

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПОМНОЇ
ОСВІТИ**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

КІРІЯ ДІАНА ГОГІЇВНА

УДК: 616-091.8:618.14-002.177

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПАТОГІСТОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ
ОСОБЛИВОСТІ ЕНДОМЕТРІЮ ПРИ ХРОНІЧНОМУ
ЕНДОМЕТРИТІ У ЖІНОК З БЕЗПЛІДДЯМ**

за спеціальністю «222 – Медицина»

спеціалізація «Патологічна анатомія»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Кірія Д.Г.

Науковий керівник: Яковцова Ірина Іванівна, докторка медичних наук, професорка.

Харків – 2024

АНОТАЦІЯ

Кірія Д.Г. Патогістологічні та імуногістохімічні особливості ендометрію при хронічному ендометриті у жінок з безпліддям. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина, спеціалізацією 14.03.02 патологічна анатомія. Харківський національний медичний університет, Харків, 2024. Захист відбудеться в Харківському національному медичному університеті.

Жіноче безпліддя – одна із актуальних проблем сучасного суспільства. Однією із провідних причин інфертильності є хронічний ендометрит (ХЕ). Ця патологія потребує настороженості лікарів-гінекологів через свій а-або малосимптомний перебіг, проте, велику поширеність серед пацієнток репродуктивного віку. Сьогодні все ще існує проблема діагностики ХЕ та прогнозування ефективності його лікування через відсутність чітко визначених клініко-морфологічних критеріїв. Саме чіткий діагностичний протокол допоможе констатувати успішність терапії та, відповідно, можливість жінки стати матір'ю.

Дисертаційна робота присвячена вивченню патогістологічних та імуногістохімічних (ІГХ) особливостей ендометрію при хронічному ендометриті у жінок із безпліддям із подальшим удосконаленням діагностичного та прогностичного алгоритму ХЕ.

Для вирішення поставлених у дослідженні завдань щодо визначення клініко-морфологічних та молекулярно-генетичних особливостей ендометрію при хронічному ендометриті було досліджено матеріал, представлений 50 Пайпель-біоптатами ендометрію пацієнток із ХЕ до лікування та повторною Пайпель-біопсією від 50 пацієнток після проведеної терапії із успішним настанням вагітності та народженням дитини впродовж наступних 6 місяців.

З метою визначення діагностично-прогностичних критеріїв було сформовано 2 групи дослідження: група 1 – 50 Пайпель-біоптатів ендометрію пацієток до проведеної терапії, група 2 – 50 Пайпель-біоптатів ендометрію після проведеного лікування.

На підставі аналізу інформації архіву патогістологічних та ІГХ-заклучень лабораторії «Прайм-тест» сформовано структуру причин жіночого безпліддя: на першому місці стоять розлади овуляторно-менструального циклу (56,36%), на другому – хронічний ендометрит (27,83%), на третьому – безпліддя невизначеної етіології (8,64%). Також було вираховано середній вік пацієток з ХЕ: він склав $30,5 \pm 3,8$ років. Аналіз клінічних даних дозволив встановити найпоширеніші скарги пацієток з ХЕ. Серед них скарги на повторювані невиношування вагітності або неможливість завагітніти (22%), дисменорея (14%), ациклічні маткові кровотечі (6%), гіпоменорея (10%). У 18% ХЕ мав асимптомний перебіг.

При морфологічному дослідженні ендометрію в групі 1 виділено такі основні діагностичні критерії хронічного ендометриту: наявність запальних інфільтратів із плазмоцитами (у 100% спостережень), вогнищевий фіброз строми (в 86% випадків) та стінок спіральних артерій (78% біоптатів), невідповідність будови ендометрію фазі менструального циклу (у 92% випадків). Таким чином, у 39 біоптатах (78%) мала місце повна форма ХЕ і в 11 (22%) досліджуваних зразках тканини ендометрію спостерігалась неповна форма захворювання. В результаті проведеного лікування відзначалося достовірне зменшення вираженості морфологічних ознак ХЕ або їх повне зникнення ($p=0,001$). Серед залишкових явищ в ендометрії в групі 2 можна було помітити вогнищевий фіброз строми (у 34% спостережень) та стінок артерій (24%), в 12% біоптатів зберігався дисхроноз ендометрію.

Для імуногістохімічного дослідження використовували маркери Ki-67 (MiB-1), Bcl-2 (clone124), p53 (4A8), p16 (1D7D2), VEGF (VG1),

Vimentin (MA3-745), E-kadherin (EP7004), ER (Estrogen Receptor 1D5), PR (PgR636), CD3 (SP7), CD4 (Clone 4B12), CD8 (SP16), CD20 (L26), CD31 (JC/70A), CD34 (SI16-01), CD44 (9A4), CD56 (123C3), CD68 (KP1), CD138 (DL-101).

Верифікація діагнозу проводилася за допомогою CD138 (Синдекану-1). Всі досліджувані біоптати групи 1 експресували маркер із відносним середнім значенням $8,8 \pm 0,33$ клітин та достовірним зниженням експресії CD138 в групі 2 ($p < 0,0001$) із відносним середнім показником $0,72 \pm 0,11$ клітин. Було визначено пороговий показник плазмоцитів, за якого з вірогідністю 80% жінка зможе успішно завагітніти та виносити дитину. Він склав $\leq 2,4$ клітини.

Аналіз проліферативної активності ендометрію за допомогою Ki-67 показав достовірне зниження ІМ в стромі ($p < 0,0001$) та в залозах ($p < 0,0001$) із характерним рівнем експресії маркера в 0-1 бал (0-20%) як у стромі ($p = 0,003$), так і в залозах ендометрію ($p = 0,01$).

Рецептивність ендометрію оцінювали за допомогою маркерів ER та PR. Стромальна експресія ER в обох групах перебувала в характерних межах 51-100%, проте для групи 2 помітне зростання випадків помірної експресії ($p < 0,0001$). Рівні експресії маркера в залозах суттєво не відрізнялися ($p = 0,42$). Проте помічено тенденцію до зниження відносних показників експресії ER в групі 2 як в стромі ($p < 0,0001$), так і в залозах ендометрію ($p < 0,0001$). Характерний рівень експресії PR в залозистому епітелії в групі 2 становив 0-50% ($p < 0,0001$), проте, не виявлено характерного інтервалу для стромі ($p = 0,77$).

Апоптотичні властивості ендометрію при ХЕ оцінювали за допомогою p53 та Bcl-2. Встановлено, що для групи 2 характерний рівень експресії Bcl-2 становив 0-49% ($p < 0,0001$) із зниженням відносних значень експресії маркера в групі 2 після терапії. Характерний рівень експресії p53 в групі 2 склав $< 10\%$ ($p < 0,0001$) із тенденцією до збільшення

відносного значення ІМ ($p < 0,0001$). Аналіз коекспресії Vcl-2 та Ki-67 виявив прямий сильний кореляційний зв'язок в групі 2 ($r = 0,42$; $p = 0,005$).

Аналіз експресії маркерів ЕМТ у стромі - E-kadherin та Vimentin показав, що для групи 2 характерним рівнем ІГХ-мітки E-kadherin виявився 51-100% ($p = 0,02$) з тенденцією до зростання відносного показника експресії в порівнянні з вихідним рівнем ($p < 0,001$). Для Vimentin такий рівень склав $< 10\%$ ($p < 0,0001$) із суттєвим зниженням експресії ІМ Vimentin в групі 2 ($p < 0,001$). В групі 1 помічено, що із втратою епітеліального фенотипу збільшувалася вираженість інфільтрації CD138+-клітинами ($p = 0,01$).

Аналіз експресії p16 дозволив визначити критичні рівні експресії маркера для залозистого епітелію: $p16 > 6,8\%$ та для покривного епітелію $> 21,8\%$. Достовірним було зростання відносних показників експресії маркера у покривному епітелії ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$) в групі 2.

Неоангіогенез оцінювали за допомогою 3 маркерів: CD31, CD34 та VEGF. Оцінка ІМ CD31 показала, що після лікування рівень відносних показників експресії маркера достовірно збільшився ($p = 0,001$), так само як і CD34 ($p < 0,0001$) та VEGF ($p < 0,0001$). Визначено прогностичний рівень експресії VEGF для настання вагітності: він склав $> 221,4$ ($p < 0,001$). Для CD34 прогностичний рівень склав $> 21,2$.

Аналіз імунного профілю ендометрія показав, що після проведеного лікування знижувалися відносні середні значення ІМ маркерів CD3 у стромі ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$), CD8 у стромі ($p < 0,0001$) та в епітелії залоз ($p < 0,0001$), CD20 у стромальному ($p < 0,0001$) та в епітеліальному компоненті ендометрію ($p < 0,0001$), CD56 у стромі ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$), CD68 в стромі ($p < 0,0001$) та залозистому епітелії ($p < 0,0001$). Водночас, помічене зростання ІМ

після проведеної терапії групи Т-хелперів CD4 у стромі ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$).

Також встановлено граничні прогностичні показники для всіх маркерів, за яких з вірогідністю 80% жінка зможе завагітніти та виносити дитину. Вони склали: для CD3 у стромі $\leq 34,96$ та в епітелії залоз $\leq 21,04$; для CD4 у стромі $> 37,69$, для залоз $> 9,75$; для CD8 у залозистому епітелії $\leq 5,95$; для CD20 в залозах $\leq 5,46\%$ та для стромы $\leq 12,61\%$; для CD56 $\leq 50,06$ і $\leq 16,52$ в залозистому епітелії ендометрія; для CD68 в стромі ендометрію $\leq 9,86$ та в епітелії залоз $\leq 5,99$.

Оцінка експресії маркера CD44 виявила достовірне збільшення відносних середніх показників експресії в групі 2 ($p < 0,001$) із встановленням критичного відносного середнього значення на рівні $> 54,75\%$.

Отримані в дослідженні дані дозволили сформуванати діагностичні та прогностичні критерії успішності лікування ХЕ та настання вагітності з народженням дитини з чутливістю 80%.

Запропоновано оптимальну діагностично-прогностичну панель імуногістохімічних маркерів для оцінки ефективності терапії ХЕ.

Ключові слова: хронічний ендометрит, ендометрій, прогноз, морфологічна діагностика, імуногістохімічне дослідження, рецептивність ендометрію, естроген, безпліддя.

ANNOTATION

Kiriya Diana Gogiivna. Pathohistological and immunohistochemical features of the endometrium in chronic endometritis in women with infertility. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

These is for the degree of Philosophy Doctor in specialty 222 "Medicine". – Kharkiv National Medical University, 2024. – Kharkiv National Medical University.

Female infertility is one of the urgent problems of modern society. One of the leading causes of infertility is chronic endometritis (CE). This pathology requires the vigilance of gynecologists due to its asymptomatic course, however, high prevalence among patients of reproductive age. Today, there is still a problem of diagnosing CE and predicting the effectiveness of its treatment due to the lack of clearly defined clinical and morphological criteria. A clear diagnostic protocol will help determine success of therapy and, accordingly, woman's ability to become a mother.

Dissertation is devoted to the study of pathohistological and immunohistochemical (IHC) features of endometrium in chronic endometritis in women with infertility, with further improvement of diagnostic and prognostic algorithm of CE.

In order to solve tasks set in the research to determine the clinical, morphological and molecular genetic features of the endometrium in chronic endometritis, material represented by 50 Peipel biopsies of the patients` with CE endometrium before treatment and repeated Peipel biopsies from 50 patients after therapy with successful pregnancy was examined and child`s birth within the next 6 months.

In order to determine diagnostic and prognostic criteria, 2 study groups were formed: group 1 – 50 Peipel biopsies of patients` endometrium before therapy, group 2 – 50 Peipel endometrium biopsies after treatment.

Based on analysis of information from the archive of pathohistological and IHC results of the «Prime-test» laboratory, the structure of causes of female infertility was formed: in the first place are disorders of the ovulatory-menstrual cycle (56.36%), in the second place - chronic endometritis (27.83%), on the third - infertility of unknown etiology (8.64%). The average age of patients with CE was also calculated: it was 30.5 ± 3.8 years. The analysis of clinical data made it possible to establish the most common complaints of patients with CE. Among them are complaints of repeated miscarriages or inability to conceive (22%), dysmenorrhea (14%), acyclic uterine bleeding (6%), hypomenorrhea (10%). 18% had an asymptomatic course.

During morphological examination of endometrium in group 1, following main diagnostic criteria of chronic endometritis were identified: presence of inflammatory infiltrates with plasma cells (in 100% of observations), focal fibrosis of stroma (in 86% of cases) and walls of spiral arteries (78% of biopsies), inconsistency of endometrium structure with the phase of menstrual cycle (in 92% of cases). Thus, in 39 biopsies (78%) there was a complete form of CE, and in 11 (22%) of the studied samples of endometrial tissue, an incomplete form of disease was observed. As a result of treatment, a significant decrease in severity of the morphological signs of CE or their complete disappearance was noted ($p=0.001$). Among residual phenomena in the endometrium in group 2, it was possible to notice focal fibrosis of the stroma (in 34% of observations) and arterial walls (24%), in 12% of biopsies, endometrial dyschronosis persisted.

Ki-67 (MiB-1), Bcl-2 (clone124), p53 (4A8), p16 (1D7D2), VEGF (VG1), Vimentin (MA3-745), E-cadherin (EP7004), ER (Estrogen Receptor 1D5), PR (PgR636), CD3 (SP7), CD4 (Clone 4B12), CD8 (SP16), CD20 (L26), CD31 (JC/70A), CD34 (SI16-01), CD44 (9A4), CD56 (123C3), CD68 (KP1), CD138 (DL-101) markers were used for immunohistochemical research.

Verification of diagnosis was carried out using CD138 (Syndecan-1). All studied biopsies of group 1 expressed marker with a relative mean value of 8.8 ± 0.33 cells and a significant decrease in CD138 expression in group 2 ($p < 0.0001$) with a relative mean value of 0.72 ± 0.11 cells. A threshold number of plasma cells was determined, at which a woman would be able to successfully conceive and bear a child with an 80% probability. It was ≤ 2.4 cells.

Analysis of endometrium proliferative activity using Ki-67 showed a significant decrease in MI in stroma ($p < 0.0001$) and in glands ($p < 0.0001$) with a characteristic level of marker expression in 0-1 points (0-20%) as in stroma ($p = 0.003$), as well as in endometrial glands ($p = 0.01$).

Endometrial receptivity was assessed using ER and PR markers. The stromal expression of ER in both groups was within the characteristic range of 51-100%, but for group 2 there was a noticeable increase in cases of moderate expression ($p < 0.0001$). The expression levels of marker in glands did't differ significantly ($p = 0.42$). However, a tendency towards a decrease in the relative indicators of ER expression was observed in group 2 both in the stroma ($p < 0.0001$) and in the endometrial glands ($p < 0.0001$). Characteristic level of PR expression in glandular epithelium in group 2 was 0-50% ($p < 0.0001$), but here, no characteristic interval for stroma was found ($p = 0.77$).

Apoptotic properties of endometrium during CE were assessed using p53 and Bcl-2. It was established that for group 2, characteristic level of Bcl-2 expression was 0-49% ($p < 0.0001$) with a decrease in the relative values of marker expression in group 2 after therapy. The characteristic level of p53 expression in group 2 was $< 10\%$ ($p < 0.0001$) with a tendency to increase the relative value of MI ($p < 0.0001$). Analysis of the coexpression of Bcl-2 and Ki-67 revealed a direct strong correlation in group 2 ($r = 0.42$; $p = 0.005$).

The analysis of EMT markers expression in stroma - E-cadherin and Vimentin showed that for group 2, characteristic level of the E-cadherin IHC-label turned out to be 51-100% ($p=0.02$) with a tendency towards an increase in the relative expression index compared to initial level ($p<0.001$). For Vimentin, this level was $<10\%$ ($p<0.0001$) with a significant decrease in the expression of MI Vimentin in group 2 ($p<0.001$). In group 1, it was observed that with the loss of the epithelial phenotype, the intensity of infiltration by CD138+ cells increased ($p=0.01$).

The analysis of p16 expression made it possible to determine the critical expression levels of marker for glandular epithelium: $p16 > 6.8\%$ and for surface epithelium $> 21.8\%$. There was a significant increase in the relative indicators of marker expression in surface epithelium ($p<0.0001$) and glandular epithelium ($p<0.0001$) in group 2.

Neoangiogenesis was evaluated using 3 markers: CD31, CD34 and VEGF. Evaluation of MI CD31 showed that after treatment level of relative marker expression significantly increased ($p=0.001$), as well as CD34 ($p<0.0001$) and VEGF ($p<0.0001$). Prognostic level of VEGF expression for onset of pregnancy was determined: it was >221.4 ($p<0.001$). For CD34, the predictive level was >21.2 .

Analysis of endometrium immune profile showed that after treatment, relative mean values of MI markers CD3 in stroma ($p<0.0001$) and glandular epithelium ($p<0.0001$), CD8 in stroma ($p<0.0001$) and in glandular epithelium ($p<0.0001$), CD20 in the stromal ($p<0.0001$) and epithelial component of endometrium ($p<0.0001$), CD56 in stroma ($p<0.0001$) and glandular epithelium ($p<0.0001$), CD68 in stroma ($p<0.0001$) and glandular epithelium ($p<0.0001$). At the same time, an increase in MI was observed after the therapy of the CD4 T-helper group in stroma ($p<0.0001$) and glandular epithelium ($p<0.0001$).

Limit prognostic indicators have also been established for all markers, at which a woman will be able to conceive and bear a child with an 80% probability. They were: for CD3 in stroma ≤ 34.96 and in glandular epithelium ≤ 21.04 ; for CD4 in stroma > 37.69 , for glands > 9.75 ; for CD8 in glandular epithelium ≤ 5.95 ; for CD20 in glands $\leq 5.46\%$ and for stroma $\leq 12.61\%$; for CD56 ≤ 50.06 in stroma and ≤ 16.52 in the glandular epithelium; for CD68 in endometrial stroma ≤ 9.86 and in glandular epithelium ≤ 5.99 .

Evaluation of the expression of CD44 marker revealed a significant increase in relative averages of expression in group 2 ($p < 0.001$) with a critical relative average value of $> 54.75\%$.

The data obtained in the study made it possible to form diagnostic and prognostic criteria for treatment success of CE and the onset of pregnancy with the birth of a child with a sensitivity of 80%.

An optimal diagnostic and prognostic panel of immunohistochemical markers for evaluating the effectiveness of CE therapy is proposed.

