

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 18, №2

2019



УДК 618.14-002.2-018-07-08:579

ВЫБОР ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА НА ОСНОВАНИИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ © Лызикова Ю.А.

Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь, 246000, Гомель, ул. Ланге, 5

Резюме

Цель. На основании иммуногистохимического и микробиологического исследований эндометрия разработать тактику лечения хронического эндометрита и оценить ее эффективность.

Методика. Обследовано 70 пациенток репродуктивного возраста, 50 пациенток с хроническим эндометритом составили основную группу, 20 здоровых пациенток – группу сравнения. Всем пациенткам проведено иммуногистохимическое исследование эндометрия и культуральное исследование материала, полученного из полости матки.

Результаты. Хронический эндометрит у 33 (66,00%) пациенток ассоциирован с бесплодием ($\chi^2=24,97$; $p<0,001$). Среди обследованных пациенток выявлены микроорганизмы в полости матки у 31 (62,00%) пациенток с хроническим эндометритом и у 3 (15,00%) пациенток группы сравнения ($\chi^2=12,63$; $p=0,0004$). Массивный рост микроорганизмов в полости матки определен у 29 (58,00%) пациенток основной группы ($\chi^2=19,80$; $p<0,001$). У пациенток с хроническим эндометритом в полости матки преобладали Гр-кокки ($\chi^2=6,39$; $p=0,02$), наиболее распространенным видом бактерий была *Escherichia coli* ($\chi^2=7,50$; $p=0,006$). Анаэробный дисбиоз влагалища ассоциирован с хроническим эндометритом и отрицательным результатом культурального исследования материала из полости матки ($\chi^2=11,30$, $p=0,008$). Лечение, основанное на результатах иммуногистохимического и микробиологического исследований эндометрия, привело к наступлению беременности у 7 (14,00%) пациенток, 6 (85,71%) из которых завершили срочными родами.

Заключение. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать основывать выбор тактики лечения пациенток с хроническим эндометритом на результатах иммуногистохимического и культурального исследований эндометрия. Это позволит избежать необоснованного назначения антибактериальной терапии и повысить эффективность лечения нарушений репродуктивной функции, ассоциированных с хроническим эндометритом.

Ключевые слова: хронический эндометрит, бесплодие, CD56 NK-лимфоциты

CHOICE OF TACTICS OF CHRONIC ENDOMETRITIS TREATMENT ON THE BASIS OF IMMUNOHISTOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL STUDIES OF THE ENDOMETRIUM Lyzikova Yu.A.

Gomel State Medical University, 5, Lange St., 246000, Gomel, Belarus

Abstract

Objective. To develop tactics of treatment of chronic endometritis on the basis of immunohistochemical and microbiological study of the endometrium and to evaluate its effectiveness.

Methods. 70 patients of reproductive age were examined, 50 patients with chronic endometritis were included in the study group, 20 healthy patients – in the comparison group. All patients underwent immunohistochemical examination of the endometrium and cultural study of the material obtained from the uterine cavity.

Results. Chronic endometritis in 33 (66,00%) patients was associated with infertility ($\chi^2=24,97$; $p<0,001$). Microorganisms in the uterine cavity were revealed in 31 (62,00%) patients with chronic endometritis and in 3(15,00%) patients of the comparison group ($\chi^2=12,63$; $p=0,0004$). Massive growth of microorganisms in the uterine cavity was determined in 29 (58,00%) patients of the study group ($\chi^2=19,80$; $p<0,001$). Gr-cocci dominated in the uterine cavity of patients with chronic endometritis ($\chi^2=6,39$; $p=0,02$), the most common type of bacteria was *Escherichia coli* ($\chi^2=7,50$; $p=0,006$). Anaerobic vaginal dysbiosis is associated with chronic endometritis and a negative result of the culture study of the

endometrium ($\chi^2=11,30$, $p=0,008$). Treatment based on the results of immunohistochemical and microbiological studies of the endometrium led to pregnancy in 7 (14,00%) patients, 6 (85,71%) of which resulted in childbirth.

Conclusion. The results of the study allow us to recommend to base the choice of tactics of treatment of patients with chronic endometritis on the results of immunohistochemical and cultural studies of the endometrium. This will help to avoid the unjustified use of antibacterial therapy and increase the effectiveness of treatment of reproductive disorders associated with chronic endometritis.

