морфологические изменения, которые физиологически проявляются задержкой лютеинизирующей фазы менструального цикла и, возможно, как результат – несоответствием строения эндометрия и зрелости эмбриона. Морфологически срок появления пиноподий варьировал у участниц исследования от 20 до 24 дня менструального цикла. Однако для изучения взаимосвязи экспрессии маркеров рецептивности и ультраструктурных строений в одном исследовании необходимо совершенствование дизайна и проведение дальнейших исследований.

Ключевые слова: инфертильность, пиноподии, эндометрий, реснитчатые клетки, секреторирующие клетки.