Key words: chronic endometritis, endometrium, prognosis, morphological diagnosis, immunohistochemical study, endometrial receptivity, estrogen, infertility.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати
дисертації*

1. Kiriya, D. (2023). Assessment of the receptivity of the endometrium to steroid hormones in women with chronic endometritis. *Periodyk naukowy Akademii Polonijnej*, 56 (1), 419-424. doi: [https://doi.org/ 10.23856/5657](https://doi.org/10.23856/5657)

2. Кірія, Д.Г. (2023). Роль епітеліально-мезенхімальної трансформації у безплідді, викликаному хронічним ендометритом. *Вісник проблем біології і медицини*, 1 (168), 343-351. doi: 10.29254/2077-4214-2023-1-168-343-351

3. Кірія, Д.Г. (2023). Структурний аналіз причин жіночого безпліддя у лікувальних закладах м. Харків. *Східноєвропейський журнал внутрішньої та сімейної медицини*, 1, 97-101. doi: 10.15407/internalmed2023.01.097

*Публікації, які додатково відображають наукові результати
дисертації:*

4. Данилюк, С.В., Кірія, Д.Г., Долгая, О.В. & Олійник, А.Є. (2020). Патогістологічні та імуногістохімічні особливості ендометрія при хронічному ендометриті у жінок з безпліддям (огляд літератури). *Вісник проблем біології і медицини*, 4 (158), 13-17. doi: 10.29254/2077-4214-2020-4-158-13-17

*Друковані роботи, які засвідчують апробацію матеріалів
дисертаційної роботи:*

5. Кірія, Д.Г. (2023). Прогностична роль експресії маркерів кі-67 та bcl-2 при хронічному ендометриті у жінок з безпліддям. *Integration of scientific solutions and methods into practice. Abstracts of XVI International*

Scientific and Practical Conference. (м. Париж, Франція, 24-26 квітня 2023 р.), Париж, 2023 р. С. 193-195

6. Kiriya, D. (2023). Prognostic role of apoptosis markers in chronic endometritis in women with infertility. Scientists and modern theoretical ideas. Abstracts of XXXV International Scientific and Practical Conference. (м. Хайфа, Ізраїль, 4-6 вересня 2023 р.), Хайфа, 2023 р. С. 114-117

7. Kiriya, D. & Yakovtsova, I.I. (2023). Dynamics of VEGF expression in the endometrium in patients with CE before and after therapy. Sectoral research XXI: characteristics and features. Abstracts of VI International Scientific and Theoretical Conference. (м. Чикаго, США, 8 вересня 2023 р.), Чикаго, 2023 р. С. 144-146

8. Кірія, Д. (2023). Зниження експресії маркера p16 як предиктор повторюваних викиднів у жінок з хронічним ендометритом. Modern problems and the latest theories of development. Матеріали XXXVI міжнародної науково-практичної конференції. (м. Мюнхен, Німеччина, 11-13 вересня 2023 р.), Мюнхен, 2023 р. С. 170-173

9. Hryhorenko, V. & Kiriya, D. (2024). Assessment of clinical features of endometrium in chronic endometritis. Problems of integration of education, science and business in globalization. Abstracts of VI International Scientific and Practical Conference. (м. Софія, Болгарія, 5-7 лютого 2024 р.), Софія, 2024 р. С. 182-184

10. Григоренко, В.Р. & Кірія, Д.Г. (2024). Морфологічні особливості ендометрію при хронічному ендометриті. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Наука, освіта і технології: світові тенденції та регіональний аспект» (м. Тампере, Фінляндія, 3 лютого 2024 р.), Тампере, 2024 р., . С. 30-32

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	17
ВСТУП	18
Розділ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ХРОНІЧНИЙ ЕНДОМЕТРИТ. КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕНДОМЕТРІЮ (огляд літератури)	26
1.1. Епідеміологія хронічного ендометриту та його зв'язок із безпліддям	26
1.2. Етіопатогенез хронічного ендометриту	28
1.3. Поняття рецептивності ендометрію	33
1.4. Сучасні можливості діагностики хронічного ендометриту	34
1.4.1 Ультразвукове дослідження органів малого тазу	35
1.4.2 Патоморфологічне дослідження біоптату ендометрія при хронічному ендометриті	36
1.4.3. Імуногістохімічне дослідження гістологічного зрізу ендометрію при ХЕ	38
1.4.3.1 Синдекан-1 як золотий стандарт діагностики ХЕ	38
1.4.3.2 Оцінка проліферативної та апоптотичної активності ендометрію	39
1.4.3.3 Оцінка гормонального статусу ендометрія	42
1.4.3.4 Дослідження васкуляризації ендометрія	44

1.4.3.5 Дослідження складу імунокомпетентних клітин в тканині ендометрію при хронічному ендометриті	47
1.4.3.6 Місце епітеліально-мезенхімальної трансформації в розвитку безпліддя при хронічному ендометриті	49
1.4.3.7 Ідентифікація клітин з стовбуровим фенотипом в ендометрії	51
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	53
2.1. Клінічна характеристика пацієнок та дизайн дослідження	53
2.2. Характеристика бази дослідження	56
2.3 Методи дослідження	56
2.3.1 Схеми лікування, що використовувалися в дослідженні	57
2.3.2 Методика проведення Пайпель-біопсії	59
2.3.3 Гістологічне дослідження	59
2.3.4 Імуногістохімічне дослідження	60
2.5 Статистична обробка результатів дослідження	63
Розділ 3. АНАЛІЗ КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ЕНДОМЕТРІЯ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ЕНДОМЕТРИТІ	65
3.1. Структурний аналіз причин жіночого безпліддя та клінічних даних пацієнок	65
3.2. Морфологічна характеристика ендометрію при хронічному ендометриті	67
3.3 Резюме	71
Розділ 4. АНАЛІЗ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ЕНДОМЕТРІЯ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ЕНДОМЕТРИТІ	73

4.1. Експресія Синдекану-1 в ендометрії	73
4.2. Аналіз змін проліферативної активності ендометрія	75
4.3 Оцінка динаміки рецептивності ендометрія	79
4.4. Оцінка апоптотичних властивостей ендометрію	86
4.5. Феномен епітеліально-мезенхімальної трансформації в ендометрії	92
4.6. Оцінка експресії білка p16 в ендометрії	96
4.7 Оцінка динаміки експресії маркерів неоангіогенезу в ендометрії	101
4.8 Імунний профіль ендометрію та динаміка експресії маркерів імуноцитів при терапії ХЕ	106
4.9. Оцінка експресії CD44 в ендометрії	115
4.10 Резюме	117
Розділ 5. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	
ВИСНОВКИ	121
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	131
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	134
Додатки А. Акти впровадження	137
Додаток Б. Список публікацій здобувачки за темою дисертації	173
	178

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВМК – внутрішньоматкові контрацептиви

ВПГ – вірус простого герпесу

ВПЛ – вірус папіломи людини

Г+Е – гематоксилін-еозин

ЕМТ - епітеліально-мезенхімальна трансформація

ІГХ - імуногістохімія

ІМ - індекс мітки

ХЕ – хронічний ендометрит

СПКЯ – синдром полікістозних яєчників

ЗПСШ – захворювання, що передаються статевим шляхом

ЦМВ – цитомегаловірус

PR – прогестеронові рецептори

ER – естрогенові рецептори

ЛТГ – лютеїнізуючий гормон

TNF- α – фактор некрозу пухлин- α

VEGF – судинний фактор росту

МЕТ – мезенхімально-епітеліальна трансформація

МЦ – менструальний цикл

УЗД – ультразвукове дослідження

НА – гіалуронан

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Питання безпліддя продовжують зберігати свою актуальність і статус найбільш пріоритетних напрямків в акушерстві та гінекології в зв'язку зі стабільно високою частотою у світовій популяції і значною поширеністю. Згідно з даними епідеміологічних досліджень, частота безпліддя у різних країнах світу коливається від 8 до 18%. За оцінкою фахівців, в Європі безплідні близько 10% подружніх пар, в США - 8-18%, в Канаді - 17%, в Австралії - 15,4%. Частка безплідних шлюбів на території України коливається від 8 - 17,5% і не має тенденції до зниження [11].

Клінічно, за визначенням ВООЗ, безпліддя - хвороба репродуктивної системи, яка виражається у відсутності клінічної вагітності після 12 або більше місяців регулярного статевого життя без запобігання вагітності [12].

Безпосередніми причинами жіночого безпліддя є: 1) непрохідність фаллопієвих труб в результаті інфекцій, що передаються статевим шляхом, стерилізації жінки або їх відсутність після хірургічного видалення (трубний фактор); 2) спайковий процес в малому тазу (перитонеальний фактор) внаслідок операцій, запального процесу, ендометріозу; 3) гормональні порушення - у зв'язку з патологією яєчників і інших ендокринних і неендокринних органів; 4) патологічні процеси матки, як вроджені, так і набуті (рубці на матці після операцій, новоутворення матки, аденоміоз, ендометрит та ін.) - т. зв. матковий фактор; 6) імунологічне безпліддя через наявність у жінки антитіл до сперматозоїдів; 7) спадкові та хромосомні захворювання [13, 14].

Лідуюче місце серед причин маточного фактора безпліддя займають хронічні запальні процеси в ендометрії. В основі патогенезу безпліддя при ураженні матки лежить порушення імплантації ембріона на

стадії бластоцисти, що відбувається в середині лютеїнової фази (19 - 24-й день менструального циклу) [15-18].

Серед пацієнок з хронічними ендометритами (ХЕ) 97,6% становлять жінки репродуктивного віку, що підкреслює особливу значимість даної патології з точки зору впливу на репродуктивну функцію [19]. У жінок з безпліддям ХЕ зустрічається в 12-68% випадків, досягаючи свого максимуму за наявності трубно-перитонеального фактору безпліддя. У хворих з невдалими спробами ЕКЗ частота ХЕ зростає до 60% і більше. Найбільші показники поширеності ХЕ відзначені у хворих зі звичним невиношуванням вагітності і складають понад 70% [20-22].

ХЕ є клініко-морфологічним синдромом, ініційованим часто інфекційним агентом, що розвивається в результаті самопідтримки патологічного процесу, в основі якого лежить порушення продукції прозапальних цитокінів; характеризується розвитком стійких анатомічних і функціональних змін в залозистому епітелії матки з порушенням нормальної циклічної трансформації і рецептивності тканини [23, 24].

За даними різних авторів, факторами ризику розвитку ХЕ є всі інвазивні втручання в порожнину матки (гістероскопія, вишкрібання порожнини матки, біопсія ендометрію, гістросальпінгографія, маніпуляції в програмах допоміжних репродуктивних технологій і ін.), Інфекційно-запальні ускладнення після вагітностей і пологів, використання внутрішньоматкових спіралей, інфекції піхви і шийки матки, деформації порожнини матки з порушенням циклічного відторгнення ендометрія, променева терапія в області органів малого тазу [25-27].

Механізми виникнення, розвитку ХЕ і нюанси його патогенезу до сьогоднішніх днів залишаються предметом ретельного дослідження. Так, в останні десятиліття зазнала значних змін класифікація ХЕ за

етіологічним фактором зі збільшенням значимості вірусної і умовно-патогенної флори [28]. Виділено вірусні (вірус папіломи людини - ВПЛ, цитомегаловірус, вірус імунодефіциту людини - ВІЛ), хламідійні, мікоплазмові, грибові, протозойні і паразитарні ендометрити, навіть саркоїдоз ендометрія [29, 30, 31].

Істотна роль у розвитку ХЕ належить порушенням місцевого і загального імунітету (аутоімунна теорія), що маніфестують запальними ускладненнями після пологів і абортів, інфекційними ураженнями шийки матки і піхви [32].

За даними більшості авторів загальноприйнятими критеріями морфологічної діагностики захворювання є:

1) Запальні інфільтрати, що складаються переважно з лімфоїдних елементів, розташовані частіше навколо залоз і кровоносних судин, рідше дифузно. Вогнищеві інфільтрати мають вигляд «лімфоїдних фолікулів» і розташовуються не тільки в базальному, а й у всіх відділах функціонального шару, до складу їх входять також лейкоцити і гістіоцити; 2) наявність плазматичних клітин; 3) вогнищевий фіброз строми, що виникає при тривалому перебігу хронічного запалення, іноді захоплюючий великі ділянки; 4) склеротичні зміни стінок спіральних артерій ендометрію, що з'являються при найбільш тривалому і наполегливому перебігу захворювання і вираженої клінічної симптоматики. Відмінності в трактуванні гістологічних особливостей ХЕ обумовлені наявністю варіантів, які визначаються особливостями загальної і тканинної реактивності, етіологічним фактором, тривалістю захворювання, наявністю загострень і ступенем їх вираженості [33, 34].

Основоположним методом верифікації ХЕ, як найважливішого чинника маточного безпліддя, а також методом контролю успішності його медикаментозної терапії слід вважати патогістологічне дослідження із застосуванням широкої панелі ІГХ маркерів [35].

Як правило, для діагностики ХЕ використовуються наступні ІГХ маркери: CD20, CD138, Ki-67, рецептори до естрогену і прогестерону [36], що, на жаль, не дає можливості в повній мірі оцінити стан ендометрію. Вище зазначене свідчить про необхідність розширення та оптимізації панелі ІГХ маркерів для діагностики ХЕ, визначення індивідуального прогнозу перебігу захворювання та його медикаментозної корекції [37-42].

Висока частота безпліддя у жінок репродуктивного віку, однією з важливих причин якого є ХЕ, складність клініко-морфологічної діагностики та неефективність лікування жінок з ХЕ свідчать про актуальність та необхідність подальшого вивчення цієї проблеми.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини ХНМУ в рамках НДР кафедри перинатології, акушерства та гінекології ХМАПО: “Вивчення дії патогенетичних факторів ушкодження репродуктивної системи жінок на структуру перинатальних втрат і гінекологічну захворюваність і розробка нових терапевтичних заходів, спрямованих на збереження здоров'я нації” (№ державної реєстрації 0111U002865) та НДР кафедри акушерства та гінекології №3 ХНМУ «Створення системи прогнозування, профілактики та лікування ускладнень вагітності, пологів і післяпологового періоду в жінок, які зазнали впливу стресу внаслідок військових дій» (№ державної реєстрації 0123U104315), у якій автор є безпосереднім виконавцем морфологічних та імуногістохімічних досліджень жінок з ХЕ.

Мета роботи. Мета роботи – оптимізувати діагностичний алгоритм ХЕ у жінок з безпліддям на основі комплексного клініко-морфологічного та ІГХ дослідження.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз захворюваності на ХЕ у жінок з безпліддям, які зверталися до патоморфологічної лабораторії з ІГХ діагностикою «Прайм Тест» у період з 2014 по 2021 рр.
2. Вивчити клініко-морфологічні особливості ХЕ.
3. Визначити експресію маркерів імунокомпетентних клітин CD3, CD4, CD8, CD20, CD56, CD68, CD138 для встановлення характеру та ступеню виразності ХЕ.
4. Проаналізувати рівні експресії рецепторів до естрогену та прогестерону в епітелії та стромі ендометрію.
5. Визначити особливості рівня експресії маркерів проліферації (Ki-67) та антиапоптозу (Bcl-2) в ендометрії.
6. Вивчити особливості васкуляризації та ангиогенезу (CD31, CD34, VEGF) в ендометрії при ХЕ.
7. Оцінити експресію маркеру p16, як показника інфікування вірусом папіломи людини та маркеру стовбурових клітин CD44 в ендометрії, виявити їх діагностичне значення.
8. Проаналізувати морфологічні та ІГХ особливості ендометрію після проведеного лікування ХЕ.
9. Визначити найбільш інформативні клініко-морфологічні та ІГХ критерії діагностики ХЕ.

Об'єкт дослідження – хронічний ендометрит.

Предмет дослідження – клінічні, морфологічні, молекулярно-біологічні ознаки ХЕ.

Методи дослідження – клінічні (аналіз патогістологічних заключень та направлень на патогістологічне дослідження), патогістологічний, імуногістохімічний, статистичний.

Наукова новизна. В роботі на підставі комплексного аналізу клінічних, патоморфологічних та імуногістохімічних особливостей ендометрію при хронічному ендометриті отримані нові дані щодо прогностичних та діагностичних критеріїв ефективності лікування захворювання.

Вперше запропоновано діагностичну панель ІГХ-маркерів для повноцінної оцінки молекулярно-біологічних особливостей ендометрію із зазначенням обов'язкових та другорядних маркерів.

Авторкою вперше запропонована прогностична панель ІГХ-маркерів із вказанням критичних числових значень експресії для кожного з них, за яких з чутливістю 80% настане вагітність з послідуєчим народженням дитини.

Доповнено та розширено знання про клінічні та морфологічні особливості ендометрію при ХЕ. Визначено основні патоморфологічні критерії діагностики ХЕ: наявність запальних інфільтратів із плазмоцитами, вогнищевий фіброз строми та стінок спіральних артерій, невідповідність будови ендометрію фазі менструального циклу. Доведено, що зменшення або повне зникнення цих ознак може бути критерієм успішності проведеної терапії ХЕ ($p=0,001$).

Практичне значення очікуваних результатів. Визначені клініко-морфологічні та молекулярно-біологічні критерії ХЕ дозволять покращити його діагностику. В роботі представлена оптимальна панель ІГХ-маркерів для діагностики та оцінки ефективності лікування ХЕ. Розроблений діагностичний та прогностичний алгоритм ХЕ може бути теоретичним обґрунтуванням медикаментозної корекції ХЕ.

Особистий внесок автора. Дисертаційне дослідження авторки є самостійною роботою. В дисертації розроблено та втілено оригінальні ідеї та задуми. Основні етапи роботи та програма дослідження визначені за допомогою наукового керівника. Авторкою особисто проведено огляд сучасних літературних джерел, здійснено збір та аналіз біопсійного матеріалу, виконані гістологічні й імуногістохімічні дослідження, аналіз, узагальнення та статистична обробка отриманих результатів, сформульовано висновки й практичні рекомендації. Власноруч авторкою також здійснено підбір та оформлення ілюстративного матеріалу, написані всі розділи дисертації. Результати роботи відображені в наукових публікаціях, представлені на міжнародних науково-практичних конференціях. У роботах, що були виконані у співавторстві, ідеї та основні положення належать дисертантці. Авторкою не були використані результати та ідеї співавторів публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені на XVI Міжнародній науковій та практичній конференції «Integration of scientific solutions and methods into practice» (м. Париж, Франція, 2023 р.), XXXV Міжнародній науковій та практичній конференції «Scientists and modern theoretical ideas» (м. Хайфа, Ізраїль, 2023 р.), VI Міжнародній науковій та теоретичній конференції «Sectoral research XXI: characteristics and features» (м. Чикаго, США, 2023 р.), XXXVI Міжнародній науково-практичній конференції «Modern problems and the latest theories of development» (м. Мюнхен, Німеччина, 2023 р.), VI Міжнародній науковій та практичній конференції «Problems of integration of education, science and business in globalization» (м. Софія, Болгарія, 2024 р.), Міжнародній науково-практичній конференції «Наука, освіта і технології: світові тенденції та регіональний аспект» (м. Тампере, Фінляндія, 2024 р.).

Практичне використання пропозицій підтверджується актами впровадження у патологоанатомічному відділенні КНП ХОР «Міський перинатальний центр» (акт від 25.04.2023 р.), гінекологічному відділенні ТОВ «ПРИВАТ КЛІНІК» (акт від 22.05.2023 р.), у КП «Полтавське обласне патологоанатомічне бюро» (акт від 11.09.2023), в навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Харківського Національного медичного університету (акт від 02.10.2023), кафедрі патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету (акт від 30.05.2023).

Публікації. За матеріалами проведеного дослідження опубліковано 10 наукових праць, у тому числі 3 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих переліком МОН України, 1 стаття у періодичних наукових виданнях іншої держави, яка входить до Організації економічного співробітництва та розвитку та Європейського Союзу, 6 тез у збірниках вітчизняних та іноземних науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 179 сторінках комп'ютерного тексту. Складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 2 розділів з власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, що містить 228 найменувань (з них 47 кирилицею, 181 латиною); обсяг списку використаних джерел – 36 сторінок, додатків. Матеріали дисертації ілюстровані 46 рисунками та 20 таблицями.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ХРОНІЧНИЙ ЕНДОМЕТРИТ. КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕНДОМЕТРІО

(огляд літератури)

1.1. Епідеміологія хронічного ендометриту та його зв'язок із безпліддям

Безумовно, проблемою, що не тільки не вщухає, але і набирає обертів, є безпліддя [43]. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) трактує безпліддя як невдалі спроби вагітності або її ненастання впродовж 12 місяців незахищеного статевого життя або донорської інсемінації для жінок молодше 35 років та впродовж 6 місяців для жінок старше 35 років [44].

За даними Brugo-Olmedo [43] 1 з 6 пар стикається з даною проблемою, за оцінками інших авторів у 1997 році від 3 до 7% гетеросексуальних пар почули діагноз «безпліддя» без чітко визначеної причини, що спричинила даний стан [45]. Станом на 2019 рік відсоток партнерів, що не можуть мати дитину, коливається від 12 до 28%, при цьому в 20-30% причина безпліддя криється в чоловікові і в 20 -35% діагностується жіноче безпліддя [44-46].

Сучасні вітчизняні та закордонні літературні джерела включають безпліддя, невдалі спроби використання допоміжних репродуктивних технологій, невиношування та вагітність, що не розвивається, у широкий термін «репродуктивні втрати» [47-54]. Багато дослідників проводять паралель між ХЕ та репродуктивними втратами [19, 45, 50, 55].

За визначенням Kotaro Kitaya [56], хронічний ендометрит – локальне запальне захворювання, що характеризується незвичайною

інфільтрацією плазмочитами строми ендометрію. Доповнити це морфологічне визначення можна цитатою, що пояснює суть патологічного стану: «стан, що включає порушення мирного співіснування між мікроорганізмами та імунною системою господаря в ендометрії» [19]. В 1975 році ХЕ став окремою нозологією у Міжнародній класифікації хвороб (МКХ) IX перегляду, проте остаточне окреме місце посів у МКХ-10 [57]. Його можна знайти у рубриці «запальні хвороби органів малого тазу у жінок» із шифром N 71.1 – хронічне запальне захворювання матки [57].

Особливу увагу хронічний ендометрит привертає через свою поширеність, що зростає з роками, адже за різними даними поширеність його в загальній популяції складає 10-11% [19, 58] та морфологічно діагноз підтверджується у 9,3-72% випадків серед пацієнток, які проходять обстеження у зв'язку з безпліддям [16, 58, 59]. Такі показники з великим діапазоном коливань можна пояснити вірогідністю діагностичних помилок, відсутністю патогномонічної симптоматики або, і взагалі, асимптомним перебігом захворювання та труднощами діагностики [60, 61].

