5. Natsionalnye rekomendatsii Rossiyskogo nauchnogo meditsinskogo obshchestva terapevtov po diagnostike, lecheniyu i reabilitatsii patsientov s displaziymi soyedinitelnoy tkani. *Meditsinskiy Vestnik Severnogo Kavkaza*. – *Medical News of North Caucasus*. 2016;11(1):2-76.
6. Petunina N. A., Trukhina L. V. Bolesni schitovidnoy zhelezy. Moskva: «GEOTAR-Media»; 2011. 216 p.
7. Rasumov V. V. *Fundamentalnye issledovaniya*. – *Fundamental research*. 2006;1:36-37.
8. Yagoda A. V., Gladkich N. N. *Meditsinskiy Vestnik Severnogo Kavkaza*. – *Medical News of North Caucasus*. 2008;2:30-33.
9. Yagoda A. V., Gladkich N. N., Gladkich L. N. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. – *Cardiovascular therapy and prevention*. 2016;1(15):45-50.
10. Yakovlev V. M., Martynov A. I., Yagoda A. V. Kliniko-visualnaya diagnostika klappnykh sindromov i podklappnykh anomalii rasvitiya nasledstvennoy soyedinitelnotkannoy displasii serdca. Stavropol; 2014. 214 p.
11. Hofbauer L., Kuhne C., Viereck V. J. *Musculoskel. Neurol. Interact*. 2004;4:268-275.
12. Levine M. A. *Endo Dev*. 2003;6:14.
13. Sunycz J. A. *Ther. Clin. Risk. Manag*. 2008;4(4):827-836.
14. Zhang J., Lazer M. A. *Ann. Rev. Physiol*. 2000;62:439-466.

Сведения об авторе:

Санеева Галина Александровна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры эндокринологии, детской эндокринологии и диабетологии; тел.: 89624500540; e-mail: sun-stav@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2016

УДК 618.177:616.14-002-007.17

DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2016.11067>

ISSN 2073-8137

СИНДРОМ НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В СОЧЕТАНИИ С НАСЛЕДСТВЕННЫМИ ТРОМБОФИЛИЯМИ КАК ПРИЧИНА ПЕРВИЧНОГО ЖЕНСКОГО БЕСПЛОДИЯ

Е. А. Коган¹, В. Н. Николенко^{1,3}, А. С. Занозин¹, Т. А. Демур¹, Д. Ю. Колосовский²

¹ Первый Московский государственный медицинский университет
имени И. М. Сеченова, Россия

² ООО «Гематологический кабинет доктора Димитрия Колосовского», Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Россия

THE SYNDROME OF UNDIFFERENTIATED CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA IN A COMBINATION WITH HEREDITARY THROMBOPHILIA AS A CAUSE OF PRIMARY FEMALE INFERTILITY

Kogan E. A.¹, Nikolenko V. N.^{1,3}, Zanozin A. S.¹, Demura T. A.¹, Kolosovsky D. Yu.²

¹ First Moscow State Medical University named after I. M. Sechenov, Russia

² Hematology office of Dr. Demetrios Kolosovsky, Moscow, Russia

³ Moscow State University named after M. V. Lomonosov, Russia

Изучены морфологические и иммунофенотипические особенности эндометрия у пациенток с первичным бесплодием на фоне синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани (нДСТ) и наследственных тромбофилий (НТ). Исследование выполнено на пайпель-биоптатах эндометрия, взятых в «окно имплантации» от 81 пациентки с клиническим диагнозом нДСТ (13 женщин), с НТ (40), с сочетанием нДСТ и НТ (19) и группы контроля – здоровых суррогатных матерей (9). Проводилось морфологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследование парафиновых срезов биоптатов эндометрия. Иммуногистохимические реакции осуществлялись с первичными антителами к ER, PgR, LIF, PAI-1, VEGF, Collagen I, Collagen III, fibronectin, laminin, MMP-2, MMP-9. В группах нДСТ, НТ, нДСТ+НТ выявлены признаки снижения рецептивности эндометрия в виде уменьшения процента зрелых пиноподий, замедления созревания эндометрия, снижения экспрессии маркера рецептивности LIF и отклонения стромального прогестерон-эстрогенового индекса от нормы. В строме эндометрия выявлялись очаги склероза с накоплением коллагена III типа. Синдромы нДСТ и НТ и их сочетание являются нередко сочетанной патологией и факторами риска развития бесплодия у женщин. При синдроме нДСТ замедляются процессы ремоделирования соединительной ткани, что приводит к усилению процессов склероза эндометриальной стромы, снижению рецептивности эндометрия и бесплодию. Наиболее выраженные изменения морфологических и иммунофенотипических характеристик развиваются при нДСТ+НТ.