Keywords: chronic endometritis, infertility, CD56 NK-lymphocytes

Введение

Одной из ведущих причин репродуктивных нарушений в настоящее время рассматривается воспалительный процесс в эндометрии [1]. Следует отметить, что большинство случаев заболевания приходится на репродуктивный возраст, а распространенность хронического эндометрита точно не известна и колеблется, по мнению разных авторов, от 1 до 70%, достигая своего максимума при наличии бесплодия и невынашивания беременности [2, 5].

Такой разброс данных обусловлен высоким процентом бессимптомно и атипично протекающих форм заболевания, низкой специфичностью и малой чувствительностью методов диагностики. Воспалительный процесс в полости матки приводит к развитию ремоделирования тканей эндометрия, дисбалансу факторов роста, нарушениям железистого компонента эндометрия. Указанные изменения ухудшают основные функции слизистой оболочки матки, что препятствует эффективному взаимодействию с эмбрионом и ухудшает прогноз заболевания [4].

Для диагностики хронического эндометрита широко используются иммуногистохимическое исследование, позволяющее определить локальные изменения иммунного статуса. Одним из маркеров хронического эндометрита являются CD56-лимфоциты, которые относятся к важнейшим факторам иммунной защиты, приводят к усилению воспалительного ответа макрофагов. Увлечение экспрессии CD56-лимфоцитов в эндометрии ассоциировано с самопроизвольным прерыванием беременности на разных сроках беременности, её неблагоприятным исходом [6].

Ведущим методом в лечении хронического эндометрита по-прежнему является антибактериальная терапия, тактика применения которой определяется видом микроорганизма, выделенного из цервикального канала. Однако, в исследованиях многих авторов отмечено, что совпадение видового состава микрофлоры из полости и цервикального канала отмечается не более чем в 60% случаев [7]. Назначение антибактериальных средств без определения этиологического фактора приводит к неэффективности терапии и развитию антибиотикорезистентности.

Таким образом, актуальным является поиск метода лечения хронического эндометрита, основанного на определении этиологического фактора воспаления, оценке локального иммунного статуса, что позволит повысить эффективность реализации репродуктивной функции женщины.

Целью исследования явилась разработка тактики лечения хронического эндометрита на основании иммуногистохимического и микробиологического исследований эндометрия.

Методика

Выполнено проспективное «случай-контроль» исследование. Критерии включения в исследование: возраст от 18 до 45 лет, отсутствие острых воспалительных заболеваний органов малого таза, злокачественных новообразований. Критерии исключения: возраст менее 18 и более 45 лет, прием гормональных лекарственных средств на момент исследования, злокачественные новообразования, индекс массы тела более 30, наружный генитальный эндометриоз, терапия кортикостероидами, антифосфолипидный синдром. В исследование включено 70 пациенток репродуктивного возраста (50 пациенток с хроническим эндометритом – основная группа, 20 здоровых пациенток – группа сравнения). Медиана среднего возраста обследованных пациенток основной группы составила 30,00 (26,00; 39,22) лет, в группе сравнения 28,00 (25,40; 36,00) лет. Всеми пациентками, участвовавшими в исследовании, было подписано добровольное информированное согласие. Протокол исследования одобрен этическим комитетом УО «Гомельский государственный медицинский университет», протокол №2 от 06.03.2017.

Научная работа выполнена за счет средств инновационного фонда Гомельского областного исполнительного комитета в рамках проекта «Разработать и внедрить алгоритм диагностики и лечения хронического эндометрита у пациенток репродуктивного возраста» (№ госрегистрации 20164462 от 05.12.2016).

Биопсию эндометрия у пациенток обеих групп производили с помощью аспирационной кюретки ProfiCombi («Симург», Беларусь) на 7-9 день после овуляции, в зависимости от длительности менструального цикла. После проведения аспирационной биопсии зонд-тампон для культурального исследования вводился в полость матки, после извлечения помещался в пробирку с транспортной средой.

