

## Комплексный подход к диагностике хронического эндометрита

*Лызикова Ю. А.*

*Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»,  
г. Гомель, Республика Беларусь*

**Реферат.** Хронический эндометрит ассоциирован с нарушением репродуктивной функции, а частота его выявления зависит от использованного метода диагностики, что обуславливает необходимость усовершенствования мероприятий по выявлению заболевания. Публикация посвящена комплексному подходу к диагностике хронического эндометрита. Использование иммуногистохимического метода в диагностике заболевания позволяет не только выявить патологию, но и определить локальные иммунные и гормональные нарушения. Диагностика этиологического фактора с использованием трех методов может быть применена в лабораториях различной оснащенности. Определение уровней альфа-2 микроглобулина фертильности в ткани эндометрия и сыворотке крови позволяет определить степень функциональных нарушений, вызванных воспалением.

**Ключевые слова:** хронический эндометрит, иммуногистохимическое исследование, альфа-2 микроглобулин фертильности, микробиологическое исследование, секвенирование 16spРНК.

**Введение.** Частота хронического эндометрита колеблется от 2 до 70 %, она выше в группе пациенток с нарушением репродуктивной функции и зависит от использованного метода диагностики. В некоторых случаях частота заболевания отличается у одних и тех же авторов. Так, согласно данным *E. Cicinelli* и соавт., полученных в 2015 г., частота хронического эндометрита у пациенток с привычным



невывашиванием достигает 30,3 %, в 2017 г. этими же авторами установлена уже более высокая частота заболевания у пациенток с невынашиванием — 56,8 % [1, 2]. Отмечаются также различия в значениях частоты хронического эндометрита при использовании различных методов диагностики в той же группе пациенток. Так, с помощью гистероскопии выявлено 57,72 % случаев, с помощью иммуногистохимического окрашивания с определением плазматических клеток, частота выявления заболевания составила 69,72 % [3].

Хронический эндометрит приводит к нарушению репродуктивной функции, однако данные о частоте осложнений также неоднозначны. Несмотря на общепризнанное мнение о том, что хронический эндометрит ассоциирован с замершей беременностью, в настоящее время это утверждение подвергается дискуссии. Так, в 2020 г. Н. В. Батрак с соавт. проведено патоморфологическое исследование материала, полученного при выскабливании полости матки у пациенток с замершей беременностью и самопроизвольным прерыванием беременности в различных сроках. Всем пациенткам произведена дополнительно диагностика хронического эндометрита. Авторами установлено, что у пациенток с замершей беременностью наблюдается нарушение дифференцировки ворсин с нарушением их васкуляризации, что является морфологическим подтверждением возможной хромосомной патологии. Причиной репродуктивных потерь в виде самопроизвольного выкидыша явилось хроническое воспаление эндометрия [4].

Одним из маркеров функционального состояния эндометрия является  $\alpha 2$ -микроглобулин фертильности (АМГФ), или гликоделин А, который представляет собой димерный гликопротеин, продуцируемый железами секреторного эндометрия. Функция АМГФ заключается в иммуносупрессивном влиянии на эндометрий и локальном подавлении иммунного ответа матери на развивающийся эмбрион, необходимый для имплантации и при сохранении беременности [5].

Наиболее значимой ролью АМГФ является его регуляторная роль в функционировании иммунных клеток в эндометрии, необходимых для поддержания беременности, однако определение данного гликопротеина проводится в сыворотке крови. В литературных источниках отсутствуют данные о величине данного показателя в эндометрии в норме и при воспалении.

Таким образом, данные о распространенности заболевания малочисленны и противоречивы, что, вероятно, обусловлено разными подходами и критериями диагностики. Накопленные научным сообществом данные свидетельствуют о том, что проблема диагностики хронического эндометрита актуальна, ассоциирована с нарушением репродуктивной функции и требует систематизации данных и разработки диагностического алгоритма с использованием современных высокоинформативных методов исследования.

