

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА ПРИ БЕСПЛОДИИ: СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ, ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

**Кулида Л.В. ORCID ID 0000-0001-8962-9048,
Проценко Е.В. ORCID ID 0000-0003-0490-5686**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Российская Федерация,
e-mail: procenko_e_v@mail.ru*

Современная морфологическая диагностика хронического эндометрита предполагает исследование иммунологического ландшафта слизистой оболочки матки. Ограниченное использование иммуногистохимического метода исследования в лечебных учреждениях первичного и вторичного уровней диктует необходимость поиска дополнительных диагностических критериев, повышающих точность морфологической диагностики хронического воспаления. Цель исследования - оценить современные подходы к морфологической диагностике хронического эндометрита и перспективы применения морфометрического анализа эндометрия у женщин с бесплодием. Проведено обзорное гистологическое исследование пайпель-биоптатов, окрашенных гематоксилином и эозином, по Ван Гизону и Пикро Маллори, а также морфометрия фиброзированных участков эндометрия у женщин репродуктивного возраста с бесплодием и хроническим эндометритом (n=90). Группа контроля - женщины с изолированным мужским фактором бесплодия (n=30). Как показал анализ отечественной и мировой литературы, неотъемлемой частью современной морфологической диагностики хронического эндометрита является подтверждение нарушений иммунного баланса эндометрия на молекулярном уровне, в том числе иммуногистохимическая верификация плазматических клеток антителами к CD138 и MUM1. Однако подобные исследования, как правило, не проводятся в медицинских учреждениях первичного и вторичного уровней. Проведенное исследование позволило установить, что применение морфометрии зон фиброза в пайпель-биоптатах эндометрия повышает чувствительность гистологической диагностики хронического эндометрита после гистероскопии и определения микробной культуры в эндометрии до 93%, в связи с чем может быть рекомендовано пациентам с бесплодием в качестве альтернативы иммуногистохимической диагностике при невозможности осуществления последней.

Ключевые слова: хронический эндометрит, морфологическая диагностика, морфометрия.

MORPHOLOGICAL DIAGNOSIS OF CHRONIC ENDOMETRITIS IN INFERTILITY: MODERN APPROACHES AND PROSPECTS FOR THE APPLICATION OF MORPHOMETRIC ANALYSIS

**Kulida L.V. ORCID ID 0000-0001-8962-9048,
Protsenko E.V. ORCID ID 0000-0003-0490-5686**

*Federal State Budgetary Institution Ivanovo Scientific Research Institute of Motherhood and Childhood named after V.N. Gorodkov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russian Federation,
e-mail: procenko_e_v@mail.ru*

Modern morphological diagnosis of chronic endometritis involves the study of the immunological landscape of the uterine mucosa. The limited use of immunohistochemical research in primary and secondary healthcare facilities dictates the need to search for additional diagnostic criteria that improve the accuracy of morphological diagnosis of chronic inflammation. The aim of the study was to evaluate modern approaches to the morphological diagnosis of chronic endometritis and the prospects for using morphometric analysis of the endometrium in women with infertility. A review histological study of Pipelle biopsies stained with hematoxylin and eosin according to van Gieson and Picro Mallory was conducted, as well as morphometry of fibrotic areas of the endometrium in women of reproductive age with infertility and chronic endometritis (n = 90). The control group included women with isolated male factor infertility (n = 30). An analysis of Russian and international literature has shown that an integral part of modern morphological diagnosis of chronic endometritis is confirmation of endometrial immune imbalance at the molecular level, including immunohistochemical verification of plasma cells with antibodies to CD138 and MUM1. However, such studies are generally not performed in primary and secondary healthcare settings. The study found that morphometry of fibrotic zones in

endometrial pipelle biopsies increases the sensitivity of histological diagnosis of chronic endometritis after hysteroscopy and endometrial microbial culture by up to 93%. Therefore, it can be recommended for infertile patients as an alternative to immunohistochemical diagnosis when the latter is not possible.

Keywords: chronic endometritis, morphological diagnosis, morphometry.