Не дивлячись на велику кількість досліджень, що ведуться сьогодні, сучасна медицина досі не має єдиного підходу для діагностики, лікування ХЕ та проведення предгравідарної підготовки жінок з повторюваним невиношуванням вагітності або невдалими спробами допоміжних репродуктивних технологій [62, 63]. Хоча саме ця категорія пацієнток є гарним резервом для зменшення кількості репродуктивних втрат та підвищення фертильності.

1.2 Етіопатогенез хронічного ендометриту

Патогенез ХЕ досі є не до кінця вивченим питанням та викликає багато суперечок серед дослідників цієї проблеми. [64].

До групи ризику з виникнення ХЕ можна віднести пацієнок, які перенесли інвазивні втручання в маткову порожнину, наприклад гістероскопію, взяття матеріалу з порожнини матки на гістологічне дослідження, вишкрібання, гістросальпінгографію та інші типи втручань [65]. Також слід враховувати інші фактори гінекологічного анамнезу жінки: попередні пологи та можливі інфекційно-запальні ускладнення, використання внутрішньоматкових контрацептивів (ВМК), наявність захворювань, що передаються статевим шляхом (ЗПСШ), бактеріальний вагіноз, який характеризується зменшенням вмісту лактобацил і більшою поширеністю анаеробних бактерій, включаючи *Gardnerella vaginalis*, *Megasphaera spp.*, і *Atopobium vaginae* [66, 67]. Вчені помічають зростання частоти виникнення ХЕ, що пов'язано із популяризацією ВМК, частими перериваннями вагітності [68]. Також, згідно досліджень Shuang Wang та співавторів, підозрювати ХЕ слід у жінок, що також страждають на синдром полікістозних яєчників (СПКЯ), адже за результатами роботи виявлено, що частота виявлення ХЕ у пацієнок з СПКЯ становила 41,73%, що майже вдвічі перевищувало аналогічний показник у пацієнок без СПКЯ (28,5%) [69]. До аналогічного висновку прийшли і вітчизняні дослідники Досвальд А. та Маланчук Л. [72]. Невиключеною є первинна хронізація запального процесу внаслідок реактивації ендометріальної мікрофлори при порушенні імунного балансу та локальної резистентності ендометрію у жінок з імунodefіцитами [70, 71, 73].

За літературними даними, хронічний ендометрит – це полімікробне поліетіологічне захворювання зі складними ланками патогенезу [66, 74, 75-78].

На думку багатьох науковців, переважаючу роль серед мікроорганізмів, що викликають хронічне запалення ендометрію, грають мікроорганізми-збудники ЗПСШ, а також резидентна вагінальна мікрофлора, що у великій концентрації викликає висхідне інфікування з можливим розвитком персистуючої інфекції [79, 80]. Так, у дослідженні Постоленко В.Ю. виконувався скринінг мікробіоти ендометрію при хронічному ендометриті. Було виявлено, що у переважної більшості здорових жінок в порожнині матки мікрофлори не виявлено, у 10 % жінок висіяно *Staphylococcus aureus* та у 6,7% жінок *Candida albicans*. Оскільки вважається, що порожнина матки у нормі стерильна, то мікробна контамінація ендометрію, на думку автора, є наслідком або оперативних втручань, або внесення мікроорганізмів шляхом їх адгезії до сперматозоїдів. Водночас, у жінок з ХЕ дослідник зазначає набагато ширший спектр мікробіоти: умовні патогени - *Escherichia coli* (4 %), *Staphylococcus aureus* (6 %), *Streptococcus B* (2 %), *Lactobacillus spp* (2 %); збудники ЗПСШ – *Chlamydia trachomatis* (12 %), *Mycoplasma hominis* (14 %), *Ureaplasma urealyticum* (10 %) [79]. Також до можливих збудників відносять віруси (найчастіше – вірус простого герпесу (ВПГ) різних типів та цитомегаловірус (ЦМВ)) [81], грибкові та протозойні інфікуючі агенти, а також висока частота коінфекції ВІЛ, що знижує загальну опірність організму до інфекцій [68]. В залежності від етіологічного фактора ХЕ ділять на:

- неспецифічний (в даному випадку при бактеріологічному посіві не виявляють патогенних мікроорганізмів). Найчастіше спостерігається у ВІЛ-інфікованих пацієнток, після променевої терапії органів малого тазу, при бактеріальному вагінозі та при використанні внутрішньоматкових контрацептивів.
 - специфічний (збудником є патогенні бактерії, простіші, що були названі вище) [80]. Однією з важливих ланок патогенезу ХЕ є участь

імунних механізмів у потенціалі запалення та запуску каскаду послідовних локальних змін у ендометрії. На думку багатьох авторів, пусковим елементом є певний збудник, який з часом елімінується з жіночого організму, але через довготривалу персистенцію відбувається сенсibilізація ендометрія з запуском аутоімунної реакції. Саме цей механізм запускає вторинне пошкодження ендометрію внутрішнього шару стінки матки. Якщо ж збудником є представник умовно патогенної мікрофлори, то через довготривале перебування в організмі відбувається перехресна імунна реакція з антигенами господаря, ідентичними до антигенів збудника [82-85]. Як наслідок довготривалої стимуляції імунокомпетентних клітин ендометрію інфекційним збудником, відбувається декомпенсація регуляторних механізмів місцевого гомеостазу. Це, в свою чергу, підтримує персистенцію інфекційного процесу [32].

Переходячи до молекулярного рівня патогенетичних змін, слід розуміти, що процеси запалення в організмі є універсальними і проходять із залученням спеціальних єдиних механізмів [86]. Так, першочерговою ланкою є розлади мікроциркуляції у зоні запалення з міграцією туди лейкоцитів, активацією макрофагів і нейтрофілів. Макрофаги, в свою чергу, потрапляючи до зони запального процесу, вмикають процес перекисного окислення жирів із подальшим пошкодженням клітинних мембран внаслідок виділення цитокінів, утворення кисню та перекису водню. Водночас, в процес включаються компоненти позаклітинного матриксу, під час взаємодії їх із медіаторами запалення та лейкоцитами відбувається подальша деградація тканин. Tgf- β (трансформуючий фактор росту) в цьому каскаді виступає стабілізатором та «захисником» матриксу і виділяється моноцитами та лейкоцитами [87-90].

В зоні запалення розвивається гіпоксія, що потенціює процес викиду біологічно активних речовин (медіаторів запалення, цитокінів). За

умов гіперреактивності імунної системи медіатори викидаються у разі швидше. Головна роль у запальній реакції і процесах репарації відводиться макрофагам, що знаходяться в зоні запалення. Вони продукують цитокіни (інтерлейкіни, фактор некрозу пухлини (TNF- α) та інші). Внаслідок викиду прозапальних інтерлейкінів активується цілий пул клітин: лімфоцитів (CD56 та CD16), макрофагів (CD68), плазмоцитів (CD138) та фібробластів. Цитокіни ж активують Т- та В-лімфоцити та фактори росту (TNF- α , VEGF, EGF, KGF, фактор росту фібробластів) [58, 90]. Фібробласти виділяють вільні радикали, які грають позитивну роль і знищують збудника ендометриту, але водночас спричинюють відкладення фібрину в ендометріальній стромі, завдяки чому формуються сполучнотканинні фіброзні септи в стромі та/або внутрішньоматковій синехії [32, 33]. Це описаний процес вкладається у проліферативну фазу запалення із переходом її у процес регенерації. Регенерація характеризується утворенням мікросудин та розростанням сполучної тканини. VEGF (судинний фактор росту) вважають одним із найпотужніших стимуляторів неоангіогенезу за рахунок підвищення активності епітеліоцитів ендотелію [91-95]. Процес розростання мікросудинної сітки в ендометрії відбувається в репаративній фазі найактивніше, бо додатково VEGF синтезується також залозистим епітелієм та ендометріальною стромою. У разі тривалої персистенції збудника і антигенної стимуляції є великий ризик залучення аутоімунних реакцій, які також сприятимуть пошкодженню тканини ендометрію, таким чином замикаючи патологічне коло. Процес набуває хвилеподібного характеру із прогресуючим перебігом [67, 96]. Приблизно за 2 місяці запалення приймає форму хронічного і може охоплювати собою навколишні тканини, в тому числі і міометрій. Гостра фаза ендометриту триває приблизно 10 днів, після чого процес перетікає в підгострий або хронічний за відсутності адекватного лікування [81]. Конкретні механізми, завдяки яким гострий процес перетікає в

хронічний, залишаються не до кінця з'ясованими. Але доведений факт, що постійне запалення при ХЕ пошкоджує не тільки функціональний, але і базальний шар ендометрію, що перешкоджає проліферації, знижує рецептивність та чинить перешкоди нормальним циклічним змінам ендометріальної тканини, в свою чергу, унеможлиблюючи або значно ускладнюючи процес імплантації, а навіть якщо яйцеклітині і вдалося зануритися в ендометрій, виношування такої вагітності є досить сумнівним. Крім того, запальний процес в ендометрії призводить до оклюзії та деформації маткових труб, викликаючи трубно-перитонеальне безпліддя. Виниклі синехії та пошкодження маткових труб утруднюють доставку лікувальних субстанцій до вогнища запальних змін [97, 98].

Ендометрій є однією з найдинамічніших тканин жіночого організму, де циклічно та досить швидко змінюються фази проліферації, диференціації, секреції та десквамації клітин [99, 100]. При хронічному запальному процесі фізіологічна зміна фаз неможлива. Натомість, можна спостерігати атрофію ендометрію, патологічну репарацію із значним посиленням апоптозу та зниженням рецептивності ендометрію, про що мова піде далі.

Загальновідомим є факт, що для успішного настання вагітності важлива єдність ендокринної, репродуктивної та імунної систем. Встановлено, що при ХЕ порушується секреторна функція ендометрія та знижується вироблення $\alpha 1$ - та $\alpha 2$ - мікроглобулінів. Вони є показниками активності маткових залоз та показниками децидуалізації ендометрію відповідно [101, 102]. Одночасно з цим фіксується імунна відповідь Th-1, в той час як для розвитку вагітності потрібна відповідь Th-2. Тож, при неспроможності імунних та секреторних механізмів ендометрію персистенція збудника в тканині продовжується, що негативно впливатиме на результат вагітності [103, 104].

1.3. Поняття рецептивності ендометрію

Рецептивністю називають чутливість ендометрію до дії статевих гормонів, а також його здатність до імплантації [105]. Це поняття має чіткі часові та просторові рамки, у які можлива імплантація заплідненої яйцеклітини. Найчутливішим до імплантації ендометрій стає, в середньому, в період з 20 по 24 день менструального циклу, що називається «імплантаційним вікном» [106]. А сама рецептивність досягається завдяки наявності піноподій на апікальних поверхнях клітин (ультраструктурних елементів-виростів) [107, 108].

Цікавим є спостереження, що піноподії також проходять свій цикл еволюції. Так, початкові зачатки ультраструктурних виростів з'являються ще на бй день після пікового викиду лютеїнізуючого гормону (ЛТГ). Далі піноподії видовжуються, стають тонкими та гладенькими, але поступово замінюються на більш пласкі та широкі вирости, що нагадують пелюстки троянд. В такому вигляді піноподії перебувають впродовж 48 годин, після чого починається їх інволюція. За наявності ХЕ доведена відсутність таких утворень на поверхні клітин [109].

Одною із головних причин відсутності повноцінних циклічних змін в ендометрії є зниження експресії в першу чергу прогестеронових (PR), а також естрогенових (ER) рецепторів. Навіть в тому випадку, коли концентрація естрогену і прогестерону в крові знаходиться в допустимих межах [110].

В нормі рецептивність ендометрію залежить від фази менструального циклу. В ранню проліферативну фазу спостерігається помірна експресія рецепторів до естрогену (ER) та прогестерону (PR). В середню та пізню фазу проліферації спостерігається максимальний рівень експресії з піковим значенням, що припадає на період овуляції [111]. Рання і середня секреторна фаза пов'язані із різким зниженням експресії

рецепторів до ER та більш поступовим зниженням експресії рецепторів до PR [112]. Багато дослідників наголошують, що при ХЕ пік рецептивності зміщується на пізню проліферативну фазу і експресія ER падає сильніше, ніж експресія PR. Порушенням рецептивності ендометрію можна пояснити факт неспівпадіння його товщини із днем циклу, що є частою знахідкою при ультразвуковому дослідженні пацієнток з ХЕ [113-115].

Більше як 30 білків ендометрію чинять вплив на успішність імплантації [116, 117]. Наприклад, глікоделін (CD68), що чинить місцеву імунодепресуючу дію та таким чином сприяє розвитку ембріона [118, 119]. Деякі дослідники оцінюють його рівень у якості показника відновлення морфофункційних властивостей ендометрію при лікуванні ХЕ. Також цікавим є дослідження, яке доводить участь Синдекану-1 (CD138) у імплантації, хоча одночасно цей самий білок входить до складу плазматичних клітин, які є патогномонічною ознакою ХЕ [120].

1.4 Сучасні можливості діагностики хронічного ендометриту

Успіх лікування хронічного ендометриту залежить від вірно та своєчасно встановленого діагнозу. Діагностичний алгоритм включає:

- збір анамнезу. Увагу звертають на проведені оперативні втручання, метод контрацепції, яким користується пацієнтка, вагітності та пологи в анамнезі, невдалі спроби вагітності та її переривання, в тому числі невдалі спроби екстракорпорального запліднення;
- наявність клінічних симптомів. Перебіг захворювання може бути асимптомним, зі стертими клінічними проявами або мати досить виражені симптоми. Жінка може скаржитися на дисменорею, диспареунію, тягнучі болі внизу живота, дуже рідко – ациклічні кровотечі. Увагу пацієнтки може привертати поява серозно-гнійних

виділень зі статевих шляхів. У 60% випадків причиною візиту до гінеколога послужить безпліддя;

- мікроскопія мазків уретри, шийки матки та піхви а також бактеріологічне дослідження посіву на умовнопатогенну мікрофлору;
- використання методу полімеразної ланцюгової реакції для дослідження виділень цервікального каналу та порожнини матки;
- трансвагінальне ультразвукове дослідження (УЗД) органів малого тазу з доплерографією на 5-7 та 22-й-25-й дні менструального циклу (МЦ);
- гістероскопія. Cicinell з співавторами описують типові ознаки ХЕ: гіперемія маткової стінки, набряк стромы, мікрополіпи. На їхню думку, саме мікрополіпи є достовірною ознакою хронічного запалення ендометрія [121, 122].
- пайпель-біопсія ендометрія на 8-9 день МЦ з послідуочим гістологічним та імуногістохімічним дослідженням отриманого зразка.

1.4.1 Ультразвукове дослідження органів малого тазу

Найбільш доступним та широко використовуваним методом діагностики є УЗД. Діагностичними критеріями ХЕ слугують:

- структурна ехографічна неоднорідність ендометрію;
- підвищення ехогенності ендометріальної тканини на 5-7 день МЦ та її зниження у другу фазу МЦ;
- не візуалізується або розмивчаста лінія змикання листків ендометрія;
- нечіткий контур М-еха;
- гіперехогенність лінії змикання листків ендометрія (зустрічається приблизно в 34% випадків);
- нерівномірна товщина ендометрія;
- атрофія ендометрія;

- розширення аркуатного сплетіння;
- розширення маткової порожнини при накопиченні в ній рідини;
- бульбашки газу в порожнині матки або у ендометрії;
- стовщення ендометрію понад 15 мм (за даними літератури, тільки у 9% жінок можна казати про наявність такого критерію);
- біль при зрушеннях датчика;
- збільшення рухомості матки [123].

Проте керуватися лише даними УЗД замало для встановлення діагнозу ХЕ. Матеріал піддають комплексному патоморфологічному дослідженню із залученням ІГХ-маркерів.

1.4.2 Патоморфологічне дослідження біоптату ендометрія при хронічному ендометриті

Для комплексного морфологічного дослідження ендометрію є доцільною Пайпель-біопсія або зішкрібок з порожнини матки. Досі немає однозначної відповіді щодо термінів взяття біопсії, адже потрібно оцінити рецептивність ендометрію та власне верифікувати ХЕ. Багато дослідників вважають найдоцільнішим брати біопсію у період «вікна імплантації», коли буде можливість оцінити і рецепторний статус, і інші характеристики ендометрію, а також виявити характерні для ХЕ запальні інфільтрати [124].

Є також думки щодо проведення виконання Пайпель-біопсії у 8-11 день МЦ, коли найменше виражене запалення та найменша кількість плазмоцитів, проте цінність оцінки рецептивності ендометрію у першій фазі наближається до нуля. Нормальне протікання першої фази МЦ не

гарантує повноцінності другої фази МЦ, а проводити 2 біопсії за один МЦ є неприпустимим.

При морфологічному дослідженні із забарвленням мікропрепаратів ендометрію гематоксилін еозином типовими ознаками ХЕ є наявність лімфоїдних інфільтратів з домішкою плазмоцитів у стромі ендометрію, навколо залоз та кровоносних судин. При тривалому перебігу ХЕ окремі інфільтрати набувають вигляду «лімфоїдних фолікулів» і розташовуються у функціональному та базальному шарах ендометрія. Довготривалий запальний процес слизової оболонки матки сприяє перебудові не тільки стромального компоненту, але і залозистого із проліферацією фібробластів та їх накопиченням у вигляді муфт навколо ендометріальних залоз. Склеротичні зміни охоплюють і стінки спіральних артерій ендометрія на різних рівнях його функціонального шару. При тривалому, вираженому запальному процесі із наявністю симптоматики можливими гістологічними знахідками будуть дрібні крововиливи із відкладенням гемосидерину у функціональному шарі ендометрія.

Залежно від знайдених морфологічних змін виділяють такі варіанти ХЕ:

- атрофічний (характерними є атрофія залоз із фіброзом стромі та запальними інфільтратами в ній);
- кістозний (через розростання фіброзної тканини відбувається здавлення протоків залоз та формуються кісти через накопичення та згущення секрету);
- гіпертрофічний (ендометрій через тривале запалення піддається гіперплазії).

1.4.3. Імуногістохімічне дослідження гістологічного зрізу ендометрію при ХЕ

Імуногістохімічне дослідження – метод, що дозволяє виявити необхідні речовини та структури при маркуванні їх специфічними антитілами. В діагностичному алгоритмі ХЕ ІГХ-метод грає важливе значення не тільки на етапі діагностики ХЕ: дозволяє верифікувати діагноз та дослідити молекулярно-біологічні особливості ендометрію, а і під час терапії захворювання. За допомогою ІГХ лікар може об'єктивно оцінити динаміку змін ендометрію в результаті проведеного лікування та скоригувати його у разі потреби.

До мінімального переліку ІГХ-маркерів, що використовують у дослідженні, слід віднести маркери рецепторів до естрогену та прогестерону (ER, PR), маркери хронічного запального процесу: CD8+ (цитотоксичні Т-лімфоцити), CD4+ (Т-хелпери), CD20+ (В-лімфоцити), CD138+ (плазмоцити).

В нашому дослідженні метою стало розширення ІГХ-панелі із включенням діагностично важливих маркерів для створення більш повного уявлення про стан ендометрію у пацієток з ХЕ. Літературні дані описують додатково такі ІГХ-маркери, що можуть бути корисними в лікувально-діагностичному процесі: CD56+, CD68+, Ki-67, Bcl-2, p53, CD31, CD34, VEGF, p16, EVB, CD44. Для кращого розуміння біологічної ролі кожного із маркерів слід розглянути їх детальніше.

1.4.3.1 Синдекан-1 як золотий стандарт діагностики ХЕ

CD138 (Синдекан-1, Sdc-1) є членом сімейства синдеканів, що включає протеоглікани гепарансульфату. CD138 відіграє важливу роль у взаємодії клітина-клітина та клітина-матрикс. CD138 переважно експресується в епітеліальних клітинах і плазмоцитах [125]. Біологічна

роль синдекану-1 різноманітна і визначення експресії даного маркера використовується для прогнозування перебігу багатьох злоякісних пухлин та цукрового діабету II типу. Так, зазвичай рівень експресії CD138 знижується зі збільшенням стадії пухлини, її дедиференціації та інвазивності [125, 126].

Широке діагностичне застосування маркера CD138 поширюється і на верифікацію ХЕ в біоптатах ендометрія. Синдекан-1 є маркером стромальних плазмоцитів і служить золотим стандартом діагностики ХЕ [127, 128]. Також у працях дослідників вказується, що від кількості плазмоцитів у зразках ендометрію залежить можливість жінки завагітніти та народити дитину. Так, за думкою Li та співавторів, наявність ≥ 5 CD138+ клітин асоційована із повторюваними викиднями або неможливістю завагітніти для жінок, хворих на ХЕ [128]. У дослідженні Rimmer та співавторів цей показник схожий та становить 4-6 плазмоцитів у полі зору [120].

