

ДОЦІЛЬНІСТЬ ВИЗНАЧЕННЯ МІКРОБІОЦЕНОЗУ ЕНДОМЕТРІЮ У ЖІНОК ІЗ БЕЗПЛІДДЯМ У ПРОГРАМІ ПІДГОТОВКИ ДО ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Л. М. Рак, Р. О. Рак

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

Ключові слова:
безпліддя, ендометрій,
урогенітальні інфекції,
запалення.

Клінічна та
експериментальна
патологія 2024. Т.23,
№3 (89). С. 30-34.

DOI 10.24061/1727-4338.
XXIII.3.89.2024.05

E-mail:
ileyarlm999@gmail.com

Мета дослідження – вивчити мікробіоценоз ендометрію у жінок із безпліддям на етапі підготовки їх до ембріотрансферу в програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) та проаналізувати можливу роль інфекційного чинника як одного з можливих факторів невдалих попередніх спроб ДРТ.

Матеріал та методи. Вивчено особливості мікробіоценозу ендометрію у 147 жінок, розділених на дві групи: основну (103 пацієнтки з різними формами безпліддя, у яких планувалося використання ДРТ) та контрольну (44 практично здорові жінки репродуктивного віку, які мали дітей і не мали проблем із зачаттям). Жінки основної групи були розподілені на дві підгрупи: I (18 пацієнток із невдалими спробами ДРТ в анамнезі) та II (85 жінок, у яких ДРТ планувалося вперше). У вищевказаних пацієнток проведено мікробіологічне дослідження біоптатів ендометрію, які в основній групі отримували під час проведення гістероскопії як скринінгової процедури при підготовці до ДРТ.

Результати. Дослідження показало достовірно вищу частоту контамінації ендометрію жінок основної групи патогенною та умовно-патогенною бактеріальною флорою (у 81,6%), що на 71,2% перевищувало показники в групі контролю (10,3%, $p < 0,001$). У жінок основної групи в ендометрії персистували як абсолютні патогени, так і умовно-патогенна мікрофлора, а також збудники з переважним внутрішньоклітинним типом персистенції, на відміну від репродуктивно здорових жінок, в ендометрії яких виявлена лише умовно-патогенна мікрофлора. Встановлено, що частота контамінації ендометрію в основній групі супроводжувалась інтенсивним ростом мікроорганізмів (II-IV ступені росту, що вказувало на потенційний етіопатогенетичний вплив мікрофлори на розвиток патологічних процесів у слизовій оболонці матки). Водночас у групі контролю спостерігався II ступінь її росту умовних патогенів, що засвідчило про персистенцію мікроорганізмів без потенціювання запалення.

Висновок. Включення мікробіологічного дослідження ендометрію як стандарту підготовки до допоміжних репродуктивних технологій дасть змогу виявити потенційні ризики, спричинені інфекційною контамінацією, і підвищити ефективність цих методів лікування безпліддя.

Key words:
sterility, endometrium,
urogenital infections,
inflammation.

Clinical and experimental
pathology 2024. Vol.23,
№ 3 (89). P. 30-34.

EXPEDIENCY OF STUDYING ENDOMETRIUM MICROBIOCENOSIS IN WOMAN WITH INFERTILITY IN THE PROGRAM OF PREPARATION FOR ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES

L. M. Rak, R. O. Rak

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

Objective – to examine the microbiocenosis of the endometrium in women with infertility during EXP preparation for embryo transfer in assisted reproductive technology (ART) programs and to analyze the possible role of infectious agents as one of the potential factors in failed ART attempts.

Materials and Methods. The study investigated the characteristics of endometrial microbiocenosis in 147 women, divided into two groups: the main group (103 patients with various forms of infertility for whom ART was planned) and the control group (44 practically healthy women of reproductive age who had children and had no issues with conception). Women in the main group were further divided into two subgroups: I (18 patients with a history of failed ART attempts) and II (85 women undergoing ART for the first time). In the aforementioned patients, microbiological examination of endometrial biopsies was performed, which in the main group were obtained during hysteroscopy as a screening procedure in preparation for ART.