Введение

Хронический эндометрит (ХЭ) - персистирующее инфекционно-воспалительное заболевание слизистой оболочки матки, сопровождающееся нарушением менструальной функции, болевым синдромом, выделениями из половых путей либо протекающее бессимптомно [1]. По литературным данным, распространенность ХЭ в репродуктивном возрасте варьирует от 0,2% до 68% [2]. Широкий разброс показателя обусловлен отсутствием стандартизированных диагностических критериев, бессимптомным течением заболевания, различиями в методах исследования. Намечившаяся в последние 5 лет тенденция к увеличению частоты ХЭ, возможно, связана с ростом антибиотикорезистентности микроорганизмов [3]. Несмотря на весомые достижения репродуктивной медицины, ХЭ остается одной из ключевых причин женского бесплодия, невынашивания беременности и неудач имплантации при вспомогательных репродуктивных технологиях [4]. Для постановки диагноза ХЭ наряду с клиническими методами (сбор анамнеза, ультразвуковое исследование органов малого таза, гистероскопия) широко применяют ПЦР-диагностику инфекций, передаваемых половым путем [5], а также морфологическое исследование соскобов либо пайпель-биоптатов эндометрия на 7-11 дни менструального цикла [6].

Обзорное гистологическое исследование с окраской препаратов гематоксилином и эозином позволяет выявлять основные диагностические критерии ХЭ - мононуклеарную инфильтрацию, представленную лимфоцитами, гистиоцитами, плазмócитами, лимфоидными фолликулами, гемодинамические нарушения в поверхностных отделах эндометрия, фиброз стромы, склероз сосудов [7], структурное несоответствие эпителиального и стромального компонентов дню менструального цикла [8].

Важнейшим морфологическим критерием диагностики ХЭ являются плазматические клетки. Для верификации последних, как правило, используют CD138 (синдекан-1) [9]. Количество плазмócитов в поле зрения микроскопа до сих пор остается дискуссионным вопросом. Большинство авторов признает диагноз ХЭ достоверным при наличии в биоптате ≥ 1 CD138-положительной клетки в поле зрения (x400) [10]. Для повышения точности диагностики в комбинации с CD138 нередко используют маркеры MUM1/IRF4 и CD79a, также высокоспецифичные для плазматических клеток [11]. Чувствительность и специфичность комплексной диагностики хронического эндометрита, по литературным данным [12], составляет 90-95%. Учитывая, что иммуногистохимическое исследование

является доступным методом для медицинских учреждений не ниже третичного уровня, полагаем, что повысить точность результата обзорной гистологии, выполненной в любом медучреждении, позволит морфометрия фиброзированных участков эндометрия.

Цель исследования - оценить современные подходы к морфологической диагностике хронического эндометрита и перспективы применения морфометрического анализа эндометрия у женщин с бесплодием.

Материал и методы исследования

Исследование, проведенное на базе лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии Ивановского научно-исследовательского института материнства и детства им. В.Н. Городкова в соответствии с этическими стандартами, установленными Правилами клинической практики РФ (Приказ Минздрава РФ № 200н от 01.04.2016) и Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации, одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 4 от 19.10.2024). Информированное письменное согласие пациентов на участие в исследовании получено.

Исследуемую группу составили 90 женщин репродуктивного возраста (18-40 лет) с клинически диагностированным хроническим эндометритом (N71.1) и бесплодием (МКБ-Х N97.2), проходящих обследование и лечение в рамках прегравидарной подготовки. В группу контроля включили 30 женщин без клинических признаков ХЭ с изолированным мужским фактором бесплодия в супружеской паре, проходящих прегравидарную подготовку к циклу экстракорпорального оплодотворения. В исследование не включали пациенток с врожденными пороками развития женских половых органов, миомой матки, аденомиозом.

Гистологическое исследование эндометрия, взятого на 7-11 дни менструального цикла, фиксированного в течение 24 часов в 10% растворе нейтрального формалина на фосфатном буфере (pH=7,4), после спиртового обезвоживания, просветления в хлороформе, заключения в парафин, изготовления гистологических срезов толщиной 4-5 мкм и окрашивания гематоксилином и эозином, осуществляли при помощи светового микроскопа Axiostar plus (ZEISS, Германия). Для лучшей визуализации фиброза эндометрия использовали окраски срезов по Ван Гизону и Пикро Маллори.