У дослідженні Couchman оцінювали взаємозв'язок експресії Синдекану-1 з епітеліальним фенотипом пухлини та епітеліально-мезенхімальним переходом у пухлинах. Доведено, що зникнення з поверхні клітин рецепторів до CD138 корелювало з виснаженням експресованого E-cadherin. Але, водночас, відмічається, що процес ЕМТ та пригнічення експресії CD138 не пов'язані безпосередньо та дане питання є досі недостатньо вивченим [126].

1.4.3.2 Оцінка проліферативної та апоптотичної активності ендометрію

Ki-67 був ідентифікований Гердесом та співавторами у 1991 році як ядерний негістоновий білок при імунізації мишей з лінією клітин Ходжкінської лімфоми. З того часу факт відсутності Ki-67 у клітинах в

стані спокою (G0) та його універсальна експресія в фазах клітинного циклу G1, S, G2 і мітоз викликає великий інтерес до його ролі у прогресії пухлин та клінічному перебігу захворювання [129-131]. Локалізація Ki-67 змінюється протягом клітинного циклу, і його рівні регулюються фазою клітинного циклу через транскрипцію та деградацію білка. У фазі G1 і S Ki-67 локалізується в окремих ядерно-плазматичних фокусах, і після того, як ядрця реформуються, здається, що він концентрується на їх периферії. У постмітотичних клітинах G1 експресія Ki-67 є найнижчою і її рівні поступово зростають у наступних фазах клітинного циклу. У метафазі Ki-67 покриває поверхню хромосом, після чого його рівень починає знижуватися [132].

Важливість досліджень рівня ІГХ-мітки Ki-67 доведена для раку шлунку [133-135], нейроендокринних пухлин [136-139], раку яєчників [140] та матки [141], молочних залоз [142], простати [143] та новоутворень інших локалізацій.

Дослідження проліферативної активності клітин при запальному процесі проводилося в цервікальних неоплазіях та дентальних одонтогенних та фолікулярних кістах. Обидві групи дослідників довели, що проліферативна активність прямо корелює з рівнем запалення у тканині [144, 145]. При дослідженні А.Є. Дубчаком та співавторами проліферативного потенціалу ендометрію у жінок з ХЕ та трубно-перитонеальним безпліддям виявлено достовірне підвищення експресії Ki-67 у клітинах покривного та залозистого епітелію в порівнянні з пацієнтками без ХЕ та трубно-перитонеальним безпліддям, особливо чітко спостерігалася тенденція до підвищення проліферативної активності в стромі ендометрію [15].

Апоптоз, або запрограмована смерть клітин, відіграє важливу роль в ембріональному розвитку, підтримці гомеостазу в тканинах дорослої людини та пригніченні канцерогенезу. Білок bcl-2, виявлений при

дослідженні фолікулярної лімфоми, відіграє важливу роль у контролі апоптозу та підвищенні виживання клітин у відповідь на різноманітні апоптотичні стимули [146, 147]. Визначна роль регуляції апоптозу доведена також для процесу нормальної імплантації зародка у дослідженнях, проведених на мишах [148] та при вивченні ендометрію жінок на ранніх етапах вагітності [62, 149]. Так, під час початкового етапу імплантації епітелій матки зазнає локального апоптозу у відповідь на взаємодію з бластоцистою [62, 148, 149]. На молекулярному рівні існує два основних способи активації протеаз із сімейства каспаз для здійснення апоптозу. Зовнішній шлях включає рецептори смерті та їхні ліганди. Найкраще вивченими є ліганд Fas (FasL), рецептор Fas (FasR) і TNFalpha з його рецепторами TNFR1 і TNFR2. Так званий внутрішній шлях індукує олігомеризацію цитозольного фактора (Araf-1) з подальшим утворенням апоптосом шляхом вивільнення цитохрому c з мітохондрій. У випадку активації кожного з шляхів в фіналі активується сигнальний комплекс, індукуючий смерть, або прокаспази 8 і 9, що згодом розщеплюють і активують виконавчі каспази, які спричиняють необоротну загибель клітини [148]. Активація каспаз регулюється родиною генів Bcl, яка включає близько 21 ізоформи [150]. Відомо, що деякі з цих білків відповідають за інгібування апоптозу (наприклад, Bcl-2 та Bcl-Xl), в той час, як інші (наприклад, Bcl-Xs, Bak, Bax і Bad) потенціюють загибель клітин. Постійна конкуренція між двома популяціями пептидів Bcl і регулює апоптоз. Bcl-2 перешкоджає вивільненню цитохрому C з мітохондрій, який діє як кофактор для активації каспази-9, і зв'язує Araf-1, що, відповідно, призводить до гальмування апоптозу епітеліальних клітин ендометрія [148].

p53 за своїм значенням є антагоністом протеїна bcl-2, тобто виступає активатором апоптозу [151]. У відповідь на пошкодження ДНК білок p53 запускає каскад реакцій, що призводять до загибелі клітин із

дефектом [152]. Водночас, роль білка p53 до сих пір є недостатньо вивченою в пухлинному процесі через його здатність швидко мутувати [152, 153]. В процесі написання літературного огляду нами не знайдено наукових праць, де б розкривалося значення експресії p53 при хронічному ендометриті. Експресія p53 вивчалася дослідником Sang L. та співавторами при ендометріозі. Було показано зниження експресії p53 у зразках пацієток, що мали ендометріоз, в порівнянні з контрольними зразками нормального ендометрію. Такий феномен було пояснено спорідненістю ендометріозу зі злякисними новоутвореннями за такими ознаками, як інвазивність та здатність до дисемінації з формуванням віддалених вогнищ ендометріозу [153].

Протеїн p16 з моменту свого відкриття у 1993 році є другим за досліджуваністю після p53 білком-супресором пухлинного росту, але також має додаткове діагностичне значення [153, 154-157]. Оцінка експресії p16 важлива в контексті використання маркера, як індикатора інфікування віруса папіломи людини (ВПЛ). У своїй експериментальній роботі Setga та співавтори вказують на гіперекспресію p16 в пухлинах, що пов'язані етіологічно з ВПЛ [154]. Також Посилення експресії p16 вважається важливим маркером старіння в клітинах ссавців [155]. Крім того, підвищена експресія p16 була виявлена в ендометрії миші під час ембріональної імплантації [156], реагуючи на гормональну регуляцію та спонукаючи апоптоз ендометрія до участі у формуванні «рецептивного ендометрію».

1.4.3.3 Оцінка гормонального статусу ендометрія

Ендометрій є мішенню для стероїдних гормонів – естрогену та прогестерону. Естроген має переважаючий вплив на жіночу репродуктивну функцію та здійснює свої ефекти в ендометрії через 2 типи

рецепторів (ER) - ER α and ER β , активуючи відповідні сигнальні шляхи. Доведено, що ER володіють сигнальною функцією щодо початку розвитку злоякісних пухлин матки, молочних залоз та захворювань жіночої репродуктивної системи [158-160]. Наприклад, при ендометріозі доведено наявність дисбалансу між кількістю рецепторів ER та PR, а саме – зменшення кількості естрогенових рецепторів та загальної кількості рецепторів PR [161]. Така ж закономірність просліджувалася і у випадку діагностування гіперплазії ендометрія, що описано у дослідженні І. Копійки та Ю. Чайковського. Результати науковців говорять про значне зняження або повну відсутність рецепторів ER та збереження або підвищення рівня PR в гіперпластичному ендометрії [162].

Хронічний ендометрит – захворювання, що характеризується порушенням циклічних змін ендометрію та зміни його рецептивності внаслідок постійного пошкодження слизової оболонки матки персистуючим інфекційним агентом [76]. Внаслідок ураження ендометрію чутливість до стероїдних гормонів знижується навіть при їх достатній продукції. В дослідженнях доведено, що ступінь запалення зворотно пропорційний рівню експресії ER та PR [158]. Також доведено, що експресія рецепторів до естрогену та прогестерону залежить від фази менструального циклу та циклічного протікання запального процесу. Так, на початкових стадіях запалення спостерігається гіперекспресія ER та PR, що досягає максимуму на 6-9 день циклу. До 19-22 дня відмічається різке зменшення експресії рецепторів до прогестерону із збереженням або підвищенням експресії рецепторів до естрогену. За умов розвитку склеротичних змін ендометрія також помічено знижену експресію PR із збереженням помірної експресії ER [164]. При тривалому перебігу запального процесу з'являються вогнища гіперестрогенії та гіперплазії ендометрію, який не здатен зазнавати адекватної і повної секреторної трансформації через знижену кількість рецепторів до прогестерону.

Відповідно, лише дисбаланс та локальна знижена експресія рецепторів ER та PR вже може стати причиною безпліддя незалежно від можливих додаткових несприятливих факторів [76, 165].

1.4.3.4 Дослідження васкуляризації ендометрія

Фактор росту ендотелію судин (VEGF) являє собою фактор росту з важливою проангіогенною активністю, чинить мітогенну та антиапоптотичну дію на клітини ендотелію, збільшуючи проникність судин, сприяючи міграції клітин тощо. Завдяки цим ефектам він активно сприяє регуляції нормальних і патологічних ангіогенних процесів [166]. Описаний вище патогенез ХЕ доводить важливість вивчення експресії VEGF, зокрема для оцінки успішності лікування захворювання. В результаті проведеного літературного пошуку виявлено, що праць, присвячених експресії судинних маркерів при ХЕ, вкрай мало. Так, Дослідник Cicinelli з співавторами у статті, присвяченій вивченню експресії медіаторів запалення та факторів росту при хронічному ендометриті говорить про зміну експресії VEGF та інших вазоактивних речовин у середній секреторній та проліферативній фазах менструального циклу при ХЕ. Тим самим припускає, що саме гіперекспресія VEGF та інших факторів росту може порушувати сприйнятливість ендометрія для ембріона і, таким чином, призводити до безпліддя внаслідок ХЕ, а також може сприяти виникненню аномальних маткових кровотеч, як одного з клінічних проявів ХЕ [167].

Ще одним біомаркером ендотелію судин виступає білок CD34. Сімейство трансмембранних поверхневих білків CD34 включає антиген гемопоетичної клітини-попередника CD34, подокаліксин (також відомий як подокаліксиноподібний білок 1, PODXL або PCLP1, тромбомуцин, gp135, GCTM2, TRA-1-60 і TRA-1-81) та ендоглікан (також відомий як

подокаліксиноподібний білок 2, PODXL2 або PCLP2) [168]. Білки сімейства CD34 мають моделі експресії, що перекриваються, проте кожен білок експресується лише в окремих тканинах. Зокрема, CD34 широко використовується як маркер ендотеліальних клітин судин, а також може бути використаний для ідентифікації гемопоетичних стовбурових клітин і клітин-попередників [168-170]. Деякі дослідники вважають CD34 більш чутливим імуногістохімічним маркером щодо новоутворених капілярів [170, 171]. Так, васкуляризація за допомогою цього маркера вивчалася в аденомах гіпофіза (Rotondo, 2010), раку яєчників [172], менінгіомах [170] і у всіх роботах ІГХ-маркер CD34 визнано як чутливий до ендотелію всіх типів судин та обґрунтовано його прогностичну значущість для кожної патології, водночас групою дослідників на чолі з O.Erdem не було виявлено достовірної різниці в експресії CD34 між групами зразків нормального ендометрія, гіперплазії та ендометріальної карциноми [173]. В. Hvingel та співавтори визнають маркер CD34 як можливий прогностичний індикатор малігнізації доброякісних поліпів ендометрію [174]. Проте, нами не було знайдено праць, присвячених імуногістохімічній оцінці васкуляризації ендометрію при ХЕ за допомогою CD34.

CD31 (PECAM-1 або Platelet/endothelial cell adhesion molecule-1) - це молекула адгезії ендотеліальних клітин масою 130 кДа, що спочатку була ідентифікована з ендотеліоцитів і тромбоцитів, а пізніше з лейкоцитів крові [175, 176]. Ендотелій судин регулює потік рідини та клітин за допомогою ряду механізмів. Негативно заряджені глікани клітинної поверхні, розташовані на поверхні просвіту ендотелію, утворюють заряджену відштовхувальну поверхню, яка перешкоджає осіданню тромбоцитів, еритроцитів і лейкоцитів на поверхні ендотелію за нормальних умов, тоді як мембранні компартменти, такі як кавеоли, регулюють трансендотеліальний транспорт макромолекул. Переважаюча

частина обміну, однак, відбувається на з'єднанні між ендотеліоцитами, цілісність цих з'єднань жорстко регулюється скоординованою дією ряду рецепторів клітинної поверхні та елементів цитоскелету, що працюють злагоджено для регуляції обміну рідини з екстравасальним простором, утримуючи кров та клітинні елементи всередині судини. Існує два типи стикових адгезивних конструкцій: тісні з'єднання (TJ) і з'єднані з'єднання (AJ). Компоненти TJ, що складаються з клаудинів, оклюдинів і JAM, присутні різною мірою в різних шарах ендотеліальних клітин – особливо тих, які потребують жорсткої регуляції проникності судин, наприклад, у гематоенцефалічному бар'єрі. AJ складаються з судинно-специфічного кадгерину (VE-cadherin), пов'язаного з актиновим цитоскелетом через членів сімейства катенінів, і, ймовірно, відіграють найважливішу роль у регуляції проникності судин. Нарешті, найпоширеніший компонент з'єднання ендотеліальних клітин, PECAM-1, присутній в обох типах з'єднань [175]. Доведено, що CD31 грає важливу роль у підтриманні стійкості судин до пошкодження в вогнищі запальної реакції. Еспресуючись в великій кількості в ендотелії судин, цей біомаркер запобігає «смерті» ендотелію, спричиненої впливом запальних цитокінів TNF- α та цитотоксичними Т-лімфоцитами [175, 178].

За даними McKenney та співавторів, саме цей молекулярний маркер є найчутливішим для вивчення васкуляризації [177]. Hvingel та співавтори стверджують протилежне: експресія CD31, як і VEGFR не є надто чутливою та не може використовуватися в якості прогностичних маркерів малігнізації доброякісних поліпів ендометрію. [174]. За даними інших дослідників маркер CD31 чутливий саме до лімфангіогенезу [179].

1.4.3.5 Дослідження складу імунокомпетентних клітин в тканині ендометрію при хронічному ендометриті

Здатність імунної системи до відповіді на подразники можлива лише за умови скоординованої взаємодії імунних клітин і їх спроможності «спілкуватися» між собою. Така взаємодія можлива або за допомогою клітинних контактів, або завдяки цитокінам. Реалізація обох варіантів можлива через експресію особливих рецепторів або лігандів на поверхні клітин. Кожний тип рецепторів був ідентифікований науковцями та для імунокомпетентних клітин отримав назву «Кластер диференціації» або CD. Всі Т-клітини експресують загальний маркер CD3, але додатково кожна субпопуляція Т-лімфоцитів експресує специфічний CD, що визначається їхньою функцією [180]. CD-4 є маркером Т-хелперів, CD-8 – маркером Т-супресорів, CD20 – маркером зрілих В-лімфоцитів, CD56 – маркером NK-клітин, CD68 – маркером макрофагів та гігантських клітин, CD138 – плазмоцитів [180, 181]. Дослідження імунного клітинного інфільтрату у ендометрії застосовується при багатьох гінекологічних захворюваннях, новоутвореннях та при проведенні передгравідарної підготовки [70, 181].

У науковій статті «Стан мікрофлори та ступінь вираженості місцевого імунного захисту в ендометрії жінок з безпліддям, що розвивається на тлі хронічного ендометриту поєданого з бактеріальним вагінозом» Постоленко В.Ю. та співавтори зазначають, що за їх спостереженням в жінок з хронічним ендометритом спостерігалось зниження кількості CD4⁺-клітин з одночасним підвищенням рівня CD8⁺-клітин. Виявилось, що середній рівень CD4⁺-клітин був достовірно нижче в групі жінок з ХЕ (31,5±2,95)% порівняно з показником групи здорових жінок (41,8±4,38)%. Водночас, у групі ХЕ спостерігалось підвищення рівня CD8⁺-клітин до показника 26,1±1,84% порівняно з показником групи порівняння 17,4±1,25% [70]. Аналогічні дані щодо

співвідношення Т-хелперів та Т-супресорів наведені і у роботі Міхальнової Л. та співавторів [182].

Що стосується CD20, то цей маркер є важливим для оцінки ступеня загострення хронічного запального процесу в ендометрії бактеріальної етіології, при цьому, на думку деяких авторів, CD20 є більш чутливим для встановлення діагнозу ХЕ. Це пояснюється тим, що через запальну реакцію внаслідок порушення та незавершеної В-бластичної трансформації В-лімфоцитів плазмоцити (CD138) можуть не ідентифікуватися в зразках ендометрію, хоча клінічно виявлятимуться маркери запального процесу [183]. Вивчаючи середній показник кількості CD20+ клітин в ендометрії при хронічному ендометриті Постоленком В.Ю. та співавторами отримано такі дані: зафіксовано зниження рівня В-лімфоцитів в межах $8,85 \pm 0,63\%$ проти $11,7 \pm 0,99\%$ у здорових жінок [70], що протирічить даним іншої групи дослідників із Канзасу: в їх роботі вказане різке збільшення кількості CD3+ та CD20+ клітин в біоптатах ендометрію в жінок з ХЕ проти здорових жінок [184].

Ще одним показником локального імунітету є експресія CD56. В нормі NK-клітини є найчисельнішою популяцією імунокомпетентних клітин ендометрію, проте за наявності ХЕ їх кількість набагато зростає [185]. В літературних джерелах йдеться про значне збільшення експресії маркеру клітин-«натуральних кіллерів» (CD56+) в ендометрії при ХЕ в порівнянні з нормою [186, 187].

У статті Носенко О.М. та співавторів вивчалася експресія CD56 в еутопічному ендометрії при ендометріозі з різними імплантаційними характеристиками. Було встановлено, що в жінок з ендометріозом ступінь інфільтрації NK-клітинами достовірно вищий, ніж в умовно здорових жінок, також у жінок з повторним невиношуванням вагітності показник інфільтрації NK-клітинами в 6,8 разів вищий за умовно здорових пацієнток. За висновками науковців експресію маркера CD56 в ендометрії

можна використовувати на етапі предгравідарної підготовки для оцінки успіху імплантації та можливої імунокорекції (Nosenko, 2016).

Оцінка імунної інфільтрації ендометрію не може бути повною без визначення експресії ІГХ-маркера CD68. В нормальному ендометрії популяція макрофагів присутня і грає важливу роль у процесі імплантації ембріона. Імплантація супроводжується великим викидом цито- та хемокінів, простагландинів і такий їх градієнт служить «орієнтиром» для правильного прикріплення бластоцисти. Високий рівень інтерлейкінів та інших цитокінів також важливий для правильного розвитку трофобласта, потім – плаценти. Макрофаги, як запальні клітини, разом з децидуальними клітинами виділяють нові медіатори запалення для забезпечення фізіологічного ремоделювання тканин та процесів ангиогенезу [185, 188, 189]. В умовах ХЕ спостерігається збільшення кількості CD68+ клітин, що підтверджено багатьма дослідженнями [190-193].

Не дивлячись на, здавалося б, досліджене питання імунологічного статусу ендометрію при хронічному ендометриті, в своїй роботі ми не можемо говорити про створення комплексної діагностичної ІГХ-панелі маркерів без врахування молекулярних ідентифікаторів імунної відповіді.

1.4.3.6 Місце епітеліально- мезенхімальної трансформації в розвитку безпліддя при хронічному ендометриті

Епітеліально-мезенхімальна трансформація (EMT) – це унікальна біологічна програма фенотипічної мінливості, що регулюється «перемиканням» епітеліального фенотипу клітини та мезенхімальний, завдяки чому реалізуються різноманітні функції в організмі та в програмі ембріогенезу, наприклад гастрюляція, міграція нервового гребеню та загоєння ран [194]. EMT відіграє важливу роль і у патологічних процесах,

зокрема в канцерогенезі та прогресуванні злоякісних пухлин різної локалізації: шлунку, яєчників, молочної залози, легень та інших [195, 196-198].

Феномен мезенхімально-епітеліальної трансформації (процес, зворотній до ЕМТ) грає важливу роль в імплантації ембріона в стінку матки. Епітеліально-мезенхімальний перехід також присутній під час періоду імплантації, але, разом з тим, поява ЕМТ тісно пов'язана із наявністю запалення [199]. Оскільки при хронічному ендометриті присутнє постійне персистуюче запалення, то прозапальні цитокіни, що виробляються, та хронічна гіпоксія індукують ЕМТ [200].