В качестве материала для исследования использовались образцы эндометрия. Биоптаты фиксировали в 10% нейтральном формалине с фосфатным буфером. Проведенный материал заливали в парафиновые блоки. На роторном микротоме Microm HM 304 E (Thermo Scientific, Германия) из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3-4 мкм, которые в дальнейшем монтировались на предметные силанизированные стекла Thermo SuperFrost (Thermo Scientific, Германия). Иммуногистохимическое окрашивание проводили по стандартным протоколам с использованием первичных антител к CD56 (ready-to-use, Diagnostic Biosystems, США) и системы визуализации Uno Vue Mouse/Rabbit Detection System Kit (Diagnostic Biosystems, США). Для проведения бактериологического исследования использован автоматический анализатор для идентификации микроорганизмов и определения их чувствительности к антибактериальным лекарственным средствам (VITEK2, «Biomerieux», Российская Федерация).

Молекулярно-генетический анализ проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для выделения ДНК, проведения ПЦР использовали наборы торговой марки «АмплиСенс» производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Российская Федерация). Амплификацию и анализ данных проводили согласно инструкции производителя, используя амплификатор Rotor-Gene 3000 «CorbettResearch» Австралия. Использован набор для молекулярно-генетического тестирования «Фемофлор-16» («ДНК-Технология», Российская Федерация).

Сравнительный анализ между группами исследования проводился с использованием методов непараметрической статистики. Проверка данных в выборках на нормальность распределения выполнена с помощью критерия Колмогорова-Смирнова, все выборки не соответствовали нормальному распределению ($p > 0,05$). Для определения статистической значимости различий анализируемых групп применяли тест Манна-Уитни. При анализе качественных признаков в группах сравнения использовался критерий χ^2 Пирсона. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0.

Результаты исследования

Обследовано 70 пациенток репродуктивного возраста, 50 пациенток с хроническим эндометритом составили основную группу, 20 пациенток без хронического эндометрита составили группу сравнения. Диагноз хронический эндометрит устанавливался по результатам иммуногистохимического исследования биоптатов эндометрия с оценкой экспрессии CD 56 NK-лимфоцитов.

Среди пациенток основной группы 6 (12,00%) предъявляли жалобы на обильные выделения из половых путей, 1 (2,00%) – на нерегулярные менструации. В 86,00% случаев хронический эндометрит протекал бессимптомно и проявлялся только нарушениями репродуктивной функции. В контрольной группе 2 (10,00%) пациенток предъявляли жалобы на обильные выделения из половых путей.

Наиболее часто у пациенток основной группы встречалось бесплодие, диагностированное у 33 (66,00%) пациенток, в контрольной группе данная патология не отмечена ($\chi^2=24,97; p < 0,001$). Патология шейки матки выявлена у 3 (15,00%) пациенток группы сравнения и у 6 (12,00%) женщин основной группы. При анализе соматической патологии не выявлено статистически значимых различий между группами.

Среди обследованных пациенток выявлены микроорганизмы в полости матки у 31 (62,00%) пациенток с хроническим эндометритом и у 3 (15,00%) пациенток группы сравнения ($\chi^2=12,63; p=0,0004$). Результаты культурального исследования материала из полости матки представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты культурального исследования материала из полости матки

Вид микроорганизма	Основная группа, n=50	Группа сравнения, n=20	Достоверность
<i>Escherichia coli</i>	12 (24,00%)	-	$\chi^2=7,50$; p=0,006
<i>Enterococcus faecalis</i>	4 (8,00%)	-	$\chi^2=1,70$; p=0,19
<i>Brevudimonas diminuta</i>	1 (2,00%)	-	$\chi^2=0,41$; p=0,52
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (4,00%)	1 (5,00%)	$\chi^2=0,03$; p=0,85
<i>Streptococcus anginosus</i>	1 (2,00%)	-	$\chi^2=0,41$; p=0,52
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5 (10,00%)	-	$\chi^2=2,15$; p=0,14
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 (2,00%)	1 (5,00%)	$\chi^2=2,54$; p=0,11
<i>Staphylococcus hominis</i>	1 (2,00%)	1 (5,00%)	$\chi^2=2,54$; p=0,11
<i>Enterococcus faecum</i>	1 (2,00%)	-	$\chi^2=0,41$; p=0,52
<i>Candida albicans</i>	2 (2,00%)	-	$\chi^2=0,82$; p=0,36
<i>Candida glabrata</i>	1 (2,00%)	-	$\chi^2=0,41$; p=0,52

Микробные ассоциации выявлены у 4 (8,00%) пациенток с хроническим эндометритом, в контрольной группе ассоциации бактерий не определялись. С одинаковой частотой 1 (2,00%) у пациенток с хроническим эндометритом определены сочетания *Staphylococcus hominis* и *Candida glabrata*, *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* и *Enterococcus faecum*, *Escherichia coli* и *Candida albicans* ($\chi^2=0,41$; p=0,52). Результаты определения видов микроорганизмов в полости матки представлены в табл. 2.