Results. The study revealed a significantly higher incidence of endometrial contamination with pathogenic and opportunistic bacterial flora in the main group (81.6%), which exceeded the control group's rates (10.3%, $p < 0.001$) by 71.2%. In the main group, the endometrium was found to harbor both absolute pathogens and opportunistic microorganisms, as well as intracellularly persistent pathogens, unlike the results in the reproductive healthy women, where only opportunistic microflora was detected. It was found that the frequency of endometrial contamination in the main group was accompanied by an intensive growth of microorganisms (II-IV degrees of growth), indicating a potential etiopathogenetic effect of the microflora on the development of pathological processes in the uterine mucosa. Meanwhile, in the control group, there was only II-degree growth of opportunistic pathogens, suggesting the persistence of microorganisms without triggering inflammation.

Conclusions. Including microbiological examination of the endometrium as a standard in the preparation for assisted reproductive technologies will help to identify potential risks caused by infectious contamination and improve the effectiveness of these infertility treatment methods.

Вступ

Підготовка пацієнок до екстракорпорального запліднення з ембріотрансфером (ЕКЗ з ЕТ) передбачає обов'язкове мікробіологічне дослідження вмісту піхви та цервікального каналу на предмет наявності збудників урогенітальних інфекцій. Однак питання доцільності мікробіологічного дослідження ендометрію при підготовці до циклів допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) залишається недостатньо вивченим. Навіть при наявності гістологічно підтвердженого хронічного ендометриту фахівці часто при виборі антибіотикотерапії обмежуються дослідженням флори цервікального каналу. Оскільки виявлення збудника є досить проблематичним, у більшості випадків антибактеріальна терапія призначається емпірично [1,2,3]. Доведено, що комплексний підхід до терапії дає можливість покращити наслідки лікування хронічного запального процесу слизової матки [1,2,4-6].

Мета роботи

Вивчити мікробіоценоз ендометрію у жінок із безпліддям на етапі підготовки їх до ембріотрансферу в програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) та проаналізувати можливу роль інфекційного чинника як одного з можливих факторів невдалих попередніх спроб ДРТ.

Матеріал і методи дослідження

Вивчено особливості мікробіоценозу ендометрію у пацієнок із безпліддям, яких готували до ембріотрансферу в програмах ДРТ, без явних ознак інфекції на момент обстеження та відсутності збудників урогенітальних інфекцій у цервікальному каналі (критерій включення). Критерієм виключення слугувала супутня хронічна соматична патологія інфекційного генезу як можливе потенційне джерело хронічної інфекції в інших органах. Пацієнтки обстежувались із дотримання правил біоетики та лише за умови підписання ними карти поінформованої згоди на проведення вищезазначених обстежень і подальшого лікування.

Проаналізовано результати комплексного обстеження 147 жінок, розподілених на дві групи: основну (103 пацієнтки з різними формами безпліддя, у яких планувалося використання ДРТ, Клінічна та експериментальна патологія. 2024. Т.23, № 3 (89)

включаючи програму контрольованого зачаття, ЕКЗ з ЕТ, внутрішньоматкову інсемінацію або повторні спроби через 6 місяців після попередніх невдалих спроб) та контрольну (сформовану з 44 практично здорових жінок репродуктивного віку, які мали дітей і не мали проблем із зачаттям). Жінки основної групи були розподілені на дві підгрупи: I (18 пацієнок із невдалими спробами ДРТ в анамнезі) та II (85 жінок, у яких ДРТ планувалося вперше). Пацієнтками контрольної групи були жінки, яких обстежували перед операцією добровільної лапароскопічної стерилізації.

Усі групи були репрезентативні за віком, соціальним статусом та соматичним станом.