Провідними ІГХ-маркерами, що описують епітеліально-мезенхімальну трансформацію, служать E-cadherin та Vimentin [201]. E-cadherin – кальцій-залежна молекула міжклітинної адгезії, яка відіграє ключову роль у збереженні епітеліального фенотипу клітин, формуванні тканин і гальмуванні прогресії злоякісних пухлин [202, 203]. Vimentin – білок проміжних цитоплазматичних філаментів, який використовується в побудові цитоскелету мезенхімальних клітин [204, 205].

Праць із дослідження феномену ЕМТ при ХЕ та його ролі у безплідді небагато. В знайденому нами дослідженні японських науковців на чолі з Mitsuaki Ishida описано, що повна втрата експресії E-cadherin ендометріальними залозами (тобто, набуття мезенхімального фенотипу) спостерігалася в 12 із 35 зразків ендометрію з ХЕ проти 2 із 31 випадку зразків без ХЕ та було доведено, що пацієнтки з безпліддям на фоні ХЕ мають підвищений ризик виникнення феномену епітеліально-мезенхімального переходу [199].

Зважаючи на малу кількість наукових робіт важко робити висновки щодо ролі ЕМТ в розвитку безпліддя на тлі хронічного ендометриту та

щодо можливості використання E-kadherin та Vimentin у якості прогностичних щодо якості лікування та успішного настання вагітності.

1.4.3.7 Ідентифікація клітин з стовбуровим фенотипом в ендометрії

CD44 – поверхневий рецептор гіалуронової кислоти (гіалуронан (НА)), що експресується децидуальними клітинами строми ендометрія під час менструального циклу та відноситься до маркерів стовбурових клітин [206-208].

Вперше стовбурові клітини ендометрію або клітини-попередники були описані у 2004 році і з того часу почалося їх активне вивчення, хоча до цього часу залишається чимало відкритих питань та інформації досить небагато. Відкриття специфічних маркерів стовбурових клітин/клітин-попередників ендометрію дозволило вивчити їх роль у проліферативних захворюваннях ендометрія, включаючи ендометріоз, аденоміоз і синдром Ашермана [209].

CD44 експресується в мезенхімальних стромальних стовбурових клітинах, гемопоетичних стовбурових клітинах та пухлинних стовбурових клітинах-попередниках. В дослідях на мишах встановлено, що ендометріальні клітини CD44+ не мали рецепторів Esr1 або PR і пережили гормональну депривацію, у відновлювальному періоді генеруючи в ендометрії більше залозистоподібних структур, ніж CD44– клітини [209].

Як було сказано вище, децидуальні клітини синтезують гіалуронан під час менструального циклу, а також під час вагітності в першому триместрі. Гормони, асоційовані з вагітністю, стимулюють до транскрипції НА-синтетази і гіалуронан виділяється в великій кількості. Високомолекулярний НА сприяє проліферації та гальмує загибель

децидуальних клітин. В декількох дослідженнях вказується, що повторювані переривання вагітності на ранніх термінах пов'язані із зниженням експресії CD44 в ендометрії [210-212].

Нами не було знайдено літературних джерел, що вказували б на зміни експресії CD44 при хронічному ендометриті, але оскільки в нашій роботі аналізуються можливі прогностичні маркери для перебігу ХЕ та оцінки успішності лікування, цікавим буде проаналізувати експресію CD44 в ендометріальній тканині при цій патології.

Резюме

Як підсумок проведеного літературного огляду, слід зазначити безумовну актуальність проблеми діагностики хронічного ендометриту та його провідного місця серед причин жіночого безпліддя. Поширеність ХЕ серед жінок репродуктивного віку, стерта клінічна картина або повна асимптомність захворювання гостро ставить перед лікарями-гінекологами та патоморфологами проблему своєчасної детекції захворювання та створення діагностичного алгоритму, що дозволив би контролювати хід лікування, а також прогнозувати можливість пацієнтки до народження дитини після проведеної терапії. Зважаючи на відсутність єдиного алгоритму ІГХ-діагностики ХЕ, це питання потребує подальшого вивчення.

Матеріали з даного розділу висвітлені в публікаціях здобувачки [4].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Клінічна характеристика пацієток та дизайн дослідження

Для виконання поставленої мети та завдань дослідження у нашій дисертаційній роботі було проведено кілька етапів відбору необхідного матеріалу. На першому етапі проаналізовано патогістологічні заключення пацієток, які зверталися до ІГХ-лабораторії «Прайм Тест» за направленням медичного центру «DA-VINCI clinic» за період 2014-2021 роки та серед них обрано 521 історію хвороби із діагнозом «безпліддя». Наступним етапом серед 521 випадку безпліддя було вибрано випадки хронічного ендометриту (145 випадків), підтвердженого ІГХ-методом. Далі серед архівних випадків діагностованого ХЕ ми оцінювали повноту анамнестичних даних, якість парафінових блоків та кількість матеріалу для проведення наступних імуногістохімічних досліджень. Всім критеріям включення (описані нижче), відповідав архівний матеріал від 50 пацієток. Відбір пацієток проводився за допомогою методу простої випадкової вибірки по мірі віднайдення таких випадків в архіві імуногістохімічної лабораторії. Схематичний дизайн дослідження представлений на рисунку 2.1.

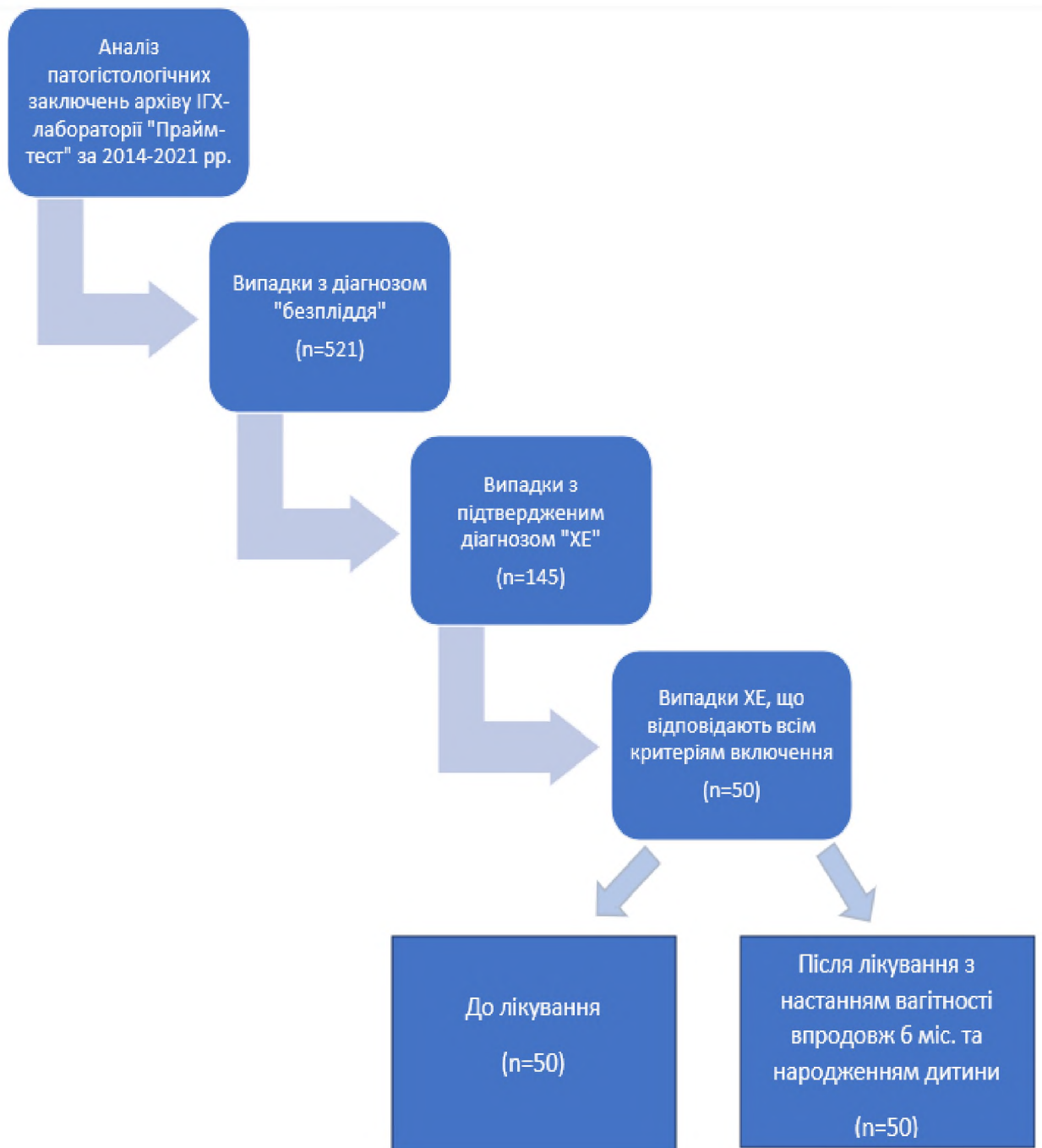


Рис. 2.1. Дизайн дисертаційного дослідження

Було сформовано 2 групи дослідження: основна група (група 1) – 50 жінок до проведеного лікування хронічного ендометриту, група контролю (група 2)– 50 пацієток після проведеної терапії даної патології з успішним настанням вагітності та наступними пологами.

Критеріями включення до групи 1 стали:

- жінки віком від 18 років, які мали в анамнезі невиношування вагітності, самовільне переривання вагітності та вишкрібання порожнини матки з приводу переривання вагітності;
- наявність всіх необхідних анамнестичних даних, наявність мікропрепаратів та парафінових блоків з достатньою кількістю та якістю матеріалу (для випадків з архіву);
- відсутність інших гінекологічних захворювань, що потребували б лікування хірургічними методами;
- встановлений та підтверджений імуногістохімічним методом дослідження діагноз «хронічний ендометрит».

Критеріями включення до групи 2 стали:

- пацієнтки групи 1, в яких після проведеного лікування хронічного ендометриту за однією зі схем впродовж 6 місяців настала вагітність, яка завершилася народженням дитини;
- відсутність морфологічних ознак хронічного ендометриту або їх значне зменшення в порівнянні з вихідною оцінкою морфологічних даних.

Критеріями виключення для обох груп служили:

- будь-які вади розвитку репродуктивної системи;
- ендокринні захворювання, які можуть впливати на репродуктивну функцію;
- екстрагенітальна патологія (системні запальні захворювання сполучної тканини, злякисні новоутворення будь-якої локалізації).

Всі пацієнтки, яким виконувалися лікувально-діагностичні маніпуляції, були детально поінформовані про їх хід та підписали добровільну інформовану згоду перед їх виконанням.

2.2. Характеристика бази дослідження

Робота виконувалася з 2020 по 2024 рік на базі кафедри патологічної анатомії та судово-медичної експертизи Харківського національного медичного університету та імуногістохімічної лабораторії «Прайм Тест». Матеріал для дослідження був зібраний в архіві імуногістохімічної лабораторії «Прайм Тест».

2.3. Методи дослідження

Методи нашого дослідження відповідали меті та його завданням. У пацієнток, що включені до досліджуваних груп, проводився:

- збір клініко-анамнестичних даних;
- гінекологічний огляд зовнішніх статевих органів;
- огляд шийки матки та піхви в дзеркалах;
- бімануальне дослідження;
- ультразвукове дослідження органів малого тазу в першу половину менструального циклу: 5-7 дні;
- лабораторні дослідження на репродуктивно значимі захворювання, в тому числі ті, що передаються статевим шляхом;
- клініко-діагностичний забір тканини ендометрію методом Пайпель-біопсії для гістологічного та імуногістохімічного дослідження на 17-20 день.

Після верифікації діагнозу ХЕ пацієнтки отримували лікування за однією з використовуваних схем для відновлення репродуктивної функції та елімінації патогенів з тканини ендометрію. Після проведеного курсу терапії виконувалася повторна біопсія з метою підтвердження ефективності лікування. Гістологічний та імуногістохімічний метод

дослідження в подальшому піддавалися статистичній обробці отриманих даних.

2.3.1 Схеми лікування, що використовувалися в дослідженні

Пацієнтки, що входили до дослідження, отримували терапію за наступним принципом: гормонотерапія + антибактеріальна терапія + імунотерапія. Схеми рекомендовані Європейським гайдлайном по веденню запальних захворювань малого тазу [213]. Попередньо дані схеми статистично були оцінені як ефективні серед пацієнток, які проходили лікування і які згодом увійшли в наше дослідження. Так, не було виявлено різниці у частоті настання вагітності у пацієнток, що лікувалися по схемі 1 та 2 ($\varphi_{\text{емп}} = 0.277$), 2 та 3 ($\varphi_{\text{емп}} = 0.377$) та 1 і 3 ($\varphi_{\text{емп}} = 0.554$). Схеми подані у таблиці 2.1.

Додатково в кожному клінічному випадку призначалися препарати за показами («Декрістол», «Серрата», «Імуномакс», «Інфламафертин»). Дозування та кратність прийому препаратів відповідали рекомендованим схемам лікування.

Схеми лікування, що застосовувались в дослідженні

Гормонотерапія	Імунокорекція за 1.5 – 1 міс. до запланованої вагітності	Антибіотикотерапія	Кількість пацієнок, що лікувались за схемою (n=50)
<p>Схема 1. Комбіновані оральні контрацептиви (КОК), наприклад «Жанін» + «Індомірол»/або будь-який препарат з групи індолів - 6 місяців.</p>	<p>«Інфламафертин» в/м 2 мл ввечері 1 раз на 3 дня №10 та «Циклоферон» 12,5 % по 2 мл в/м ввечері 1 раз на 3 дня №10.</p>	<p>«Трихопол» №14 1 раз на день/ «Метронідазол» 250 x 3 р/день, 10 днів , 3 курса в кожному місяці по 10 днів / інший антибіотик залежно від виду мікроорганізму та чутливості а/б до нього + «Ентерожерміна»/будь-який інший пробіотик 3 курса по 10 днів вранці до прийому їжі.</p>	13
<p>Схема 2. КОК «Деновель 30» + «Нурофен»/ будь-який інший НПВС на час менструації – 6 міс.</p>	<p>«Вірусіт» саше внутрішньо по 1 саше через день №21 та «Циклоферон» 12,5 % по 2 мл в/м ввечері 1 раз на 3 дня №10.</p>	<p>«Трихопол» №14 1 раз на день/ «Метронідазол» 250 x 3 р/день, 10 днів , 3 курса в кожному місяці по 10 днів / інший антибіотик залежно від виду мікроорганізму та чутливості а/б до нього + «Ентерожерміна»/ будь-який інший пробіотик 3 курса по 10 днів вранці до прийому їжі.</p>	22
<p>Схема 3. КОК «Клайра» + «Індомірол»/ будь-який препарат з групи індолів - 6 міс.</p>	<p>Галавіт» в/м 100 мг в/м ввечері 1 раз на 3 дня №10 та «Циклоферон» 12,5 % по 2 мл в/м ввечері 1 раз на 3 дня №10.</p>	<p>«Трихопол» №14 1 раз на день/ «Метронідазол» 250 x 3 р/день, 10 днів , 3 курса в кожному місяці по 10 днів / інший антибіотик залежно від виду мікроорганізму та чутливості а/б до нього +</p>	15

		«Ентерожерміна»/ будь-який інший пробіотик 3 курса по 10 днів вранці до прийому їжі.	
--	--	--	--

2.3.2 Методика проведення Пайпель-біопсії

Медичне втручання проводили в амбулаторних умовах одноразовим аспіраційним зондом Endometrial suction curette фірми JS. Для проведення аспіраційної слизові оболонки піхви та шийки матки обробляли антисептиком «Октенісепт», оголювали шийку матки в дзеркалах та через її канал заходили до маткової порожнини. Забір зразків ендометрію проводився шляхом переміщення зонду у різних напрямках всередині порожнини із одночасним потягуванням поршня на себе. Після того, як поршень заповнюється стовбчиками ендометрію повністю, аспіраційний зонд витягали.

Отриманий матеріал поміщували в 10%-й забуферений розчин формаліну із оформленням гістологічного направлення та необхідних для дослідження анамнестичних даних.

2.3.3 Гістологічне дослідження

Для проведення морфологічного дослідження матеріал, отриманий під час проведення Пайпель-біопсії, фіксували в 10% розчині нейтрального забуферованого формаліну з мінімальним періодом витримки 12-ть годин, після чого виконували гістологічну проводку за стандартною методикою із заливкою підготовленої тканини ендометрію в парафінові блоки. Парафінові зрізи після забарвлення гематоксиліном та еозином піддавали гістологічному дослідженню за допомогою мікроскопа Primo Star, об'єктиви $\times 4$, $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$.

2.3.4 Імуногістохімічне дослідження

Імуногістохімічне дослідження проводилось на кафедрі патологічної анатомії та судово-медичної експертизи Харківського національного медичного університету МОЗ України та в лабораторії «Прайм-Тест».

Матеріал для дослідження фіксували 10 % нейтральним забуференим формаліном впродовж 24 год, після чого заливали в парафінові блоки, готували зрізи товщиною 4 мкм, які наносили на високоадгезивні скельця Super Frost і висушували при температурі 37 °С упродовж 18 год. Демаскуюча термічна обробка була виконана за методом кип'ятіння зрізів у цитратному буфері (рН 6,0). Для візуалізації первинних антитіл застосовували систему детекції UltraVision Quanto Detection Systems HRP Polymer (Thermo scientific).

Як хромоген, був використаний DAB (діамінобензидин). Кожне дослідження мало негативний контроль без додавання первинних антитіл. Для кожного маркера для виключення хибнопозитивних або хибнонегативних результатів застосовували контрольні дослідження, для яких використовували зрізи з тканин, рекомендованих виробником антитіл для позитивного контролю.

В дослідженні використано первинні моноклональні антитіла фірми ДАКО (Данія), ThermoScientific (США) та eBioscience (США).

Панель маркерів, використаних в ІГХ дослідженні, подано в таблиці 2.2.

ІГХ-маркери, використані в дослідженні

Антитіло (клон)	Розведення	Виробник	Локалізація ІГХ-мітки	Призначення
Ki-67 (MiB-1)	1:400	Termo Scientific	Ядро	Оцінка проліферативної активності
Bcl-2 (clone124)	Ready to Use	Dako Cytomation	Ядро	Дослідження антиапоптотичної спроможності ендометрію
p53 (4A8)	1:100	Termo Scientific	Ядро	Дослідження апоптотичного потенціалу ендометрію
p16 (1D7D2)	1:200	Termo Scientific	Цитоплазма	Апоптотична активність ендометрію
VEGF (VG1)	Ready to Use	Termo Scientific	Цитоплазма	Оцінка васкуляризації
Vimentin (MA3-745)	1:20	Termo Scientific	Цитоплазма	Маркер мезенхімального фенотипу
E-kadherin (EP7004)	1:100	Termo Scientific	Мембрана	Маркер епітеліального фенотипу
ER (Estrogen Receptor 1D5)	Ready to Use	Diagnostic BioSystems	Ядро	Оцінка рецептивності ендометрію
PR (PgR636)	1:50	Dako Cytomation	Цитоплазма	Оцінка рецептивності ендометрію
CD3 (SP7)	1:150	Termo Scientific	Мембрана	Маркер Т-клітин
CD4 (Clone 4B12)	1:50	Termo Scientific	Мембрана	Маркер Т-хелперів
CD8 (SP16)	Ready to Use	Dako Cytomation	Мембрана	Маркер Т-супресорів
CD20 (L26)		Dako Cytomation	Мембрана	Маркер зрілих В-лімфоцитів
CD31 (JC/70A)	1:100	Termo Scientific		Оцінка васкуляризації

CD34 (SI16-01)	1:200	Termo Scientific	Мембрана	Оцінка васкуляризації
CD44 (9A4)	1:200	Termo Scientific	Мембрана	Маркер стовбурових клітин
CD56 (123C3)	1:100	eBioscience	Мембрана	Маркер НК-клітин
CD68 (KP1)	Ready to Use	Termo Scientific	Цитоплазма	Маркер макрофагів та гігантських клітин
CD138 (DL-101)	1:200	eBioscience	Мембрана	Маркер плазмочитів

Для оцінки інтенсивності імуногістохімічної мітки усіх маркерів використовували напівкількісну шкалу 0-3 +: 0 - відсутність експресії, + - слабка, ++ - помірна, +++ - виражена реакція.