Таблица 2. Результаты определения видов микроорганизмов в материале, полученном из полости матки

Вид микроорганизма	Основная группа, n=50	Группа сравнения, n=20	Достоверность
Гр-кокки	13 (26,00%)	-	$\chi^2=6,39$; p=0,02
Гр+кокки	16 (32,00%)	3 (15,00%)	$\chi^2=2,09$; p=0,14
Грибы	2 (4,00%)	-	$\chi^2=0,82$; p=0,36

У всех пациенток контрольной группы рост микроорганизмов был получен со среды обогащения, у 29 (58,00%) пациенток основной группы наблюдался массивный рост микроорганизмов ($\chi^2=19,80$; p<0,001).

Staphylococcus epidermidis, *hominis*, *aureus* показали чувствительность ко всем антибактериальным препаратам, кроме бензилпенициллина и оксацилина. В основной группе *Streptococcus agalactiae* оказался устойчив во всех случаях 5 (100,00%) к клиндамицину, тетрациклину, нитрофурантоину. У всех пациенток основной группы *Escherichia coli* устойчива к бензилпенициллину и ампициллину, триметоприму с сульфаметаксозолом. Резистентность к амоксициллину с клавулановой кислотой *Escherichia coli* выявлена у 2 (22,22%) пациенток основной группы. С одинаковой частотой 1 (11,11%) выявлена устойчивость *Escherichia coli* к гентамицину, цефотаксиму, цефтазидиму, линезолиду, ванкомицину, клиндамицину, тетрациклину.

У всех пациенток с хроническим эндометритом *Enterococcus faecalis* устойчив к гентамицину, эритромицину и тетрациклину. Резистентность *Enterococcus faecalis* к ципрофлоксацину, левофлоксацину, ванкомицину была определена в 2 (50,00%) случаях.

Таким образом, у пациенток основной группы рост микроорганизмов в материале, полученном из полости матки, был скудным, выделенные микроорганизмы показали высокую чувствительность к антибактериальным препаратам. У пациенток основной группы отмечено разнообразие микроорганизмов, массивный рост, наличие микробных ассоциаций, устойчивость микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Нарушения биоценоза влагалища не выявлены у 20 (64,52%) пациенток основной группы с положительным результатом культурального исследования материала из полости матки и у 3 (100,00%) пациенток группы сравнения. Среди женщин основной группы с отрицательным результатом культурального исследования материала из полости матки преобладал анаэробный дисбиоз влагалища, выявленный у 10 (52,63%) пациенток. Среди женщин с положительным результатом культурального исследования материала из полости матки, ДНК анаэробных

микроорганизмов определена в 3 (9,68%) случаях ($\chi^2=11,30$; $p=0,008$). В полости матки анаэробные микроорганизмы не выявлены ни у одной пациентки.

Для проведения терапевтических мероприятий пациентки основной группы были разделены на две подгруппы: в первую подгруппу вошла 31 (62,00%) пациентка с положительным результатом микробиологического исследования материала из полости матки, во вторую подгруппу вошли 19 (38,00%) пациенток с отрицательным результатом микробиологического исследования эндометрия. Пациенткам первой подгруппы была назначена антибактериальная терапия с учетом чувствительности, низкочастотная магнитотерапия. Пациенткам второй подгруппы в зависимости от выявленных нарушений проведена коррекция дисбиотических нарушений влагалища, иммуномодулирующая терапия индукторами интерферона и рекомендована гистероскопия. Среди пациенток второй подгруппы по результатам гистероскопии выявлен железистый полип эндометрия у 4 (21,06%), функциональный полип – у 2 (10,53%), железистая гиперплазия эндометрия без атипии – у 8 (42,11%). Полученные данные свидетельствуют о том, что воспаление является важным фактором развития гиперплазии эндометрия и хронический эндометрит следует рассматривать как причину развития гиперпластических процессов эндометрия [3].