Морфометрическому анализу подвергали строму, железы (считали суммарную площадь желез в поле зрения среза), воспалительные инфильтраты и зоны фиброза с использованием программы «ВидеоТест-Мастер Морфология 4,0» с цифровой камерой ProgResC3 при увеличениях $\times 100$ и $\times 400$. Определяли чувствительность и специфичность морфометрического метода диагностики ХЭ по формулам [13]:

$$ЧМ=[ИП/ИП+ЛО]100\%,$$

$$СМ=[ИО/ИО+ЛП]100\%,$$

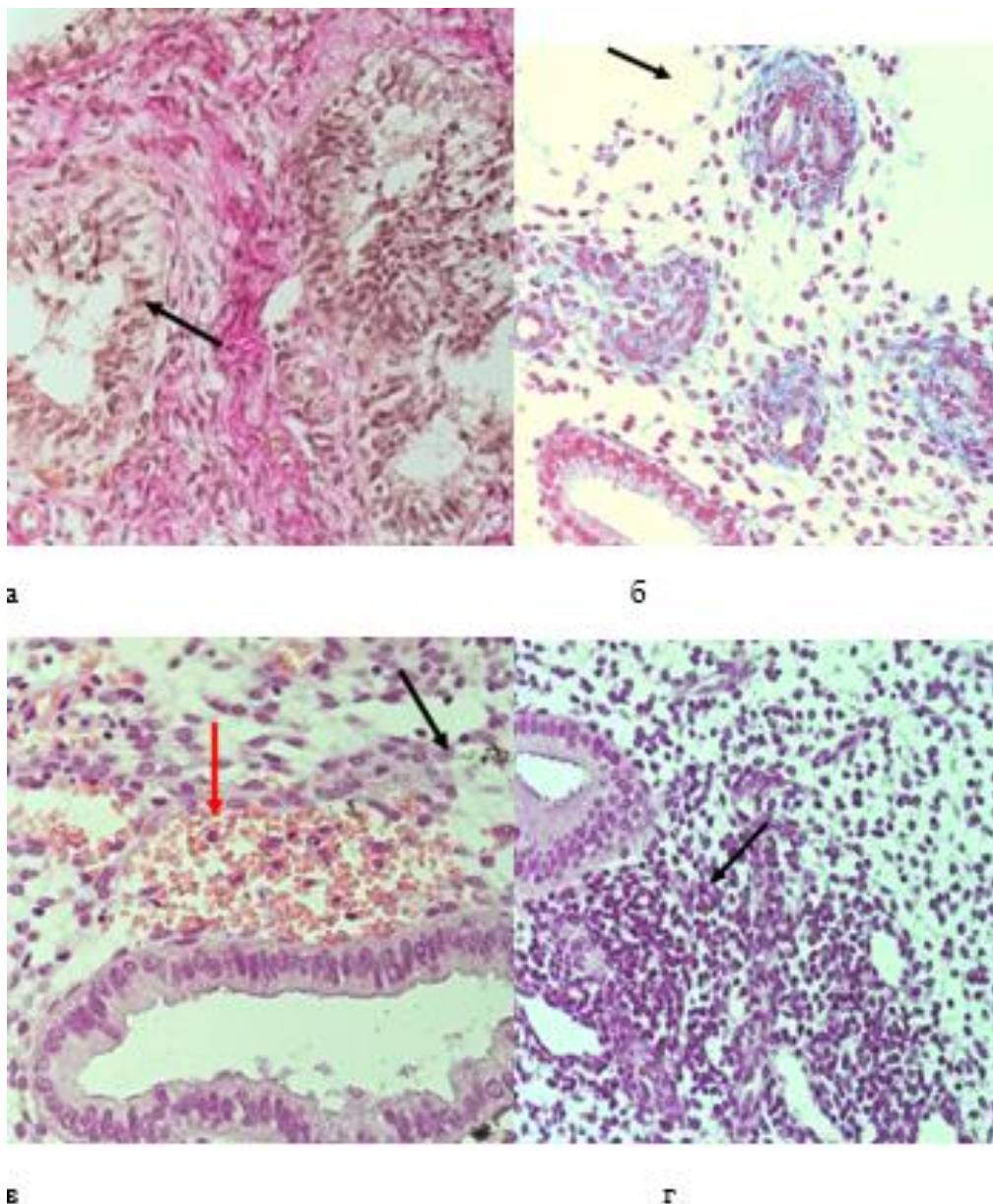
где ЧМ - чувствительность метода, ИП – истинноположительный результат, ЛО - ложноотрицательный результат, СМ - специфичность метода, ИО – истинноотрицательный результат, ЛП - ложноположительный результат.