Для аналізу результатів ІГХ-дослідження маркерів CD31, CD34 та VEGF користувалися методом підрахунку H-score: $HS=1A+2B+3C$, де А - % слабо пофарбованих клітин; В - % помірно пофарбованих клітин та С - % клітин з інтенсивним фарбуванням, а 1,2,3 – інтенсивність фарбування, що виражена в балах.

Проліферативну активність (рівень Ki-67) оцінювали кількісно (в балах): відсутність фарбування – 0 балів, 1-20% - 1 бал, 21-40% - 2 бали, 41-60% - 3 бали, 60-80% - 4 бали, 81-100% - 5 балів [214].

Для кількісної оцінки імуногістохімічної мітки p53 враховували відсоток позитивно забарвлених клітин: < 10.0% — низька експресія, $10.0\% \leq IM < 30,0\%$ — високий рівень, $IM \geq 30.0\%$ — гіперекспресія p53. Для кількісної оцінки ІГХ мітки Vcl-2 рівні позитивно забарвлених клітин були такими: 0-24% - експресія відсутня, 25-49% - низький рівень експресії, 50-74% - помірна експресія та 75-100% - високий рівень експресії [215].

Для кількісної оцінки імуногістохімічної мітки маркерів ЕМТ (Vimentin та E-kadherin) брали до уваги відсоток фарбування: 0 - відсутність фарбування, <10% ядер – слабкий рівень, 10-50% - помірний рівень, 51-100% - високий рівень експресії. Для підрахунку імунопозитивних клітин використовували таку шкалу: 0 – відсутність експресії, 1 – 1-33% клітин, 2 – 34-66% клітин, 3 – 67-100% клітин.

При оцінці рецептивності ендометрію за допомогою маркерів ER та PR враховували відсоток клітин, що експресують маркери: 1-10% - слабка експресія, 11-50% - помірна експресія та понад 50% - виражена експресія маркерів [216].

Кількісна оцінка ІГХ мітки p16 та всіх імуноцитів розраховувалася як відсоток імунопозитивних клітин на 100 клітин інфільтрату на збільшенні $\times 400$ мінімум в 10 випадково обраних полях зору [180].

Комплекс морфологічних досліджень проводили на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) із використанням програми AxioCam (ERc 5s).

2.5 Статистична обробка результатів дослідження

Первинні обчислювальні таблиці були побудовані у программі MedCalc 19.1, в тому ж програмному забезпеченні були проведені власне розрахунки.

Вибірки оцінювали на відповідність нормальності розподілу за критеріями Колмогорова-Смірнова і в разі нормального розподілу використовували методи параметричної статистики. Якщо група не відповідала критеріям нормальності варіантного розподілу, використовували непараметричні статистичні методи.

Для оцінки зв'язку між ознаками, а також для оцінки ефективності лікування за різними схемами використовували точний критерій Фішера

та непараметричний критерій χ^2 -квадрат Пірсона. У разі невеликої кількості випадків (≤ 5) принаймні в одній комірці використовували χ^2 з поправкою Єйтса. Результати розрахунків вважалися достовірними при $p < 0,05$. Методи непараметричної рангової статистики використовували при обробці даних імуногістохімічного дослідження. Для підтвердження або спростування нульової гіпотези про залежність між ступенем виразності ІГХ міток використовували непараметричний критерій Спірмена. Для виявлення статистичної значущості відмінностей між групами дослідження для двох взаємопов'язаних вибірок застосовували непараметричний критерій Вілкоксона.

Метод логістичної регресії із побудовою ROC-кривих та розрахунком площі під кривою (AUC – Area Under the Curve) використовувався для визначення порогового значення ІГХ мітки, при якому, вірогідно, жінка зможе завагітніти.

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ЕНДОМЕТРІЇ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ЕНДОМЕТРИТІ

У розділі представлений структурний аналіз найпоширеніших причин безпліддя серед пацієнток, що зверталися в патоморфологічну та імуногістохімічну лабораторію «Прайм-тест». Проаналізовано основні клінічні дані пацієнток з безпліддям на тлі хронічного ендометриту, а також наведено гістологічні особливості ендометрію при хронічному ендометриті та після проведеного лікування.

3.1. Структурний аналіз причин жіночого безпліддя та клінічних даних пацієнток

В нашому дослідженні серед патогістологічних заключень, що знаходилися в архіві лабораторії «Прайм-тест» за період 2014-2021 роки діагноз «безпліддя» виявлений в 521 випадку. На основі аналізу доступних анамнестичних даних цікавим було дослідження структури причин жіночої інфертильності в розрізі звернень до ІГХ-лабораторії та з подальшим порівнянням її із наявними світовими статистичними даними.

Під час аналізу медичної документації виявлено, що середній вік жінок із безпліддям різної етіології становив $35,7 \pm 1,3$ років. Що стосується пацієнток з безпліддям на тлі ХЕ, то ця група була дещо «молодша»: середній вік склав $30,5 \pm 3,8$ років з коливаннями значень від 23 до 41 року.

Аналізуючи структуру причин, що викликали інфертильність, виявлено, що перше місце посіли розлади овуляторно-менструального циклу із питомою вагою 52,78% (275 випадків). Досить часто в цій групі зазначався діагноз «полікістоз яєчників» (у 155 випадках із 275 (56,36%)).

Другою за поширеністю причиною, 145 випадків (27,83%), виявився хронічний ендометрит. Звернув на себе увагу той факт, що в 45 випадках (8,64%) визначеної причини безпліддя не вказано. В цих випадках клінічний діагноз також зазначався як ХЕ, проте він не знайшов свого морфологічного підтвердження. На четвертому місці знаходився внутрішній або зовнішній ендометріоз – 37 випадків (7,1%). В 4 (0,77%) випадках інфертильність була пов'язана з аутоімунними захворюваннями, в 3 (0,58%) випадках вірогідним фактором стала ендокринна патологія та ожиріння III-IV ступеню, в 2 (0,38%) випадках повторно завагітніти не вдалося після виконаного раніше переривання вагітності методом вишкрібання порожнини матки. Графічно структуру причин зображено на рисунку 1.



Рисунок 2.1. Структура причин жіночого безпліддя на підставі аналізу історій хвороб архіву імуногстохімічної лабораторії «Прайм-тест».

Із анамнезу пацієнок з ХЕ (n=50) ми також проаналізували найпоширеніші скарги (таблиця 2.1), з якими пацієнтки зверталися до лікаря. Всі пацієнтки (100%) скаржилися на неможливість завагітніти або повторювані невиношування вагітності, у 18 (36%) пацієнок це було єдиним симптомом ХЕ. На дисменорею страждали 20 (40%) жінок, ациклічні маткові кровотечі спостерігалися в 3 (6%) пацієнок, гіпоменорею мали 9 (18%) жінок з ХЕ.

Таблиця 2.1

Аналіз скарг пацієнок з хронічним ендометритом при зверненні до лікаря

Скарга	Кількість пацієнок (n=50)	
	Абсолютна кількість (n)	Питома вага (%)
<i>Безпліддя (неможливість завагітніти або повторювані невиношування вагітності)</i>	11	22%
<i>Дисменорея</i>	7	14%
<i>Ациклічні маткові кровотечі</i>	3	6%
<i>Гіпоменорея</i>	5	10%

3.2. Морфологічна характеристика ендометрію при хронічному ендометриті

В Пайпель-біоптатах ендометрію в групі 1 спостерігався виражений набряк стромі в 46 (92%) випадках основної групи та в 5 (10%) випадках групи 2. Запальні інфільтрати в стромі формували скупчення по типу лімфоїдних фолікулів (рисунок 2.2 А та В) або знаходились вогнищево переважно навколо судин та залоз у 48 (96%) групи 1, а в 2 (4%) випадках спостерігалася дифузна іммунолітинна інфільтрація стромального компоненту ендометрія. В групі 2 запальні зміни у вигляді лімфоїдних фолікулів або дифузної інфільтрації не визначалися зовсім.

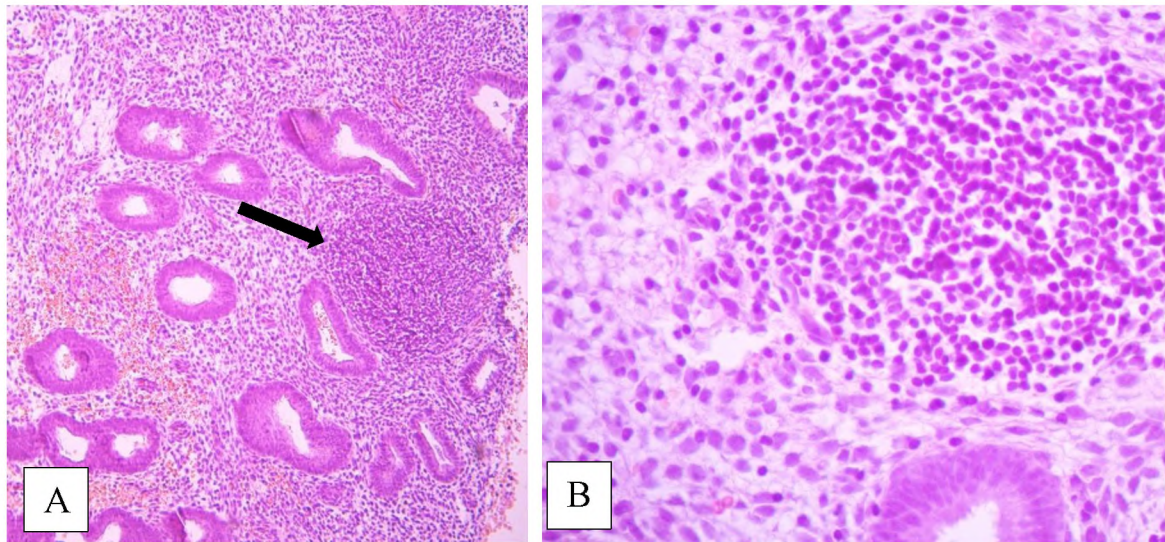


Рисунок 2.2. Запальні інфільтрати у ендометрії у групі 1, що формують скупчення по типу лімфойдних фолікулів (Г+Е): А - зб.×100 (фолікул показано стрілкою), В - зб.×400.

Склад інфільтрату був представлений переважно лімфоцитами з домішкою плазмоцитів, еозинофілами та макрофагами (рис.2.3). Плазмоцити чітко визначалися при рутинному забарвленні Г+Е в 38 (76%) випадків групи 1. В групі 2 визначалися поодинокі плазмоцити в окремих полях зору в 8 (16%) спостережень.

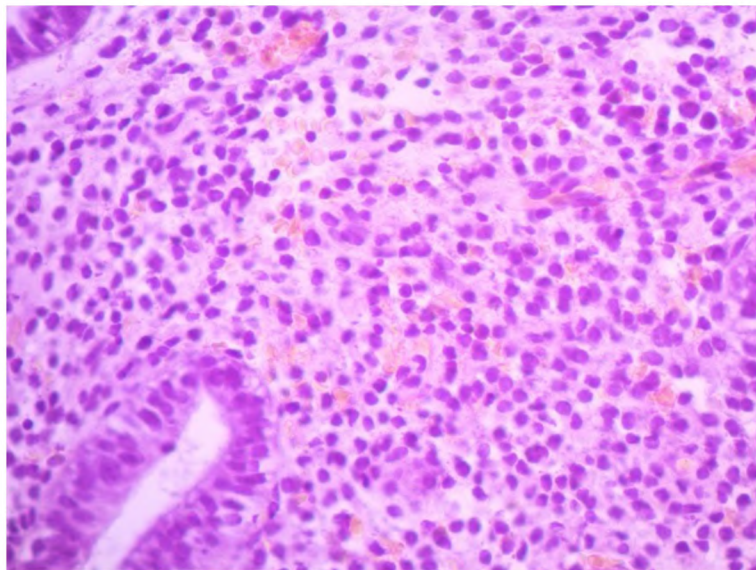


Рисунок 2.3. Склад імунокомпетентних клітин, що інфільтрують строму ендометрія (зб.×400, Г+Е).

У 39 (78%) випадках ХЕ групи 1 було виявлено фіброзні зміни строми та стінок судин у вигляді вогнищевих полів грубоволокнистої сполучної тканини з фіброзно зміненими, потовщеними стінками спіральних артерій. В 4 (8%) біоптатах групи 1 спостерігалися дрібновогнищеві фіброзні зміни строми різного ступеню давнини без залучення кровоносних судин: в окремих фокусах спостерігалися більш ніжні поля фіброзної тканини в порівнянні з іншими полями зору, де фіброзні зміни явно носили застарілий характер. Характерною особливістю судин ендометрію у всіх випадках в групі 1 було їх різке повнокрів'я, що зображено на рисунку 2.4. В біоптатах після проведеної терапії (група 2) істотної динаміки змін фіброзної тканини ендометрію виявлено не було в усіх проаналізованих випадках, проте зменшилися склеротичні зміни стінок спіральних артерій (вони помічені лише в 12 (24%) випадків).

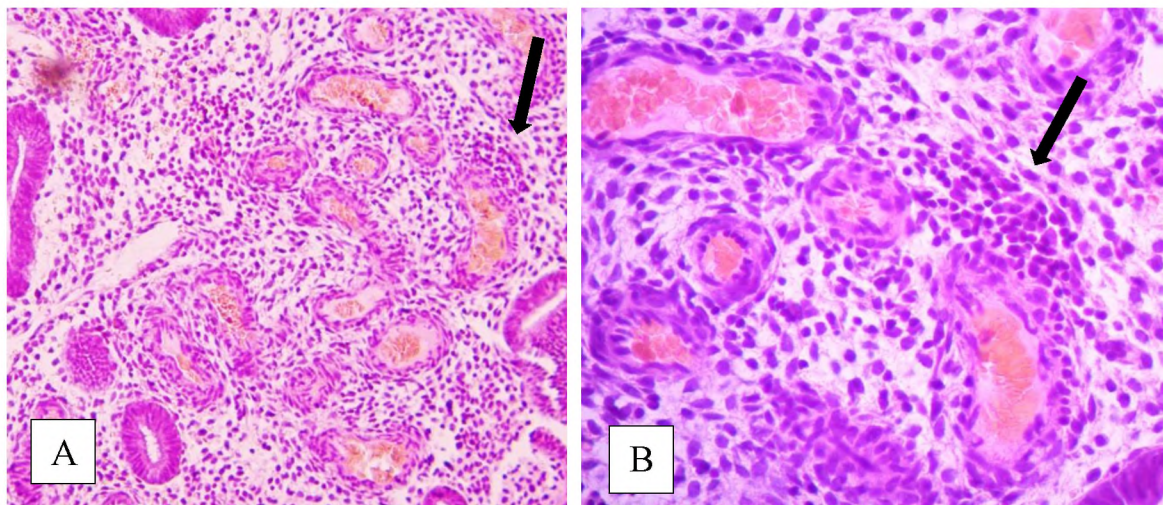


Рисунок 2.4. Повнокровні судини з фіброзованими потовщеними стінками та периваскулярним запальним інфільтратом (показаний стрілкою) (Г+Е): А - зб.×100 (фолікул показано стрілкою), В - зб.×400.

Вогнищева гіперплазія ендометрія спостерігалася в 18 (36%) випадках групи 1, в 2 (4%) випадків ендометрій виглядав атрофічним. В групі 2 гіперпластичні зміни відмічалися в 5 (10%) випадках і атрофічних змін виявлено не було. В групі 1 зустрічалися залози округлої та звивистої

форми, що вислані одношаровим призматичним епітелієм з наявністю поодиноких клітин з великим ядром та вакуолізацією цитоплазми (рис. 2.5), іноді з'являлися комплекси типу «залоза в залозі», але носили поодинокий характер. Кістозно розширені залози спостерігалися в 5 (10%) випадках основної групи.

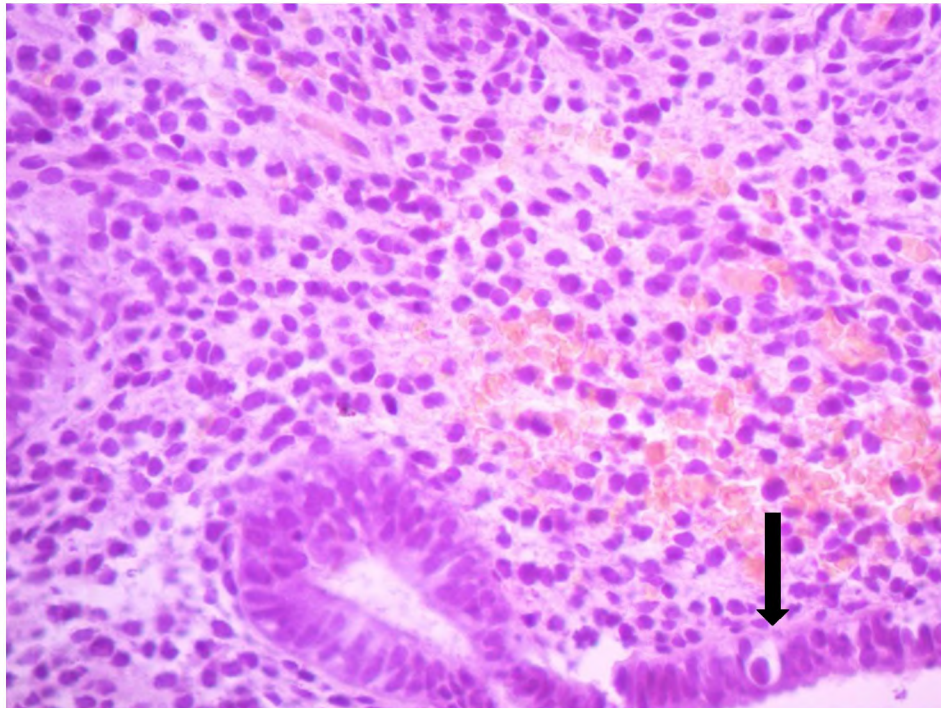


Рисунок 2.5. Поодинокі клітини з великим ядром та вакуолізацією цитоплазми. (зб.×400, Г+Е).

Також було помічено невідповідність гістологічної будови ендометрію фазі менструального циклу в 46 (92%) випадків в групі 1. Так, будова ендометрію відповідала середній проліферативній фазі в 9 (18%) випадках та пізній проліферативній фазі в 37 (74%) випадках, хоча за фазою менструального циклу ендометрій мав відповідати середній секреторній фазі. В групі 2 лише в 6 (12%) випадках зберіглася невідповідність: ендометрій відповідав пізній проліферативній фазі маткового циклу.

Діагностичні морфологічні критерії хронічного ендометриту

Критерій	Кількість пацієнток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
<i>Наявність запальних інфільтратів з наявністю плазмоцитів</i>	50 (100%)	0 (0%)	$\chi^2=15,99; p=0,001$
<i>Вогнищевий фіброз строми</i>	43 (86%)	17 (34%)	
<i>Фіброз та повнокрів'я стінок спіральних судин мікроциркуляторного русла</i>	39 (78%)	12 (24%)	
<i>Невідповідність будови ендометрію фазі менструального циклу</i>	46 (92%)	6 (12%)	

Відповідно до основних морфологічних критеріїв хронічного ендометриту (табл. 2.2) повна форма захворювання спостерігалася в 39 (78%) випадків в групі 1, і, відповідно, в 11 (22%) випадків мала місце неповна форма. В результаті проведеного лікування маємо достовірне зниження вираженості ознак ХЕ ($\chi^2=15,99; p=0,001$) або їх повне зникнення, бо сукупності ознак, притаманних ХЕ, не було виявлено в жодному випадку групи 2.

3.3 Резюме

1. В результаті аналізу медичної документації пацієнток виявлено, що для хворих на хронічний ендометрит середній вік склав $30,5 \pm 3,8$ років.

2. В структурі жіночого безпліддя в нашому дослідженні ХЕ займає друге місце, поступаючись розладам овуляторно-менструального циклу.

3. В 36% (n=18) випадків ХЕ перебігав безсимптомно і жінки зверталися до лікаря лише, коли стикалися з неможливістю завагітніти

або мали повторювані викидні. У 40% (n=20) випадків жінки скаржилися на дисменорею, що було найчастішим симптомом.

4. В 78% (n=39) досліджуваних біоптатів при морфологічному дослідженні мала місце повна форма ХЕ, в 22% (n=11) - неповна форма ХЕ.

5. В результаті проведеного лікування спостерігалось достовірне зменшення вираженості основних морфологічних ознак ХЕ ($\chi^2=15,99$; $p=0,001$) або їх повне зникнення.

Матеріали з даного розділу висвітлені в публікаціях здобувачки [3, 9, 10].