Ключевые слова: дисплазия соединительной ткани, наследственные тромбофилии, женское бесплодие

Morphological and immunophenotypic features of the endometrium in patients with primary infertility at the background of undifferentiated connective tissue dysplasia (uCTD) syndrome and hereditary thrombophilia (HT) are studied. The study was performed on paypel-biopsies of the endometrium, taken in the "window of implantation" from 81 patients with a clinical diagnosis uCTD (13 women), with HT (40), with a combination of uCTD and HT (19) and the control group – healthy surrogate mothers (9). Morphological, immunohistochemical and morphometric study of paraffin sections of biopsies of the endometrium was conducted. Immunohistochemical reactions were carried out with primary antibodies against ER, PgR, LIF, PAI-1, VEGF, Collagen I, Collagen III, fibronectin, laminin, MMP-2, MMP-9. Groups uCTD, NT, NT + uCTD showed signs of reducing of endometrial receptivity in the form of reducing the percentage of mature pinopodies, slowing of endometrial maturation, receptivity expression of marker LIF decrease and deviation of stromal progesterone-estrogen index from the norm. Sclerosis foci with the accumulation of type III collagen were detected in the endometrial stroma. Syndromes of uCTD and NT, and their combinations are frequently comorbidity and risk factors of infertility in women. The uCTD syndrome slows down the process of remodeling of the connective tissue, which leads to increased process of endometrial stroma sclerosis, endometrial receptivity reduce and infertility. The most pronounced changes in the morphological and immunophenotypic characteristics develop in uCTD + HT.

Key words: connective tissue dysplasia, hereditary thrombophilia, female infertility

Женщины, страдающие синдромом недифференцированной дисплазии соединительной ткани (ндСТ) и наследственными тромбофилиями (НТ), имеют высокий риск первичного и вторичного бесплодия, а также высокий риск неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [1, 3, 5]. Тромбофилия – необычная склонность к тромбозу с ранним возрастным началом, отягощенностью семейного анамнеза, степенью тяжести тромбоза, непропорциональной известному причинному фактору и с эпизодами рецидивов [2].

НДСТ и НТ нередко являются сочетанной патологией, что обусловлено общностью молекулярно-генетических механизмов развития с участием коллагена I типа и PAI-1 [7]. Однако до сих пор остаются неясными морфологические и молекулярно-генетические особенности эндометрия, в первую очередь, его стромы, влияющие на рецептивность эндометрия у пациенток с НТ и ндСТ.

Целью исследования явилось изучение морфологических и иммунофенотипических особенностей эндометрия у пациенток с первичным бесплодием на фоне наследственных тромбофилий и синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани.

Материал и методы. Исследование выполнено на пайпель-биоптатах эндометрия, взятых в «окно имплантации» (6–8-й день после овуляции по данным УЗИ) от 81 пациентки, разделенных на 4 группы: группа 1 – 19 пациенток с клиническим диагнозом ндСТ (средний возраст $31,9 \pm 4,5$ лет), группа 2 – 40 пациенток с клиническим диагнозом НТ (средний возраст $32,6 \pm 4,8$ лет), группа 3 – 13 пациенток с сочетанием клинических диагнозов ндСТ и НТ (средний возраст $32,3 \pm 4,7$ лет) и группа 4 (группа контроля), состоящая из 9 здоровых суррогатных матерей.

Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине и заливали в парафин. Приготавливали ступенчатые парафиновые срезы толщиной 4 мкм. Часть срезов окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, толуидиновым синим. Ставились иммунопероксидазные реакции со следующими первичными антителами: к Collagen I (polyclonal rabbit antibody, 1:500, GeneTex, USA), Collagen III (polyclonal rabbit antibody, 1:1000, GeneTex, USA), Fibronectin (rabbit antibody, 1:100, Dako, Denmark), Laminin $\beta_2\gamma_1$ (mouse monoclonal antibody, 1:200, GeneTex, USA), MMP-2 (polyclonal rabbit antibody, 1:200, Abbiotec, USA), матричной метал-

лопротеиназе (MMP)-9 (polyclonal rabbit antibody, 1:200, Abbiotec, USA), к рецепторам эстрогена (ER, clone 1D5, Dako, Denmark, ready-to-use), к рецепторам прогестерона (PgR, clone 636, Dako, Denmark, ready-to-use), к белку антагониста тканевого активатора плазминогена – 1 (PAI-1) (PAI-1, cloneH-135, разведение 1:100, SantaCruz, USA), к белку сосудисто-эндотелиального фактора роста – A (VEGF-A) (разведение 1:100, Abbiotec, USA), к белку LIF (разведение 1:100, Sigma, Sweden).

Морфометрическое исследование очагов склероза проводили с помощью микроскопа Zeiss Axio-plan imaging2, оборудованного фотокамерой Zeiss AxioCam Hrc, и программного обеспечения AxioVision v.4.6.2.

Оценку степени экспрессии маркеров LIF, PAI-1, VEGF, MMP-2, MMP-9, fibronectin, laminin осуществляли посредством подсчета окрашенных клеток одного типа в процентах и баллах по общепринятой методике [4]. Для каждой из групп рассчитывался средний балл экспрессии маркеров MMP-2, MMP-9, fibronectin, LIF, PAI-1, VEGF, laminin и стандартное отклонение. Оценку экспрессии ER, PgR осуществляли с помощью шкалы HistoScore [4]. Статистическое исследование проводили с помощью пакетов программ IBM SPSS Statistics 22 и MS Excel, а также критериев Манна – Уитни, Краскала – Уоллеса, поскольку в группах отсутствовало Гауссовское распределение.

Результаты. При морфологическом исследовании установили, что процент зрелых пиноподий – булавовидных выростов эпителиоцитов слизистой оболочки матки в поверхностном слое эндометрия – был снижен: в 1-й группе было выявлено в среднем 5 % зрелых пиноподий в поверхностном эпителии эндометрия, во 2-й и 3-й – по 1 %, в 4-й группе – 13 % зрелых пиноподий.

При окраске толуидиновым синим в группах 1 и 3 в строме эндометрия были выявлены очаги фиолетовой метакромазии – признаки мукоидного набухания (рис. 1). В группах 2 и 3 во всех исследованных случаях имелись сладж-феномен и кровоизлияния в микроциркуляторном русле стромы эндометрия. При оценке суммарной площади очагов склероза при окраске пикрофуксином по Ван Гизону в 3-й группе они составляли наибольший процент – в среднем, 1,77 % от всей площади препарата; в 1-й и 2-й группах он отличался незначительно – 0,85 и 1,05 % соответственно, в группе контроля очаги склероза выявлены не были.

Рис. 1. Признаки дезорганизации соединительной ткани в строме эндометрия при нДСТ и НТ, х400: а) группа 1; б) группа 2; в) группа 3; г) группа 4

На основании морфологического исследования было установлено, что в исследуемых группах, особенно в группе 3, замедлены процессы созревания эндометрия, выражающиеся в более частом выявлении морфологических стадий ранней секреции и пролиферации в период «окна имплантации» (табл.). Найдено также снижение среднего процента зрелых пиноподий в поверхностном эпителии эндометрия в исследуемых группах, особенно в группах 2 и 3, по сравнению с группой контроля. В группах 1 и 3 выявили очаги дезорганизации соединительной ткани – мукоидное набухание – стромы эндометрия при окраске толуидиновым синим. В группах 1–3 были выявлены мелкие очаги фибриноидного некроза стромы и очаги склероза стромы эндометрия. В группе 3 выявлены очаги склероза наибольших размеров, что подтверждается данными морфометрии – наибольшим соотношением между суммарной площадью очагов склероза стромы и общей площадью препарата.