Обстеження було спрямоване на діагностику стану порожнини матки та ендометрію, оцінку їх анатомії та функції, а також виявлення мікробного ураження слизової оболонки матки. Використовували рідинну гістероскопію з жорсткою оптикою або фіброгістероскопом («Karl Storz», Німеччина). Мікробіологічне дослідження біоптатів ендометрію здійснювали з метою визначення збудників інфекції, вивчення їх видового складу, популяційного рівня та провідних збудників запалення.

Біопсію ендометрію для мікробіологічного аналізу проводили під час гістероскопії за допомогою щипців із ділянок ендометрію, що мали ознаки запалення. Додатково проводили патогістологічну діагностику стану слизової оболонки матки та, при підозрі на хронічний ендометрит, верифікацію цієї патології здійснювали шляхом імуногістохімічного дослідження біоптатів (наявність CD138 – маркерів хронічного ендометриту).

Дослідження біоптатів ендометрію культуральним методом проведено у 38 пацієнок основної групи і 29 жінок контрольної. Діагностичний пошук таких інфекційних агентів, як *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* та вірусних агентів – *Herpes simplex* (тип II) та *Cytomegalovirus* здійснювали методом ПЛР. Діагностика хламідіозу проведена в 41 пацієнтки основної групи та у 44 – контрольної; уреаплазмозу, мікоплазмозу – у 39 жінок основної групи та у 44 – у групі контролю. Пошук персистенції вірусу простого герпесу в ендометрії пацієнок

основної групи виконано у 38 осіб із безплідністю та у 44 жінок контролю; цитомегаловірусу – у 21 та 15 жінок відповідно в групах порівняння.

Біоптати ендометрію виводили через тубус гістероскопа в стерильних умовах на початку процедури. Матеріал переносили в поживне середовище для подальшого культивування та в транспортне середовище для ПЛР-аналізу. Виділені мікроорганізми ідентифікували за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними ознаками згідно з визначником бактерій Дж. Берджі (1997). Мікроекологічний аналіз включав індекс постійності (С), що відображав ступінь домінування патогену, та показник вияву (Рі) для оцінки частоти виявлення різних мікроорганізмів. Інтенсивність контамінації ендометрію оцінювали за ступенем росту (СР) мікроорганізмів на селективних поживних середовищах.

Статистичний аналіз даних проводили методами варіаційної статистики, використовуючи критерії Фішера та Ст'юдента. Достовірність відмінностей визначалася при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

При бактеріологічному дослідженні біоптатів ендометрію пацієнток, яким показано застосування ДРТ, ми виявили патогенні та умовно-патогенні мікроорганізми в порожнині матки у 31 пацієнтки з 38 обстежених ($81,58 \pm 6,29\%$). Ця кількість достовірно перевищила показник у групі контролю, у якій виділені умовно-патогенні збудники інфекції лише у 3 пацієнток ($10,34 \pm 5,56\%$). Різниця становила $71,24\%$ ($p < 0,001$), що вказує на негативний вплив персистуючої патогенної та умовно-патогенної мікрофлори на імплантаційний потенціал ендометрію. Усього з гістеробіоптатів ендометрію пацієнток основної групи нами виділено 41 штам патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, а в групі контролю – 3 штами. Відповідно, інтенсивність контамінації (кількість штамів на одну жінку) становила 1,32 штами в основній групі та 0,1 штама – у контролі. У жінок основної групи значна частка належала асоціаціям мікроорганізмів. Вищевказані дані наведені нижче в таблицях 1, 2.