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ЕНДОМЕТРІЮ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ЕНДОМЕТРИТІ

У розділі проаналізовано молекулярно-біологічні особливості ендометрію при хронічному ендометриті у жінок з безпліддям до проходження ними терапії ХЕ та оцінено зміни, що відбулися в ендометрії пацієнок після проведеного лікування з подальшим настанням вагітності та дітонародженням.

4.1. Експресія Синдекану-1 в ендометрії

Експресія маркера Синдекан-1 (CD138) в групі 1 спостерігалася в усіх випадках. Так, ++ експресія спостерігалась в 37 (74%) випадках та +++ експресія – у 13 (26%) випадках. (рис. 4.1) Позитивно забарвлені клітини визначалися у стромі ендометрію, навколо судин та серед залозистого епітелію, де визначалася переважно вогнищева слабка (+) експресія.

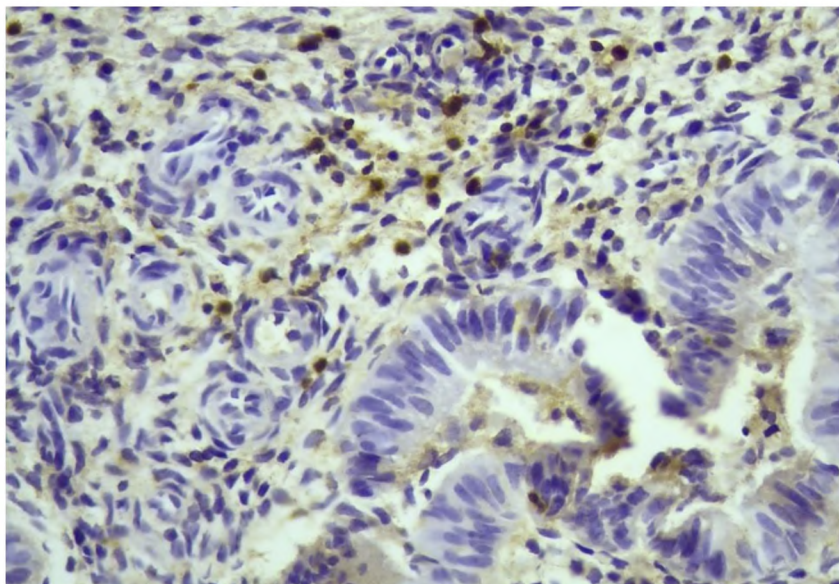


Рисунок 4.1. Група 1: виражена експресія CD138 в стромі ендометрію, навколо судин та слабка – серед залозистого епітелію. (зб.×400)

Кількість позитивно забарвлених клітин коливалася у межах від 5,1 до 16,7 із середнім значенням $8,8 \pm 0,33$. Досліджуючи 2 групу, виявлено достовірне суттєве зниження експресії маркера ($T=6,15$; $p<0,0001$), що продемонстровано на діаграмі (рис.4.2). Так, експресія маркера або не визначалася зовсім (в 32 (64%) випадках) або становила від 0,5 до 2,4 забарвлених клітин з відносною кількістю $0,72 \pm 0,11$ клітин. Інтенсивність ПХ-мітки була слабкою в більшості випадків, лише в 4 (8%) CD 138+ випадках зафіксовано ++ експресію.

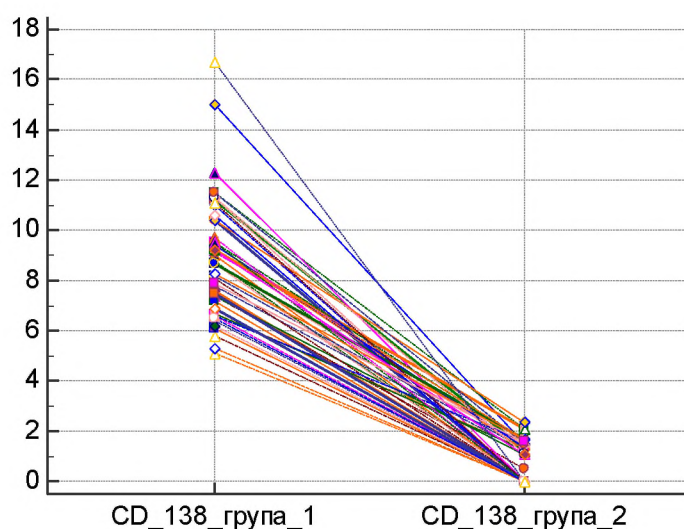


Рисунок 4.2. Точково-лінійна діаграма динаміки зміни експресії CD138 у пацієток до та після проведеного лікування.

Також було цікаво дослідити критичне значення ПХ-мітки маркера, при перевищенні якого з вірогідністю 80% можна передбачити безпліддя у пацієтки за даними оцінки Пайпель-біоптата. Для цього використовували метод ROC-кривих з оцінкою площі AUC (рис.4.3)

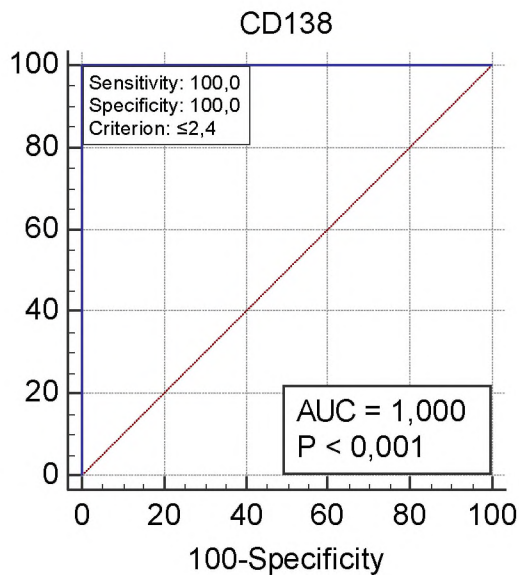


Рисунок 4.3. ROC-крива ІГХ-мітки CD138.

Відповідно до отриманого графіку можна визначити, що з вірогідністю 80% сприятливий для настання та перебігу вагітності прогноз можливий за показника експресії CD138 $\leq 2,4$ клітини.

Резюме

Маркер CD138, як золотий стандарт діагностики хронічного ендометриту, повинен застосовуватися в діагностичній панелі та може використовуватись для оцінки якості лікування та прогнозування настання вагітності. Згідно отриманих даних, з ймовірністю 80% вагітність настане при інфільтрації ендометрію відносною кількістю плазмоцитів $\leq 2,4$ клітини.

4.2. Аналіз змін проліферативної активності ендометрія

Експресію Ki-67 оцінювали в стромі та епітелії залоз ендометрія. В групі 1 в стромі клітини демонстрували помірну або слабку експресію маркера, в групі 2 – переважно слабку експресію маркера, в 4 (8%) випадках виявлено ++ експресію. 7 (14%) випадків були негативними щодо експресії Ki-67 в стромі в групі 1 та 21 (42%) випадок – в групі 2.

Розподіл кількості випадків за рівнями експресії маркеру у стромі ендометрія подано у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Розподіл пацієток за рівнем експресії Ki-67 в стромі ендометрію

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0 б. (0%)	7	21	$\chi^2=11,37; p=0,003$
1 б (1-20%)	23	22	
2 б (21-40%)	20	7	
3 б (41-60%)	0	0	
4 б (61-80%)	0	0	
5 б (81-100%)	0	0	

Відповідно до отриманих даних в стромі ендометрію маємо тенденцію до зникнення експресії Ki-67 або зниження рівня його експресії до рівня 1 балу після проведеної терапії ХЕ в порівнянні з даними до лікування ($\chi^2=11,37; p=0,003$). Графічно отримані дані продемонстровано на рис. 4.4.

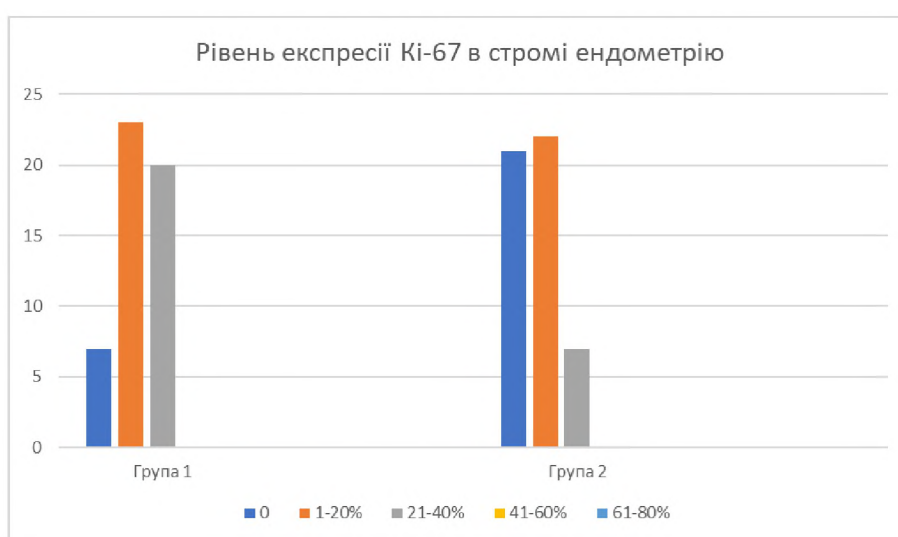


Рисунок 4.4. Гістограма розподілу кількості випадків за рівнями експресії Ki-67 в стромі ендометрію.

Відносна кількість Ki-67+ клітин в стромі склала $17,48 \pm 1,14\%$ в групі 1 та $5,47 \pm 1,03\%$ в групі 2. Маємо достовірне зниження експресії Ki-67 в стромі в групі 2 ($T=-6,935$, $p < 0,0001$).

В епітелії залоз експресія Ki-67 була виразнішою, більшість Ki-67+-випадків демонстрували +++ або ++ забарвлення в кожній з досліджуваних груп. (рис.4.5)

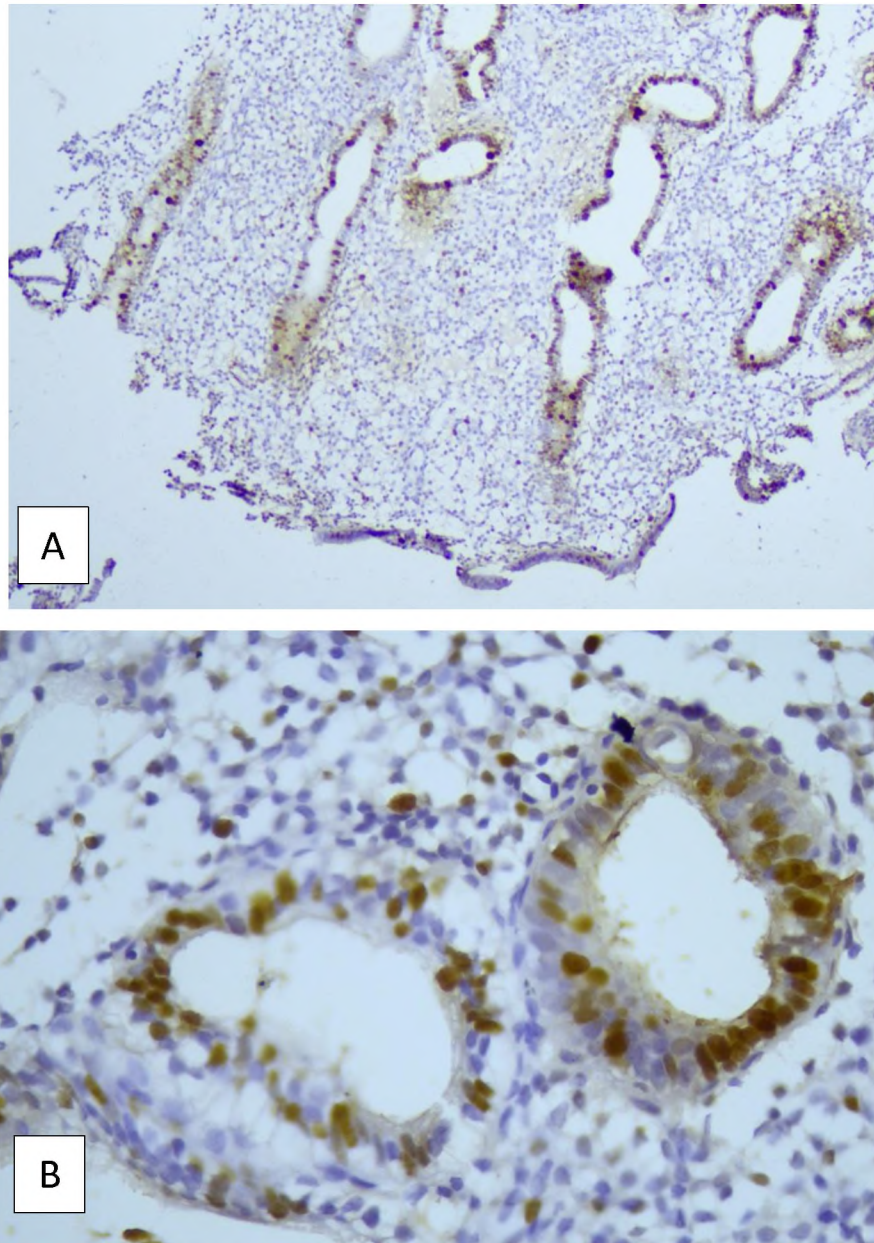


Рисунок 4.5. Помірна та виражена експресія Ki-67 в епітелії залоз
A-зб. $\times 100$; **B** – зб. $\times 400$, також помітні окремі Ki-67+ клітини стромы.

Переважає кількість випадків (n=28) експресували Ki-67 на рівні 2 балів в групі 1, в той час як 38 зразків в групі 2 отримали 0 або 1 бал (табл.4.2).

Таблиця 4.2

Розподіл пацієток за рівнем експресії Ki-67 в епітелії залоз ендометрію

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0 б. (0%)	5	9	$\chi^2=8,89; p=0,01$
1 б (1-20%)	17	29	
2 б (21-40%)	28	12	
3 б (41-60%)	0	0	
4 б (61-80%)	0	0	
5 б (81-100%)	0	0	

Тенденція до експресії Ki-67 на рівні 0-1 бал характерна для епітелію залоз після лікування ХЕ ($\chi^2=8,89; p=0,01$) (рис.4.6).

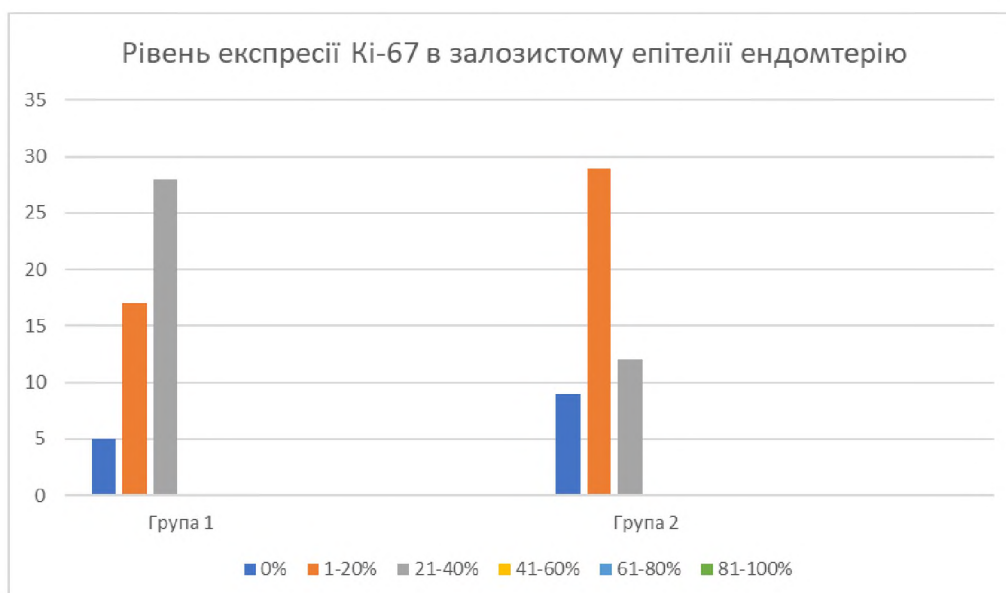


Рисунок 4.6. Гістограма розподілу кількості випадків за рівнями експресії Ki-67 в епітелії залоз ендометрію.

Обчислення ІМ Ki-67 в групі 1 показало середнє значення $17,48 \pm 1,14\%$, в групі 2 воно склало $10,72 \pm 1,18\%$. Спостерігається достовірне зниження рівня експресії маркера в групі після проведеного лікування ($T=-6,734, p < 0,0001$).

Резюме

Аналіз проліферативної активності ендометрію показав, що для строми ендометрію після проведеної терапії характерний рівень експресії Ki-67 становить 0-1 б ($\chi^2=11,37; p=0,003$). Для епітеліального компоненту ендометрія в групі 2 властивою є також експресія на рівні 0-1 б ($\chi^2=8,89; p=0,01$). Тенденція до зниження рівня ІМ в цілому характерна як для епітелію залоз ($t=-6,734, p < 0,0001$), так і для строми ендометрію ($t=-6,935, p < 0,0001$).

4.3 Оцінка динаміки рецептивності ендометрія

Дослідження експресії маркера рецепторів до естрогену виявило, що в 3 (6%) зразках групи 1 реакція виявилася негативною як в стромі, так і в епітелії залоз, а в 1 (2%) випадку відсутньою була стромальна реакція з її збереженням в епітелії залоз вогнищево на рівні $>50\%$ (рис.4.7 А). В решті досліджуваних випадків хронічного ендометриту до лікування спостерігалася виражена експресія як в стромі, так і в епітелії залоз (рис. 4.7 В). Середній рівень експресії ER склав $70,92 \pm 4,47\%$ у стромальному компоненті ендометрія із коливаннями від 0% до 96%, в епітеліальному – $84,78\% \pm 3,88\%$ із коливаннями 0%-100%. Розподіл за рівнями експресії ER в епітелії залоз подано в таблиці 4.3, в стромальному компоненті – в таблиці 4.4.

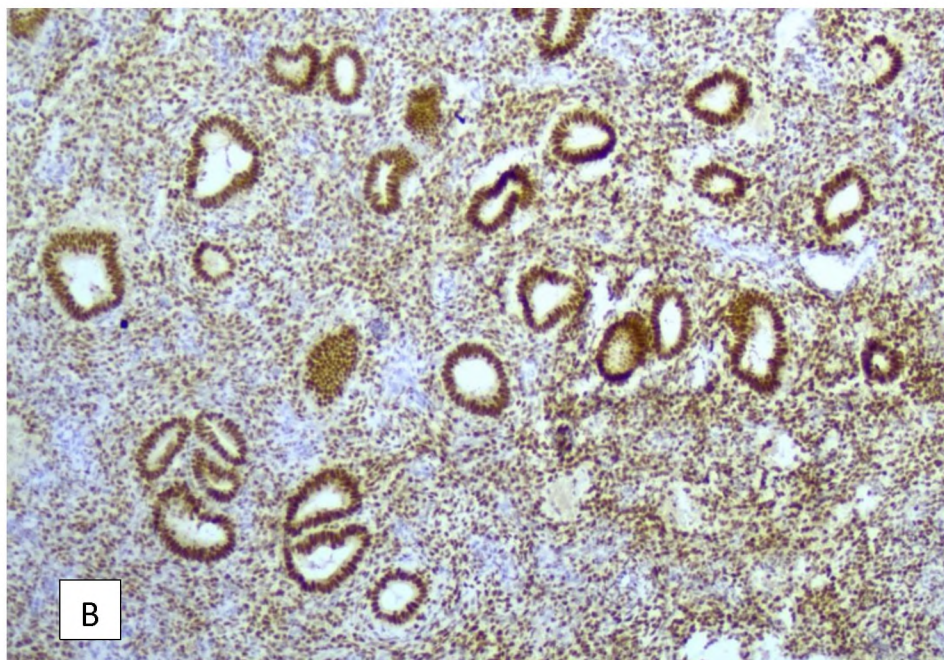
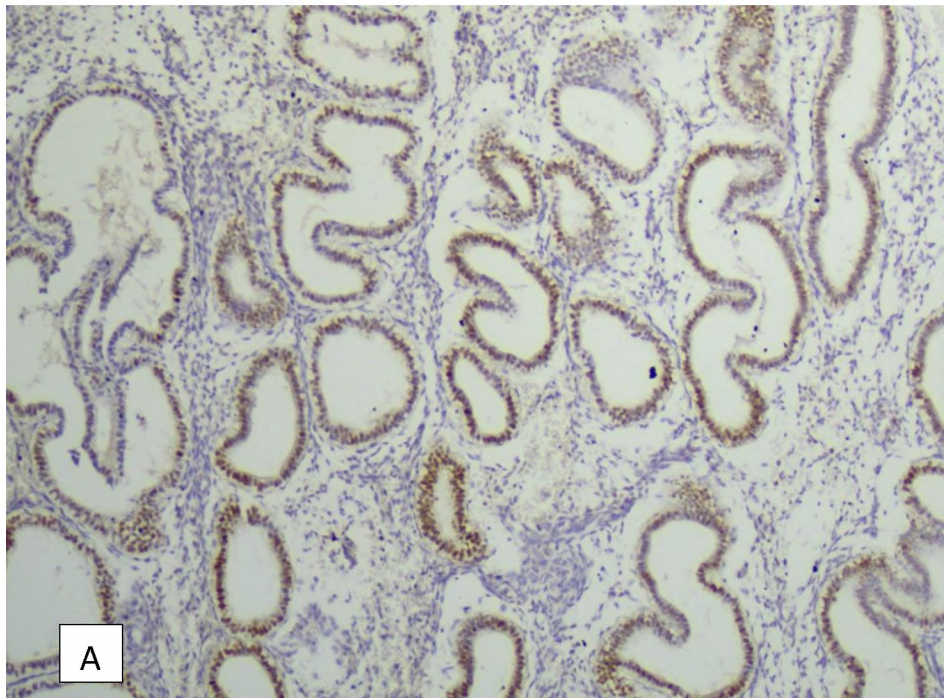


Рисунок 4.7 А - відсутність стромальної експресії ER та її вогнищеве збереження у епітелії залоз (збільшення×100). В – Виражена експресія маркера ER як в стромі, так і в епітелії залоз (збільшення×100).