Среди пациенток первой подгруппы после лечения беременность наступила у 5 (16,13%), все беременности завершились срочными родами. Среди пациенток второй подгруппы беременность после лечения наступила у 2 (10,53%), у 1 (5,26%) пациентки беременность завершилась срочными родами, у 1 (5,26%) – беременность прервана в связи с выявленным пороком развития плода. Таким образом, у 7 (14,00%) пациенток с хроническим эндометритом после лечения наступила беременность, 6 (85,71%) из них завершились срочными родами.

Обсуждение результатов исследования

Хронический эндометрит является распространенной патологией, наиболее часто ассоциированной с нарушениями репродуктивной функции женщины [1, 6]. По данным нашего исследования, хронический эндометрит встречается у 66,00% пациенток с бесплодием. Хронический эндометрит в большинстве случаев вызван микробным агентом, что подтверждено другими исследованиями [2, 6]. Однако, у 38,00% пациенток хронический воспалительный процесс не сопровождается определением микроорганизмов в полости матки. Назначение антибактериальной терапии данной группе пациенток не обосновано и приведет к развитию антибиотикорезистентности. В то же время, у данных пациенток сохраняется высокий риск развития патологии репродуктивной функции. Для пациенток с отрицательными результатами культурального исследования эндометрия может быть рекомендована иммуномодулирующая терапия для коррекции локального нарушения иммунитета. Высокая частота патологии эндометрия у данных пациенток подтверждает данные, что воспаление является одним из этиологических факторов гиперпластических процессов слизистой полости матки [4].

Заключение

Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать основывать выбор тактики лечения пациенток с хроническим эндометритом основывать на результатах иммуногистохимического и культурального исследований эндометрия. Это позволит избежать необоснованного назначения антибактериальной терапии и повысить эффективность лечения нарушений репродуктивной функции, ассоциированных с хроническим эндометритом.

Литература (references)

1. Герилевич Л.А., Егорова А.Т., Базина М.И., Маисеенко Д.А. Оценка состояния здоровья женщин, использующих программы вспомогательных репродуктивных технологий // Медицинский альманах. – 2015. – №4(39). – С. 76-79. [Gerilovich L.A., Egorova A.T., Bazina M.I., Maisenko D.A. *Meditinskiy almanah*. Medical almanac. – 2015. – N4(39). – P. 76-79. (in Russian)]
2. Лызикова Ю.А., Рублевская Е.И. Хронический эндометрит у пациенток репродуктивного возраста: клинико-микробиологические особенности. Охрана материнства и детства. – 2017. – №2.– С. 5-7.

- [Lyzikova Yu.A., Rublevskaya E.I. *Ohrana materinstva i detstva*. Protection of motherhood and childhood. – 2017. – N2. – P. 5-7. (in Russian)]
3. Манухин И.Б., Семенцова Н.А., Митрофанова Ю.Ю., Лившиц Л.Ю. Хронический эндометрит и невынашивание беременности // Медицинский совет. – 2018.– №7.– С. 46-49. [Manukhin I. B., Sementsova N. A. Mitrofanov Yu. Yu., Livshits L. Yu. *Meditsinskiy sovet*. Medical Council.– 2018. – N7. – P.46-49. (in Russian)]
 4. Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносов М.И. Гиперпластические процессы эндометрия: этиопатогенез, факторы риска, полиморфизм генов-кандидатов// Акушерство и гинекология. – 2019. – №1. – С.13-18. [Ponomarenko I.V., Polonikov A.V., Churnosov M.I. *Akusherstvo i ginekologiya*. Obstetrics and gynecology. – 2019. – N1. – P. 13-18. (in Russian)]
 5. Kunnumakkara A.B., Sailo B.L., Banik K. et al. Chronic diseases, inflammation, and spices: how are they linked? // *Journal of translational medicine*. – 2018. – N16. – P. 14-16.
 6. Cicinelli E., Matteo M., Tinelli R. et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy // *Human reproduction*. – 2014. – N2. – P. 323-330.
 7. Gao Y., Wang P.L. Increased CD56(+) NK cells and enhanced Th1 responses in human unexplained recurrent spontaneous abortion // *Genetic and molecular research*. – 2015. – N14(4). – P. 18103-18109.
 8. Haggerty C.L., Hillier S.L., Bass D.C., Ness R.B. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis // *Clinical Infectious Diseases*. – 2004. – N39. – P. 990-995.

Информация об авторе

Лызикова Юлия Анатольевна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры акушерства и гинекологии УО «Гомельский государственный медицинский университет». Республика Беларусь. E-mail: lyzikovayulia@yandex.by