Таблиця 1

Видовий склад мікрофлори, виділеної з біоптатів ендометрію обстежених жінок при бактеріологічному дослідженні

Мікроорганізми	Основна група				Контрольна група			
	Кількість жінок	Виділено штамів	Індекс постійності (С%)	Частота вияву (Рі)	Кількість жінок	Виділено штамів	Індекс постійності (С%)	Частота вияву (Рі)
S.aureus	38	18	47,37	0,44	29	1	3,45	0,33
S. epidermidis	38	4	10,53	0,1	29	-	-	-
N. gonorrhoeae	38	4	10,53	0,1	29	-	-	-
E.coli	38	5	13,16	0,12	29	-	-	-
C. albicans	38	10	26,32	0,24	29	2	6,90	0,67
Всього	38	41	-	-	29	3	-	-
Патогени не виділені	38	7	-	-	29	26	-	-

Таблиця 2

Показники мікробіоценозу ендометрію в групах обстежених жінок (M±m)

Мікроорганізми	Основна група, n=38		Контрольна група, n=29	
	Кількість випадків (абс.)	Відносна кількість (%)	Кількість випадків (абс.)	Відносна кількість (%)
S. aureus	18	$47,37 \pm 8,10^*$	1	$3,45 \pm 3,39$
S. epidermidis	4	$10,53 \pm 4,98$	-	-
N. gonorrhoeae	4	$10,53 \pm 4,98$	-	-
E. coli	5	$13,16 \pm 5,48$	-	-
C. albicans	10	$26,32 \pm 7,14^*$	2	$6,90 \pm 4,71$
Всього виділено мікроорганізми, з них:	31	$81,58 \pm 6,29^*$	3	$10,34 \pm 5,65$
• моноінфекція	23	$74,19 \pm 7,86$	3	100 [†]
• асоціації	8	$25,81 \pm 7,86$	-	-
Мікроорганізми не виділені	7	$18,42 \pm 6,29^*$	26	$89,66 \pm 5,65$

Примітка: * – достовірність різниці показників в основній та контрольній групах ($p < 0,05$).

Порівняльна характеристика виділеної мікрофлори у жінок першої та другої груп (табл. 3) демонструє негативний вплив мікробних агентів на імплантаційний потенціал ендометрію жінок із безрезультатними спробами ДРТ в анамнезі та визначає необхідність вивчення мікробіоценозу ендометрію на етапі підготовки до ДРТ у всіх жінок як перед вперше, так і перед повторною запланованими ДРТ.

Показник інтенсивності контамінації ендометрію мікроорганізмами (кількість штамів на одну хвору) був однаковим в обох групах – 1,3 штама.

Встановлено, що висока частота контамінації ендометрію в основній групі супроводжувалась інтенсивним ростом мікроорганізмів (II-IV ступені росту), що вказувало на потенційний етіопатогенетичний вплив мікрофлори на розвиток патологічних процесів у слизовій оболонці матки. Водночас у жінок контрольної групи виявляли лише II ступінь росту мікрофлори, що засвідчує про персистенцію мікроорганізмів без потенціювання запалення.

Таблиця 3

Структура виділених мікроорганізмів та особливості мікробної контамінації ендометрію у I та II групах обстежених жінок (M±m)

Показник, що аналізується	I група, n=13		II група, n=25		p
	абс	%	абс	%	
Всього пацієнок, у яких виділені мікроорганізми, з них у вигляді:	10	76,92±11,69	21	84,0±7,33	>0,05
– моноінфекції	7	70,0±14,49	16	76,19±9,29	>0,05
– асоціацій	3	30,0±14,49	5	23,81±9,29	>0,05
Частка штамів мікроорганізмів від загальної кількості виділених штамів (41)	13	31,71±7,27	28	68,29±7,27	<0,01
<i>S.aureus</i>	6	46,15±13,85	12	48,0±9,99	>0,05
<i>S. epidermidis</i>	3	23,08±11,69	1	4,0±3,92	>0,05
<i>N. gonorrhoeae</i>	1	7,69±7,39	3	12,0±6,50	>0,05
<i>E.coli</i>	1	7,69±7,39	4	16,0±7,33	>0,05
<i>C. albicans</i>	2	15,38±10,01	8	32,0±9,33	>0,05