**Материалы и методы.** Обследовано 340 пациенток репродуктивного возраста, всем пациенткам проведено иммуногистохимическое и гистологическое исследование эндометрия. Биопсию эндометрия у пациенток обеих групп производили в зависимости от длительности менструального цикла на 7–9-й день после овуляции с помощью аспирационной кюретки ProfiCombi (ЗАО «Медицинское предприятие “Симург”», Беларусь). Диагноз хронический эндометрит выставлялся по результатам иммуногистохимического исследования с определением экспрессии: CD 56, Fox P3, CD 138, CD 68, CD 86, ER, PR.

Молекулярно-генетический анализ материала из полости матки проводили методом ПЦР. Для выделения ДНК, проведения ПЦР использовали наборы торговой марки «АмплиСенс» производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Россия). Для выявления этиологического фактора воспаления использованы наборы для молекулярно-генетического тестирования: АмплиПрайм ДНК-сорб-АМ, АмплиПрайм Флороценоз-Бактериальный вагиноз, АмплиПрайм Флороценоз-Аэробы, АмплиСенс CMV, АмплиСенс HSV I, II-FL, Амплисенс *Trichomonas vaginalis*, Амплисенс *Neisseria gonorrhoeae* (ООО «ИЛС»).

Для проведения культурального исследования пробы из полости матки засеивали на питательные среды, равномерно распределяя их микробиологической петлей на 1/4 поверхности чашек Петри с кровяным агаром, средой ЖСА, средой Эндо, средой Сабуро. Далее чашки Петри поворачивались, и стерильной петлей производился посев штрихом через участок вторичной инокуляции на третий квадрант. Чашки вновь поворачивались, и стерильной петлей рассеивался материал с третьего квадранта на четвертый, причем последними несколькими штрихами, не возвращаясь к третьему квадранту. С целью обнаружения анаэробных микроорганизмов производился посев на чашку Петри с анаэробным агаром и помещался в контейнер с газогенерирующим пакетом Genbag anaer (bioMérieux, Франция). Оставшийся материал использовался для посева на среду обогащения

(тиогликолевая среда). Инкубация посевов производилась при температуре 35–37 °С и 5%-м содержании CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub>-инкубатор Nuairе NU-4950E, США) в течение 24–48 ч, в анаэробных условиях в течение 72 ч.

При появлении роста на плотных питательных средах проводили учет характера роста колоний различной морфологии на секторах. При этом рост колоний микроорганизмов только на I секторе оценивался как скудный рост; на I–II секторах — умеренный рост; на III–IV секторах — массивный рост. Затем колонии отбирались для приготовления мазков, окрашенных по Граму. В соответствии с данными бактериоскопии выбирались необходимые идентификационные карты с биохимическими углеводными тестами для определения микроорганизмов. Видовую идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с помощью автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact на идентификационных картах VITEK — 2GN, 2GP, 2YST (bioMérieux, Франция). Определение чувствительности к антибактериальным препаратам выполняли на анализаторе VITEK 2 Compact с использованием диагностических карт 2AST-N 215, 2AST-XN-05, 2AST-GP 67, 2AST-P580, 2AST-YST.

С целью определения этиологического фактора воспаления методом секвенирования фрагмента гена 16s рРНК проводили выделение ДНК из биоптатов эндометрия с применением готовых коммерческих наборов согласно инструкции производителя. В качестве положительного контроля использовали паспортизованные чистые бактериальные культуры (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). Параллельно выполняли субкультивирование биоптатов эндометрия с последующей идентификацией полученных смешанных культур.

Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью горизонтального гель-электрофореза, для окрашивания применяли раствор бромистого этидия. Визуализация проводилась с помощью видеосистемы фирмы Bio-Rad (США) GelDocXR, для переноса изображения на компьютер и регистрации протоколов использовали программу QuantiOne. По результатам молекулярно-генетического анализа, направленного на выявление бактериальной ДНК, для каждого исследованного образца был получен электрофоретический спектр ампликонов, характеризующийся наличием нескольких фракций в диапазоне около 900 пар нуклеотидов, что свидетельствовало о содержании генетического материала более чем одного видов микроорганизмов. Для идентификации микроорганизмов использовали метод секвенирования по Сэнгеру. Электрофоретическое разделение продуктов секвенирующей реакции проводили с помощью генетического анализатора ABI PRISM 310 фирмы Applied Biosystems (США), используя реагенты той же фирмы [6].

В сыворотках крови методом ИФА оценена концентрация АМГФ с использованием набора (Human PP14 ELISA Kit, «Elabscience») (согласно инструкции производителя) и микропланшетного фотометра Sunrise Tecan (Австрия). В образцах эндометрия методом ИФА определен уровень АМГФ с использованием набора (Human PP14 ELISA Kit, Elabscience) [7].

**Результаты и их обсуждение.** Хронический эндометрит диагностирован у 230 (67,65 %) пациенток, они составили основную группу. Группу сравнения составили 110 (32,35 %) пациенток, у которых иммуногистохимическая и гистологическая картина эндометрия соответствовала нормальному эндометрию.

Самым распространенным репродуктивным нарушением в основной группе было бесплодие, выявленное у 137 (59,57 %) пациенток с хроническим эндометритом и у 36 (32,73 %) пациенток группы сравнения ( $\chi^2 = 20,39$ ;  $p < 0,001$ ). В структуре репродуктивных нарушений в основной группе превалировало вторичное бесплодие, диагностированное у 89 (47,59 %) женщин ( $\chi^2 = 30,18$ ;  $p < 0,001$ ). У 15 (6,52 %) пациенток основной группы и у 3 (2,73 %) группы сравнения в анамнезе была одна замершая беременность ( $\chi^2 = 0,31$ ;  $p = 0,486$ ). Две замершие беременности было у 5 (2,17 %) пациенток с хроническим эндометритом, в группе сравнения данная патология не встречалась ( $\chi^2 = 1,16$ ;  $p = 0,281$ ). Три замершие беременности в анамнезе были у 3 (1,30 %) пациенток с хроническим эндометритом ( $\chi^2 = 1,45$ ;  $p = 0,559$ ). При сравнении частоты замершей беременности не выявлено статистически значимых различий между группами. Таким образом, полученные данные не подтверждают связь хронического воспалительного процесса полости матки с замершей беременностью.

Самопроизвольный выкидыш в анамнезе был у 21 (9,13 %) пациентки с хроническим эндометритом и у 3 (2,73 %) пациенток группы сравнения ( $\chi^2 = 3,73$ ;  $p = 0,053$ ). Преждевременные роды и ранняя неонатальная гибель плода были у одной (0,43 %) пациентки с хроническим эндометритом ( $\chi^2 = 0,14$ ;  $p = 0,705$ ). Преждевременные роды с благоприятным исходом были у одной (0,91 %) пациентки группы сравнения ( $\chi^2 = 0,14$ ;  $p = 0,705$ ).



Случаи антенатальной гибели плода встречались в обеих группах: в основной группе с частотой 3 (1,30 %), в группе сравнения у одной (0,91 %) пациентки ( $\chi^2 = 0,05$ ;  $p = 0,824$ ). Преждевременные роды и самопроизвольный выкидыш были у 2 (0,87 %) пациенток с хроническим эндометритом ( $\chi^2 = 0,05$ ;  $p = 0,823$ ).

Таким образом, в структуре репродуктивных нарушений в основной группе превалировало вторичное бесплодие, диагностированное у 89 (47,59 %) женщин ( $\chi^2 = 30,18$ ;  $p < 0,001$ ). Среди пациенток с бесплодием и хроническим эндометритом 13 (9,49 %) использовали ВРТ, бесплодные пациентки группы сравнения данные методы лечения не использовали ( $\chi^2 = 5,93$ ;  $p = 0,014$ ). Все указанные пациентки прибегали к вспомогательным репродуктивным технологиям три и более раза, у одной (0,73 %) бесплодной женщины основной группы в анамнезе было семь неэффективных попыток ЭКО.