Статистическую обработку результатов осуществляли, используя пакет прикладных программ Excel 2010 и Statistica 6.0. Определяли типы статистических рядов распределения, медиану (Me), верхний и нижний квартили показателей (Q1, Q3). Для анализа количественных признаков применяли непараметрический U-критерий Манна - Уитни. Межгрупповые различия рассматривали как статистически значимые при уровне $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При обзорной гистологии в эндометрии женщин контрольной группы визуализировали компактный, спонгиозный слой и поверхностный эпителий цилиндрического типа. Наибольшую удельную площадь занимали железы и строма. Железы, выстланные цилиндрическим эпителием, были равномерно распределены, имели округлую форму с ровным апикальным краем. Гиперхромные ядра эпителиальных клеток располагались на разных уровнях. Некоторые из них содержали мелкие ядрышки. Встречались единичные митозы. Строма была представлена фибробластоподобными клетками с узким ободком цитоплазмы и мелкими округлыми либо вытянутыми ядрами, иногда встречался очаговый отек в поверхностном отделе функционального слоя (16,7%; $n=5$). Кровоснабжение слизистой оболочки матки осуществлялось капиллярами и единичными сосудистыми клубками из 2-3 профилей спиральных артерий.

При ХЭ, связанном с бесплодием, в пайпель-биоптатах слизистой оболочки матки обнаруживали пролиферацию эпителия (33,3%; $n=30$), локальную гиперплазию эндометрия без атипии (3,33%; $n=3$), перигландулярный (рис. а) и периваскулярный (рис. б) фиброз стромы (87,7%; $n=79$), отек, венозный застой и распространенные периваскулярные геморрагии в поверхностных отделах функционального слоя (80%; $n=72$) (рис. в), микрополипы (47,8%; $n=43$). Во всех отделах функционального слоя эндометрия выявляли перигландулярную и периваскулярную мононуклеарную воспалительную инфильтрацию, основными компонентами которой были лимфоциты, плазматические клетки, гистиоциты, макрофаги, лейкоциты (рис. г), а также лимфоидные фолликулы.



Морфология эндометрия при хроническом эндометрите у женщин с бесплодием:

- а - перигландулярный фиброз (стрелка); окраска по Ван Гизону;*
- б - периваскулярный фиброз (стрелка); окраска методом Пикро Маллори;*
- в – отек (черная стрелка), кровоизлияния в строму (красная стрелка);*
- г – мононуклеарная инфильтрация перигландулярной стромы (стрелка).*

Окраска гематоксилином и эозином: в, г; ув. х 400: а, б, в, г.

Источник: составлено авторами на основе собственного исследования.

По данным морфометрии (табл.), суммарная площадь железистого компонента на срезе по сравнению с аналогом контрольной группы увеличилась в 2 раза ($p=0,002$), стромального компонента - не изменилась ($p=0,08$), воспалительных инфильтратов в функциональном слое - увеличилась почти в 7 раз ($p=0,001$).

Суммарная площадь морфометрических параметров эндометрия при хроническом
эндометрите и бесплодии
(Me[Q₂₅–Q₇₅])

| Морфометрические параметры эндометрия | Группа контроля (n=30) | Группа исследования (n=90) |
|--|---------------------------|---------------------------------|
| Железы, мкм ² | 0,9 (0,8-1,2) | 1,8 (1,2-2,2) <i>p=0,02</i> |
| Мононуклеарная инфильтрация, мкм ² | 0,06 (0,05-0,1) | 0,5 (0,2-0,5) <i>p=0,000</i> |
| Фиброз, мкм ² | 0 | 0,6(0,4-0,7) <i>p=0,001</i> |
| Строма, мкм ² | 8,1 (7,7-8,4) | 7,4(7,0-7,9) |

Примечания: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой по критерию Манна - Уитни.