Аналіз видового складу мікрофлори у жінок I та II груп основної вибірки показав відсутність достовірних відмінностей між показниками інфікування бактеріальною флорою, частотою моноінфекцій та асоціацій мікроорганізмів, а також рівнем інтенсивності контамінації. В обох групах домінували схожі збудники: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *N. gonorrhoeae* та *C. Albicans*. За результатами вивчення популяційного рівня мікрофлори, виділеної з біопатів ендометрію жінок основної групи встановлено, що провідними збудниками за популяційним рівнем та мікроекологічними показниками у вищевказаної групи жінок є патогенний гонокок та умовно-патогенний золотистий стафілокок; ешерихії та гриби роду *Candida*.

Збудники інфекцій, що передаються переважно статевим шляхом (ЗПСШ), діагностовано лише у жінок із безпліддям (у 12 осіб). Ендометрій цих жінок був контамінований ЗПСШ у 29,27±7,11 % випадків. Зокрема, хламідії виявлено у 5 (12,20±5,11 %), мікоплазми у 4 (10,26±4,85 %), уреоплазми у 2 (5,13±3,53 %), вірус простого герпесу – у 1 (2,63±2,60 %) та цитомегаловірус – у 1 (4,76±4,65 %). В одній пацієнтки мало місце одночасне персистування в ендометрію і мікоплазми, і цитомегаловірусу. У 36,1 % випадків у жінок із безпліддям виявлено асоціації бактеріальної флори із ЗПСШ. Аналіз видового та кількісного складу виділених ЗПСШ у I та II групах (перед вперше та повторно запланованими ДРТ) достовірної різниці не показав, що вказує на можливий рівнозначний негативний вплив на ефективність ДРТ та підтверджує доцільність діагностики цього спектру інфекційних агентів у всіх жінок на етапі підготовки до ембріотрансферу.

Діагностика інфекційної контамінації ендометрію підтвердила значно вищу частоту інфікування у пацієнок основної групи (81,6 % проти 10,3 % у контролі, $p < 0,001$). Отже, збудники інфекції у обстежених пацієнок викликають хронічний запальний процес в ендометрію (підтверджено результатами гістологічного дослідження), що негативно впливає на його імплантаційний потенціал. Про це засвідчує відсутність достовірної різниці між результатами видового та кількісного складу мікрофлори у жінок у першій і другій (із невдалими спробами ДРТ в анамнезі) групах. Результатами

сучасних досліджень (оцінювання експресії рецепторів до стероїдних гормонів в ендометрію при хронічних запальних його змінах у період передбачуваного вікна імплантації), встановлено певні особливості: зміщення піку експресії естрогенових та прогестеронових рецепторів та зменшення експресії рецепторів порівняно з нормальним ендометрієм [4].

Висновки

1. У жінок із безпліддям у програмі підготовки до допоміжних репродуктивних технологій має місце достовірно вища частота контамінації ендометрію патогенною та умовно-патогенною бактеріальною флорою (81,6 %), що на 71,2 % перевищило показники в групі контролю (10,3 %, $p < 0,001$).

2. Наявність абсолютних патогенів та умовно-патогенної мікрофлори в ендометрію жінок із безпліддям негативно впливає на його імплантаційні здатності, що підтверджує необхідність проведення мікробіологічного скринінгу ендометрію під час підготовки до ДРТ як для первинних, так і для повторних циклів.

3. Мікробіологічне дослідження ендометрію повинно бути обов'язковим етапом підготовки до циклів допоміжних репродуктивних технологій для виявлення патогенних мікроорганізмів і своєчасного проведення антибактеріальної терапії у відповідності до чутливості збудників, виділених саме з порожнини матки.

Перспективи подальших досліджень

Планується вивчення корелятивних взаємозв'язків між видовим і кількісним складом мікрофлори, що персистує в ендометрії та наявністю маркерів хронічного ендометриту CD 138 в біоптатах ендометрію, визначених імуногістохімічним методом на етапі передімплантаційної підготовки жінок до ДРТ.