Рис. 2. Экспрессия коллагена 3 типа в строме эндометрия, х400: а) группа 1; б) группа 2; в) группа 3; г) группа 4

Таблица
Распределение материала в группах по морфологическим стадиям эндометрия в период «окна имплантации», %

Группа	Фаза пролиферации	Ранняя стадия фазы секреции	Средняя стадия фазы секреции	Всего
нДСТ	0	38	62	100
НТ	25	36	39	100
нДСТ+НТ	37	47	16	100
Контроль	0	22	78	100

На основании результатов иммуногистохимического исследования выявлено снижение показателей рецептивности эндометрия (дисбаланс ER и PgR, эпителиальная экспрессия LIF), что было показано нами ранее [4]. Анализ экспрессии PAI-1 и VEGF показал увеличенную вероятность тромбоза и склероза стромы эндометрия в исследуемых группах, при этом в группах с НТ ангиогенез усиливается, а в группах с нДСТ наоборот, ослабляется. Ослабление ангиогенеза свидетельствует, в свою очередь, о снижении трофики стромы эндометрия при нДСТ. Изменение содержания матриксных металлопротеиназ,

коллагена 1 и 3 типа, фибронектина и ламинина в строме эндометрия показало, что при нДСТ и НТ происходит замедление созревания стромы эндометрия в ходе менструального цикла, а также замедление ремоделирования эндометриальной стромы (рис. 2).

Обсуждение. В результате исследования уточнен морфологический субстрат нарушений рецептивности эндометрия при нДСТ и НТ. Изменения фазы менструального цикла, частота выявления дисциркуляторных расстройств и очагов склероза в строме эндометрия, изменения числа зрелых пиноподий и других морфологических особенностей, влияющих на рецептивность эндометрия, сопоставимы с полученными в нашем предыдущем исследовании [4].

Очаги склероза, по нашему мнению, являются результатом рубцевания мелких очагов некроза и имеют двоякую природу: при нДСТ отражают процессы дезорганизации соединительной ткани (фибриноидный некроз), тогда как при НТ являются следствием микроинфарктов.

Кроме того, дезорганизация соединительной ткани негативно влияет на процессы созревания коллагена 3 и 4 типа, формирующегося при обязательном участии ламинина и являющегося одним из основных компонентов эндометриальной стромы, что, в свою очередь, препятствует созреванию эндометрия и приводит к появлению в «окне имплантации» эндометрия стадии пролиферации. Важным является снижение экспрессии MMP-2, которая необходима для имплантации бластоцисты [6].

Заключение. Синдромы нДСТ и НТ и, особенно, их сочетание повышают риск развития первичного бесплодия у женщин в результате нарушения рецептивности эндометрия. При синдроме нДСТ существенно замедляются процессы ремоделирования соединительной ткани, что может приводить к усилению процессов склероза эндометриальной стромы, снижению рецептивности эндометрия и к бесплодию. Установлено, что наиболее выраженные изменения морфологических и иммунофенотипических характеристик развиваются при сочетании нДСТ и НТ. Полученные данные могут быть использованы для прогноза и разработки новых методов лечения бесплодия у пациенток с нДСТ+НТ.

Литература

1. Демура, Т. А. Морфофункциональные и молекулярно-генетические особенности недифференцированной формы дисплазии соединительной ткани в акушерско-гинекологической практике : дис. ... д-ра мед. наук / Демура Т. А. – Москва, 2014. – 224 с.
2. Момот, А. П. Эволюция представлений о тромбофилии и ее роли в проблемах репродукции человека / А. П. Момот, И. А. Тараненко, Л. П. Цывкина // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 2. – С. 4–9.
3. Coulam, C. B. Multiple thrombophilic gene mutations are risk factors for implantation failure / C. B. Coulam, R. S. Jeyendran, L. A. Fishel, R. Roussev // *Reprod Biomed Online*. – 2006. – Vol. 12, № 3. – P. 322–327.
4. Demura, T. A. The role of inherited thrombophilia and undifferentiated connective tissue dysplasia syndrome