Составлено на основе собственного исследования авторов.

На основании обзорной гистологии, сочетанной с морфометрией, было установлено, что единственным структурным компонентом слизистой оболочки матки, практически не определяемым у женщин из группы контроля, но в подавляющем большинстве случаев - 87,7% - выявляемым при ХЭ, является фиброз стромы, патогенетически связанный с воспалением. Последнее инициирует трансформацию фибробластоподобных клеток стромы в фибробласты, которые синтезируют коллагеновые волокна соединительной ткани с компактным перигландулярным и периваскулярным расположением в эндометрии [14].

Перспективу использования морфометрии фиброзированных участков эндометрия в качестве одного из основополагающих диагностических критериев ХЭ при бесплодии оценивали путем определения чувствительности и специфичности метода, которые затем сравнивали с аналогичными параметрами прототипа, включающего гистероскопию в сочетании с обзорной гистологией и определением микробной культуры в эндометрии (без ИГХ-исследования), чувствительность и специфичность которого составляет, соответственно, 75% и 100% [15].

Для расчета чувствительности и специфичности морфометрии зон фиброза использовали формулы, включающие такие категории показателей, как истинноположительный, ложноотрицательный, ложноположительный и истинноотрицательный результат.

Первый из них, истинноположительный (ИП), – это часть случаев основной группы, состоящей из 90 человек, за исключением гистологически и морфометрически не

подтвержденного хронического эндометрита, соответственно, в 5 и 6 случаях. То есть истинноположительный результат равен 79.

Ложноотрицательный (ЛО) результат – это количество случаев гистологически подтвержденного хронического эндометрита основной группы (n=85) за исключением ИП, то есть результат равен 6.

Истинноотрицательный (ИО) результат – это часть женщин основной группы с гистологически неподтвержденным хроническим эндометритом (n=5) за исключением аналога с выявленным фиброзом (n=1). ИО=4.

Ложноположительным (ЛП) считали случай выявленного фиброза в эндометрии женщины без остальных основополагающих морфологических критериев хронического эндометрита (n=1).

Таким образом, чувствительность морфометрического метода диагностики хронического эндометрита (ЧМ) составляет: $[79/(79+6)] \times 100 = 93\%$; специфичность (СМ): $[4/(4+1)] \times 100 = 80\%$.

Полученные данные позволяют заключить, что использование морфометрического анализа зон фиброза, выполняемого при помощи программного обеспечения компьютера в течение нескольких минут, повышает чувствительность комплексной диагностики хронического воспаления в слизистой оболочке матки. Внедрение этого метода в рутинную практику может увеличить чувствительность алгоритма (гистероскопия+обзорная гистология) с 75% до 93% без значительных материальных затрат на оборудование и реактивы для иммуногистохимии.

Заключение

Проведенное исследование показало, что хронический эндометрит, ассоциированный с бесплодием, характеризуется комплексом взаимосвязанных патоморфологических изменений слизистой оболочки матки. Кроме лимфо-гистио-плазмоцитарной инфильтрации, лимфоидных фолликулов, гемодинамических нарушений, важным патогенетическим звеном и высокоинформативным диагностическим критерием данной патологии является развитие перигландулярного и периваскулярного фиброза эндометрия. Установлено, что морфометрический анализ фиброзированных участков слизистой оболочки матки является относительно дешевым и легко воспроизводимым методом верификации хронического эндометрита. Использование морфометрии зон фиброза в пайпель-биоптатах эндометрия позволяет повысить чувствительность гистологической диагностики хронического эндометрита до 93%, в связи с чем может быть рекомендовано женщинам с бесплодием в качестве альтернативы иммуногистохимической диагностике при невозможности осуществления последней.