Список літератури

1. Косей НВ, Татарчук ТФ, Ветох ГВ, Васильченко ЛА. Сучасні світові тенденції вивчення етіології, патогенезу, діагностики та лікування хронічного ендометриту. Репродуктивне здоров'я жінки. 2023;5:7-12. doi: 10.30841/2708-8731.5.2023.286763
2. Пирогова ВІ, Козловський ІВ, Голота ЛІ. Лікування хронічного ендометриту у жінок з безпліддям. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2014;2:116-8. doi: 10.11603/24116-4944.2014.2.5863

3. Sharkey AM, Smith SK. The endometritis as a cause of implantation failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol.* 2003;17(2):289-307. doi: 10.1016/s1521-6934(02)00130-x
4. Горбунова ОВ, Щербінська ОС, Ярова ІВ. Комплексний підхід до лікування безпліддя у жінок з патологією ендометрію. *Репродуктивне здоров'я жінки.* 2023;8:72-83. doi: 10.30841/2708-8731.8.2023.297797
5. Kimura F, Takebayashi A, Ishida M, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A, et al. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019;45(5):951-60. doi: 10.1111/jog.13937
6. Pirtea P, Cicinelli E, De Nola R, de Ziegler D, Ayoubi JM. Endometrial causes of recurrent pregnancy losses: endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis. *Fertil Steril.* 2021;115(3):546-60. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.12.010
2. Pyrohova VI, Kozlovskyy IV, Golota LI. Likuvannya khronichnoho endometrytu u zhinok z bezpliddiam [Treatment of chronic endometritis in women with infertility]. *Actual Problems of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology.* 2014;2:116-8. doi: 10.11603/24116-4944.2014.2.5863 (in Ukrainian).
3. Sharkey AM, Smith SK. The endometritis as a cause of implantation failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol.* 2003;17(2):289-307. doi: 10.1016/s1521-6934(02)00130-x
4. Gorbunova OV, Shcherbinska OS, Iarova IV. Kompleksnyi pidkhdid do likuvannya bezpliddia u zhinok z patolohiieiu endometriia [A comprehensive approach to the treatment of infertility in women with endometrial pathology]. *Reproductive Health of Woman.* 2023;8:72-83. doi: 10.30841/2708-8731.8.2023.297797 (in Ukrainian).
5. Kimura F, Takebayashi A, Ishida M, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A, et al. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019;45(5):951-60. doi: 10.1111/jog.13937
6. Pirtea P, Cicinelli E, De Nola R, de Ziegler D, Ayoubi JM. Endometrial causes of recurrent pregnancy losses: endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis. *Fertil Steril.* 2021;115(3):546-60. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.12.010

References

1. Kosei NV, Tatarchuk TF, Vetokh HV, Vasylichenko LA. Suchasni svitovi tendentsii vyvchennia etiologii, patohenezu, diahnostryky ta likuvannya khronichnoho endometrytu [Current global trends in the study of etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment of chronic endometritis]. *Reproductive Health of Woman.* 2023;5:7-12. doi: 10.30841/2708-8731.5.2023.286763 (in Ukrainian).

Відомості про авторів:

Рак Л. М. – к. мед. н., доцент кафедри акушерства та гінекології, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.

E-mail: ileyarlm999@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4394-3274>

Рак Р. О. – аспірант кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.

E-mail: roman.rak@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-6743-7629>

Information about authors:

Rak L. M. – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

E-mail: ileyarlm999@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4394-3274>

Rak R. O. – PhD student, Department of Anatomy, Clinical Anatomy, and Operative Surgery, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

E-mail: roman.rak@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-6743-7629>

Стаття надійшла до редакції 04.09.2024

© Л. М. Рак, Р. О. Рак