- in the pathogenesis of female infertility: A clinical and morphological study / T. A. Demura, E. A. Kogan, A. S. Zanozin [et al.] // *Ark. Patol.* – 2015. – Vol. 77, № 4. – P. 3–10.
5. Grandone, E. Inherited thrombophilia and in vitro fertilization implantation failure / E. Grandone, D. Colaizzo, A. Lo Bue [et al.] // *Fertil Steril.* – 2001. – Vol. 76, № 1. – С. 201–202.
6. Huppertz, B. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases (MMP), their substrates, and their inhibitors (TIMP) during trophoblast invasion in the human placenta / B. Huppertz, S. Kertschanska, A. Y. Demir [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 1998. – Vol. 291, № 1. – С. 133–148.
7. URL: <http://ghr.nlm.nih.gov/BrowseGenes>

References

1. Demura T. A. Morfofunktsionalnye i molekulyarnogeneticheskiye osobennosti nedifferentsirovannoy formy displazii soyedinitel'noy tkani v akushersko-ginekologicheskoy praktike: diss. ... d-ra med. nauk. Moskva; 2014. 224 p.
2. Momot A. P., Taranenko I. A., Tsyvkina L. P. *Akusherstvo i ginekologiya. – Obstetrics and gynecology.* 2013;2:4-9.
3. Coulam C. B., Jeyendran R. S., Fishel L. A., Roussev R. *Reprod Biomed Online.* 2006;12(3):322-327.

4. Demura T. A., Kogan E. A., Zanozin A. S., Kolosovsky D. Y., Faizullina N. M., Kalinina E. A. *Ark. Patol.* 2015;77(4):3-10.
5. Grandone E., Colaizzo D., Lo Bue A., Checchia M. G., Cittadini E., Margaglione M. *Fertil Steril.* 2001;76(1):201-202.
6. Huppertz B., Kertschanska S., Demir A. Y., Frank H. G., Kaufmann P. *Cell Tissue Res.* 1998;291(1):133-148.
7. URL: <http://ghr.nlm.nih.gov/BrowseGenes>

Сведения об авторах:

Коган Евгения Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии им. акад. А. И. Струкова; тел.: 89265331271; e-mail: koganavg@gmail.com

Николенько Владимир Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии МГУ им. М. В. Ломоносова; тел.: 89647751134; e-mail: nikolenko@mma.ru

Занозин Александр Сергеевич, аспирант кафедры патологической анатомии им. акад. А. И. Струкова; тел.: 89670181598; e-mail: zanozinshurik@yandex.ru

Демура Татьяна Александровна, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии им. акад. А. И. Струкова; тел.: 89263429197; e-mail: demurs-t@yandex.ru

Колосовский Дмитрий Юрьевич, врач-гематолог; тел.: 89150009506; e-mail: dimitrii_kolosov@mail.ru

© Коллектив авторов, 2016

УДК 616-092.12:616.585

DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2016.11068>

ISSN – 2073-8137

ЯВЛЯЕТСЯ ЛИ ДИСПЛАЗИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРЕДИКТОРОМ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ? (РЕЗУЛЬТАТЫ 5-ЛЕТНЕГО МОНИТОРИНГА)

Н. Ю. Кононова¹, Т. Е. Чернышова², С. Н. Стяжкина²

¹ Доктор плюс, LLC, Ижевск, Россия

² Ижевская государственная медицинская академия, Россия

IS CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA A PREDICTOR OF PREMATURE AGING? (THE RESULTS OF THE FIVE-YEAR MONITORING)

Kononova N. Yu.¹, Chernyshova T. E.², Styazhkina S. N.²

¹ ООО «Doctor Plus», Izhevsk, Russia

² Izhevsk State Academy of Medicine, Russia

Обсуждаются проблемы ранней диагностики недифференцированной дисплазии соединительной ткани как возможного предиктора преждевременного старения в онтогенезе. Представлено также пятилетнее наблюдение за женщинами с диагностированным ускоренным старением.

Ключевые слова: преждевременное старение, недифференцированная дисплазия соединительной ткани, антропометрическое исследование