Список литературы

1. Bouet P.E., Hachem E.I., Monceau H., Gallot V., Aubard, Y., May-Panloup P. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis // *Fertility and Sterility*. 2016. Vol. 105. Is. 1. P. 106-110. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.025.
2. Суханов А.А., Дикке Г.Б., Кукарская И.И. Эпидемиология женского бесплодия и опыт восстановления репродуктивной функции у пациенток с хроническим эндометритом в Тюменском регионе // *Проблемы репродукции*. 2023. Т.29. № 3. С. 98-107. DOI: 10.17116/repro20232903198.
3. Kitaya K., Matsubayashi H., Yamaguchi K., Nishiyama R., Takaya Y., Ishikawa T., Takeuchi T. Chronic endometritis: potential cause of infertility and obstetric and neonatal complications // *American Journal of Reproductive Immunology*. 2016. Vol. 75. Is. 1. P. 13-22. DOI: 10.1111/aji.12438.
4. Cicinelli E., Matteo M., Tinelli R., Lepera A., Alfonso R., Indraccolo U., Resta L. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy // *Human Reproduction*. 2015. Vol. 30. Is. 2. P. 323-330. DOI: 10.1093/humrep/deu292.
5. Moreno I., Cicinelli E., Garcia-Grau I., Gonzalez-Monfort M., Bau D., Vilella F., Simon C. The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2018. Vol. 218. Is. 6. P. 602.e1-602.e16. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.02.012.
6. Liu Y., Chen X., Huang J., Wang C.C., Yu M.Y., Laird S., Li T.C. Comparison of the prevalence of chronic endometritis as determined by means of different diagnostic methods in women with and without reproductive failure // *Fertility and Sterility*. 2018. Vol. 109. Is. 5. P. 832-839. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.01.022.
7. Гончарова Е.А., Волкова Л.В., Пашов А.И., Рачковская В.В. Хронический эндометрит: актуальные проблемы диагностики // *Сибирское медицинское обозрение*. 2022. Т. 137. № 5. С. 5-11. DOI: 10.20333/25000136-2022-5-5-11.
8. Толибова Г.Х., Траль Т.Г. Хронический эндометрит - затянувшаяся дискуссия // *Уральский медицинский журнал*. 2023. Т. 22. № 2. С. 142-152. DOI: 10.52420/2071-5943-2023-22-2-142-152.

9. Song D., Li T.C., Zhang Y., Feng X., Xia E., Huang X. Correlation between hysteroscopy findings and chronic endometritis // *Fertility and Sterility*. 2019. Vol. 111. Is. 4. P. 772-779. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.12.007.
10. Kuroda K., Takamizawa S., Motoyama H., Tsutsumi R., Sugiyama R., Nakagawa K., Kuribayashi Y. Analysis of the therapeutic effects of hysteroscopic polypectomy with and without doxycycline treatment on chronic endometritis with endometrial polyps // *American Journal of Reproductive Immunology*. 2021. Vol. 85. Is. 6. e13392. DOI: 10.1111/aji.13392.
11. Garces S., Rudzki Z., Yin C.C., Miranda R.N., Medina A.M., Sriganeshan V., Medeiros L.J. MUM1/IRF4 is highly expressed in dermatopathic lymphadenopathy: potential utility in diagnosis and differential diagnosis // *The American Journal of Surgical Pathology*. 2022. Vol. 46. Is. 11. P. 1514-1523. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001935.
12. Moreno I., Codoner F.M., Vilella F. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure // *Am. J. Obstet Gynecol.* 2016. Vol. 215. Is. 6. P. 684–703. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.09.075.
13. Мартынова Н.В., Нуднов Н.В., Головина И.А., Атясова Е.В. Определение диагностической эффективности современных методов визуализации // *Медицинская визуализация*. 2005. № 1. С. 140-144. EDN: XXLVFV.
14. Jiang Y., Cai R., Huang Y., Zhu L., Xiao L., Wang C., Wang L. Macrophages in organ fibrosis: from pathogenesis to therapeutic targets. *Cell Death Discov.* 2024. Vol. 10. Is. 1. P. 487. DOI: 10.1038/s41420-024-02247-1.
15. Шамилова А.М., Ильина И.Ю., Боровкова Е.И., Доброхотова Ю.Э. Хронический эндометрит. Пути улучшения методов диагностики // *РМЖ. Мать и дитя*. 2021. Т. 4. № 3. С. 243-249. DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-3-243-249.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.