При сравнении исходов беременности у пациенток с вторичным бесплодием обеих групп не получено статистически значимых различий. Замершая беременность была у 23 (12,30 %) пациенток основной группы с бесплодием, в группе сравнения такая патология встречалась у 3 (6,67 %) пациенток ( $\chi^2 = 4,59$ ;  $p = 0,032$ ). Одна замершая беременность была у 15 (8,02 %) пациенток с хроническим эндометритом и 3 (6,67 %) пациенток группы сравнения ( $\chi^2 = 1,45$ ;  $p = 0,229$ ). Две замершие беременности были у 5 (2,67 %) пациенток основной группы, в группе сравнения данная патология не встречалась ( $\chi^2 = 1,16$ ;  $p = 0,281$ ). У 3 (1,60 %) пациенток с хроническим эндометритом было три замершие беременности ( $\chi^2 = 0,34$ ;  $p = 0,559$ ). У 23 (12,30 %) пациенток основной группы и 3 (6,67 %) пациенток группы сравнения была хотя бы одна замершая беременность в анамнезе.

Диагностика этиологического фактора воспаления проводилась тремя способами. Методом секвенирования 16srРНК обследовано 128 пациенток — 91 женщина основной группы и 37 — группы сравнения. Культуральное исследование материала из полости матки проведено 131 пациентке, 101 пациентке основной группы и 30 пациенткам группы сравнения. Методом ПЦР обследованы 81 пациентка, 38 пациенток основной группы, 43 группы сравнения. Путем секвенирования участков гена 16srРНК определен генетический материал микроорганизмов в полости матки у 34 (91,89 %) пациенток без хронического эндометрита и у 83 (91,21 %) пациенток основной группы ( $p = 0,753$ ). Однако у 26 (70,27 %) пациенток группы сравнения выделен один вид микроорганизмов ( $\chi^2 = 29,11$ ;  $p < 0,001$ ), в основной группе у 45 (52,75 %) определено сочетание четырех и более микроорганизмов ( $\chi^2 = 21,21$ ;  $p < 0,001$ ). При использовании микробиологического метода исследования в микроорганизмы в полости матки статистически значимо чаще выявлялись у пациенток с хроническим эндометритом ( $\chi^2 = 17,85$ ;  $p < 0,001$ ). Для пациенток основной группы характерен массивный рост микроорганизмов, для группы сравнения — скудный ( $\chi^2 = 16,50$ ;  $p < 0,001$ ). В основной группе выявлены микроорганизмы в полости матки методом ПЦР у 21 (55,26 %) пациентки, в группе сравнения — у 7 (16,28 %) ( $\chi^2 = 11,89$ ;  $p = 0,001$ ).

С целью оценки имплантационной способности эндометрия при хроническом эндометрите было проведено исследование уровня альфа-2-микроглобулина фертильности в сыворотке крови и ткани эндометрия. Уровень АМГФ (альфа-2 микроглобулина фертильности) в сыворотке крови у пациенток с хроническим эндометритом составил 12,77 (0,00; 24,44) нг/мл, что статистически значимо ниже по сравнению с группой сравнения (16,84 (12,41; 30,55) нг/мл ( $z = -3,85$ ;  $p = 0,001$ ). Поскольку АМГФ секретируется эндометрием и изменения его продукции могут не отражаться на системном уровне, было проведено исследование АМГФ в ткани эндометрия. Уровень АМГФ в ткани эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом составил 0,59 (0,05; 1,04) нг/мл, что статистически значимо ниже по сравнению с группой сравнения (0,99 (0,57; 1,62) нг/мл ( $z = -3,01$ ;  $p = 0,002$ )).

Расчет ОР (относительного риска) выявил, что параметрами, статистически значимо влияющими на развитие хронического эндометрита, явились уровень АМГФ в сыворотке крови  $\leq 9,50$  нг/мл (ОР = 3,51; 95% ДИ 2,146–5,751,  $p < 0,001$ ), АМГФ в ткани эндометрия  $\leq 0,76$  нг/мл (ОР = 1,12; 95% ДИ 1,048–1,211,  $p = 0,001$ ).

**Заключение.** В определении этиологического фактора воспаления использованы различные виды исследования, с использованием микробиологического метода микроорганизмы статистически значимо чаще определялись у пациенток с хроническим эндометритом ( $\chi^2 = 23,10$ ;  $p < 0,001$ ).

Различия в частоте выявления микроорганизмов при использовании микробиологического метода и метода секвенирования 16srРНК объясняется наличием в составе биоценоза эндометрия труднокультивируемых видов бактерий. Полученные данные свидетельствуют о статистически зна-



чимом низким уровне АМГФ в сыворотке крови и в ткани эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом. Выявленные особенности имеют негативное влияние на течение репродуктивных нарушений, ассоциированных с воспалением. Таким образом, для диагностики хронического эндометрита целесообразно применять комплексный подход, позволяющий определить этиологический фактор и степень выраженности функциональных нарушений.

### Литература

1. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy / E. Cicinelli [et al.] // *Human Reproduction*. — 2015. — Vol. 30, № 2. — P. 323–330.
2. Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenetic link / E. Cicinelli [et al.] // *Fertility & Sterility*. — 2017. — Vol. 108(2). — P. 289–295.
3. Confirmation of chronic endometritis in repeated implantation failure and success outcome in IVF-ET after intrauterine delivery of the combined administration of antibiotic and dexamethasone / Y. Zhang [et al.] // *American J. of Reproductive Immunology*. — 2019. — Vol. 82. — P. 13177.
4. Медико-социальные факторы и патогенетические механизмы ранней потери беременности у женщин с привычным невынашиванием беременности / Н. В. Батрак [и др.] // *Акушерство и гинекология*. — 2020. — № 7. — С. 79–85.
5. Glycodelin-A stimulates the conversion of human peripheral blood CD16–CD56bright NK cell to a decidual NK cell-like phenotype / C. L. Lee [et al.] // *Human Reproduction*. — 2019. — Vol. 34, № 4. — P. 689–701.
6. Результаты идентификации микроорганизмов в полости матки с помощью метода секвенирования фрагмента гена 16рРНК / Ю. А. Лызикова [и др.] // *Проблемы здоровья и экологии*. — 2018. — № 4(58). — С. 24–30.
7. Лызикова, Ю. А. Определение  $\alpha$ 2-микροглобулина фертильности в сыворотке крови и ткани эндометрия как маркера хронического эндометрита / Ю. А. Лызикова // *Медицинские новости*. — 2021. — № 2 (317). — С. 80–82.

## Complex approach to diagnosis of chronic endometritis

*Lyzikova Yu. A.*

*Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus*

Chronic endometritis is associated with a violation of reproductive function, and its frequency depends on the diagnostic method used, which makes it necessary to improve measures to detect the disease. The publication is devoted to a complex approach to the diagnosis of chronic endometritis. Using of the immunohistochemical method in the diagnosis of the disease allows not only to reveal the pathology, but also to determine the local immune disorders. Diagnostics of the etiological factor using three methods can be applied in laboratories of various equipment. Determination of levels of alpha-2 microglobulin fertility in endometrial tissue and blood serum allows to determine the degree of functional disorders, caused by inflammation.

**Keywords:** chronic endometritis; immunohistochemical examination; alpha-2 fertility microglobulin; microbiological research; sequencing of 16srRNA.

*Поступила 31.05.2021*