Розподіл пацієток за рівнем експресії ER в епітелії залоз

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0%	3	4	$\chi^2=2,76; p=0,42$
1-10%	4	5	
11-50%	3	9	
51-100%	40	32	

У групі 2 повна відсутність експресії спостерігалася у 4 (8%) випадках, в 9 (18%) спостереженнях була відсутня тільки стромальна реакція зі збереженням ядерної експресії ER в залозах. В решті спостережень відмічена помірною або вираженою експресією ER як в епітеліальному компоненті ендометрія, так і в стромі. У стромі маркер ER експресувався на рівні $48,8 \pm 3,54\%$ із діапазоном значень від 0% до 78%, в епітелії середній рівень експресії становив $61,22 \pm 3,05\%$ із максимальним показником експресії 90%. При цьому для обох груп більш характерним рівнем експресії у стромальному компоненті є 51-100% із зростанням кількості випадків помірної експресії (11-50%) у групі 2 ($\chi^2=112,87; p<0,0001$). Для епітеліального компоненту характерна експресія понад 50% в обох групах дослідження без тенденції до збільшення кількості випадків помірної експресії в групі 2 ($\chi^2=2,76; p=0,42$).

Таблиця 4.4

Розподіл пацієток за рівнем експресії ER в стромі ендометрію

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0%	4	13	$\chi^2=112,87;$ $p<0,0001$
1-10%	2	1	
11-50%	15	28	
51-100%	29	8	

Помічена тенденція до зниження як стромальної експресії ER (T=5,36; $p<0,0001$), (рис.4.8 А), так і епітеліальної (t=5,43; $p<0,0001$) (рис. 4.8 В), що позначено на точково-лінійних діаграмах.

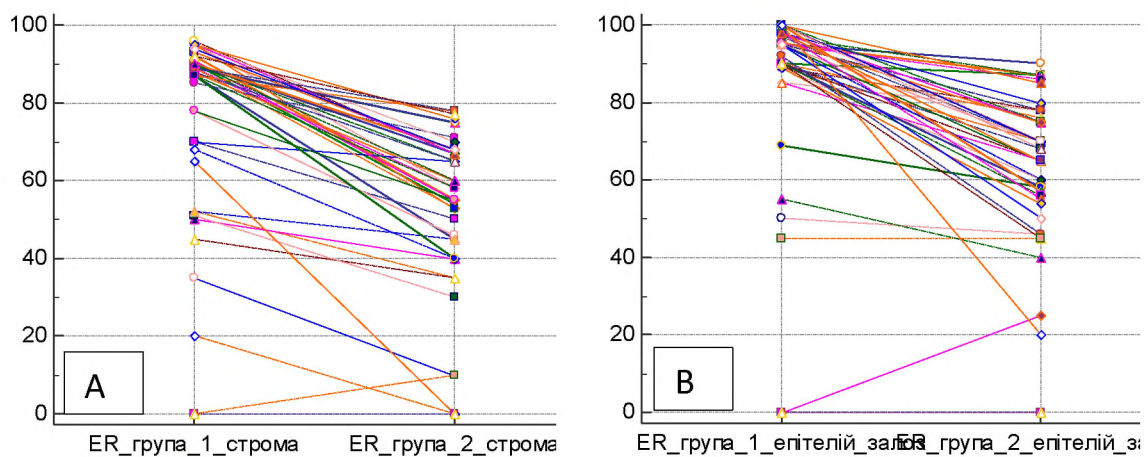


Рисунок 4.8. **А** – тенденція до зниження експресії ER у стромальному компоненті ендометрія після лікування. **В** - тенденція до зниження експресії ER у епітеліальному компоненті ендометрія після лікування.

Що стосується експресії маркеру рецепторів до PR, в групі 1 було знайдено 12 (24%) випадків абсолютно негативних зразків і у 17 (34%) випадках відмічалася тільки стромальна експресія PR. В решті випадків спостерігалася помірна та вогнищево слабка експресія маркеру у стромі та залозистому епітелії ендометрію, в 1 випадку помічена гіперекспресія маркера в обох компонентах (рис. 4.9А та 4.9В).

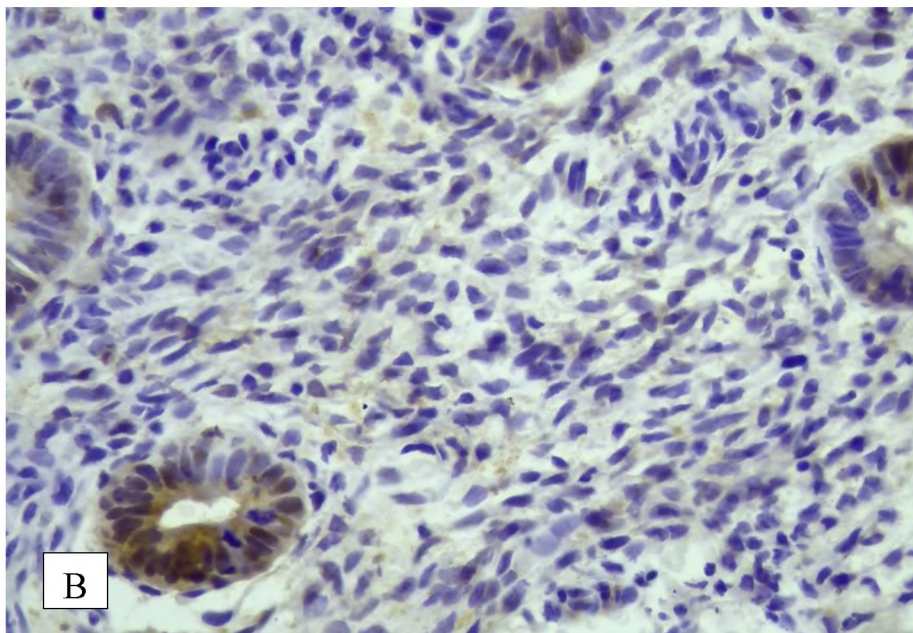
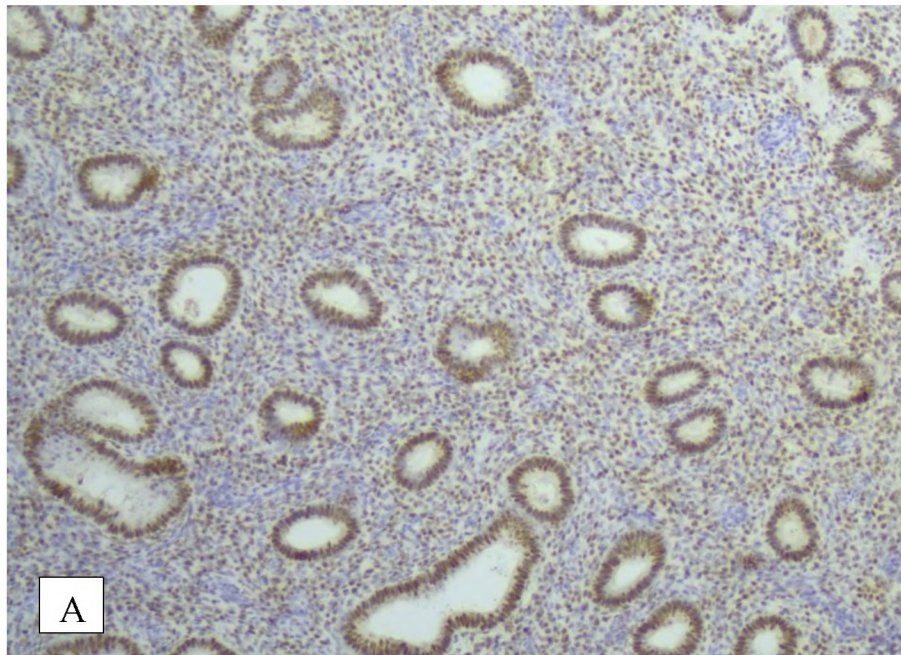


Рисунок 4.9. **А** – гіперекспресія PR в епітелії залоз ендометрію та в стромі (збільшення×100). **В** – вогнищева помірна експресія PR в залозах ендометрію (збільшення×400).

Середній рівень стромальної експресії в групі 1 становив $39,42 \pm 3,41\%$ з коливаннями від 0% до 73% та $35,26 \pm 3,78\%$ в епітеліальному компоненті ендометрія із максимальним значенням експресії 67%. В групі 2 рівень експресії маркера у стромі становив $16,98 \pm 2,44\%$, в епітелії – $15,22 \pm 2,51\%$. Розподіл кількості випадків за

рівнями експресії маркеру PR в епітеліальному та стромальному компонентах представлено в таблицях 4.5 та 4.6 відповідно.

Таблиця 4.5

Розподіл пацієток за рівнем експресії PR в епітелії залоз ендометрію

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0%	17	27	(χ ² =25,69, p<0,0001)
1-10%	0	0	
11-50%	12	23	
51-100%	21	0	

Таблиця 4.6

Розподіл пацієток за рівнем експресії PR в стромі ендометрію

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0%	12	23	(χ ² =0,08, p=0,77).
1-10%	0	0	
11-50%	19	26	
51-100%	19	1	

Має місце значне зниження рівня експресії PR як в стромальному компоненті (T=5,37; p<0,0001), так і епітеліальному (T=4,75; p<0,0001), що продемонстровано відповідно на рисунках 4.10 А та 4.10 В.

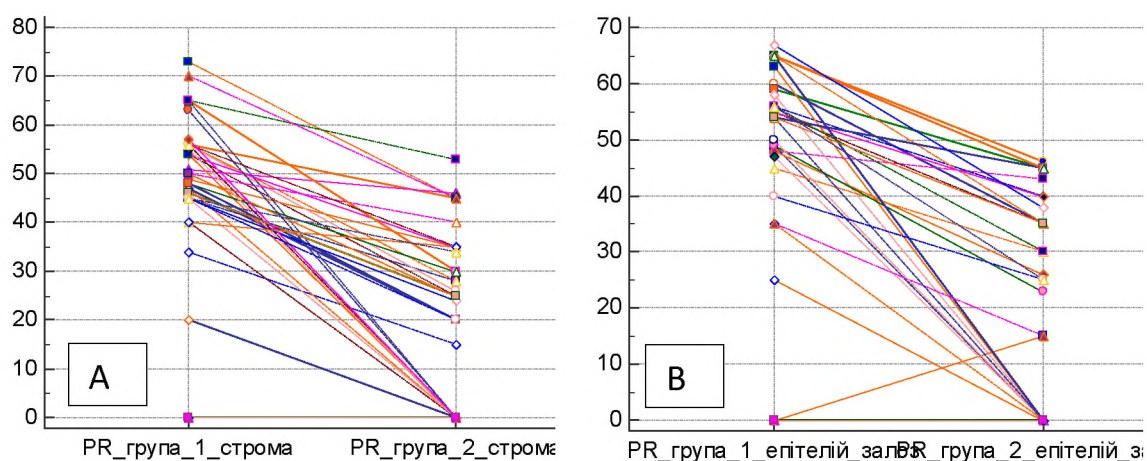


Рисунок 4.10 **А** – тенденція до зниження експресії PR у стромальному компоненті ендометрія після лікування. **В** - тенденція до зниження експресії ER у епітеліальному компоненті ендометрія після лікування.

В ході дослідження також виявлено, що після лікування характерний рівень експресії PR в епітеліальному компоненті знаходиться в межах 0-50% ($\chi^2 = 25,69$, $p < 0,0001$), в той час як для стромального компоненту граничного значення не виявлено ($\chi^2 = 0,08$, $p = 0,77$).

Резюме

При дослідженні рецептивності ендометрію за допомогою оцінки рівня експресії ER не знайдено відмінностей в рівні експресії маркера у стромі ендометрія між двома групами. Для групи 1 та групи 2 характерний рівень експресії в стромі склав 51-100%, проте помічено зростання кількості випадків помірної експресії (11-50%) у групі 2 ($\chi^2 = 112,87$; $p < 0,0001$). Для епітеліального компоненту характерною виявилася експресія понад 50% в обох групах дослідження без достовірних відмінностей ($\chi^2 = 2,76$; $p = 0,42$). В цілому після терапії помічено схильність до зниження відносних значень ІМ як стромальної експресії ER ($t = 5,36$; $p < 0,0001$), так і епітеліальної ($t = 5,43$; $p < 0,0001$).

При оцінці експресії PR виявлено відмінності в рівнях для залозистого епітелію: для групи 2 характерний рівень становив 0-50% ($\chi^2 = 25,69$, $p < 0,0001$). Для строми граничного характерного значення не виявлено ($\chi^2 = 0,08$, $p = 0,77$).

4.4. Оцінка апоптотичних властивостей ендометрію

Експресія маркерів p53 та Vcl-2 була помічена тільки в епітелії залоз ендометрію. При аналізі ІМ Vcl-2 в епітелії залоз в групі 1 помічено, в 41 випадку (82%) спостерігається ++ експресія маркера, і тільки в 4 (8%) випадках спостерігалася + експресія.

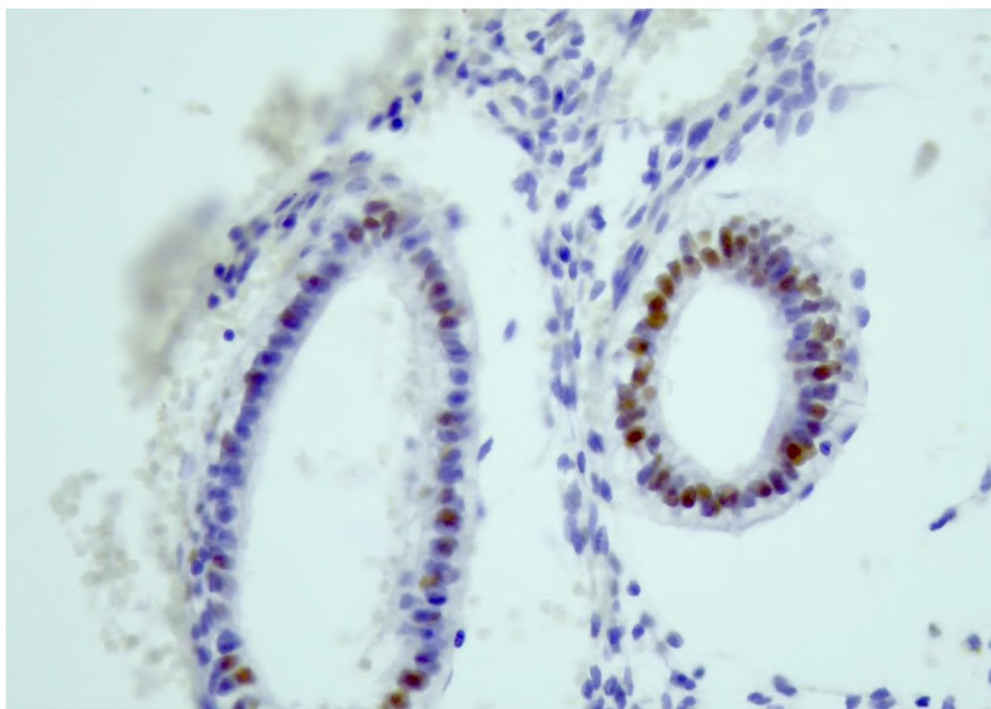


Рисунок 4.11. ++ експресія Vcl-2 в епітелії залоз ендометрію (збільшення $\times 400$).

ІМ коливався в групі 1 від 12% і до 89% з середнім показником $71,3 \pm 2,79\%$. Переважна кількість, 29 (58%) зразків, демонстрували високий рівень експресії і тільки 7 (14%) випадків не експресували маркер взагалі або зафіксовано низький рівень експресії. Розподіл

випадків за рівнями експресії маркера подано в таблиці 4.7 та рисунку 4.12.

Таблиця 4.7

Розподіл пацієток за рівнем експресії Vcl-2 в епітелії залоз ендометрію

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0-24%	5	9	(χ ² =22,69, p<0,0001)
25-49%	2	21	
50-74%%	14	20	
75-100%	29	0	

У групі 2 ІМ був головним чином в інтервалі середнього рівня експресії - 21 (42%) зразок ендометрію експресував Vcl-2 на рівні 50-74%. Середнє значення ІМ склало 42,14±2,64% із коливаннями показників від 0% до 67%. Низький рівень експресії був властивий 20 (40%) випадкам. Високий рівень експресії не спостерігався взагалі.

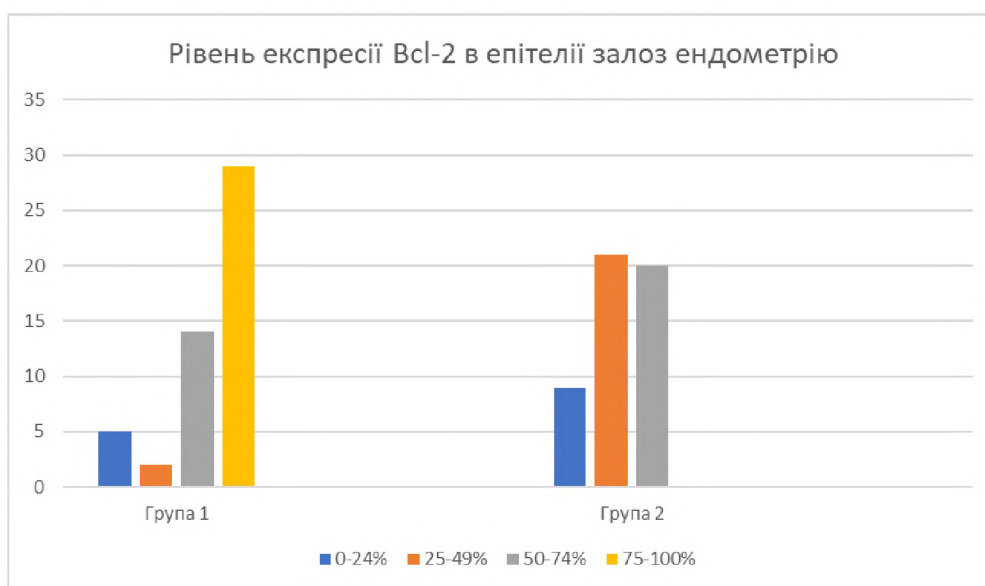


Рисунок 4.12. Експресія Vcl-2 в епітелії залоз з тенденцією до низької експресії в групі 2 (χ² =22,69, p<0,0001).

Для групи 2 характерна достовірна тенденція до експресії Vcl-2 на рівні 0-49% ($\chi^2 = 22,69$, $p < 0,0001$) із зниженням випадків помірної експресії маркера. Проте, не виявлено достовірних відмінностей між рівнями експресії 0-24% та 25-49% ($\chi^2 = 2,57$, $p = 0,1$) в обох групах.

Має місце тенденція до зниження загального значення ІМ в групі 2, тобто після проведеної терапії ХЕ ($T = 5,99$; $p < 0,0001$) (рис. 4.13).

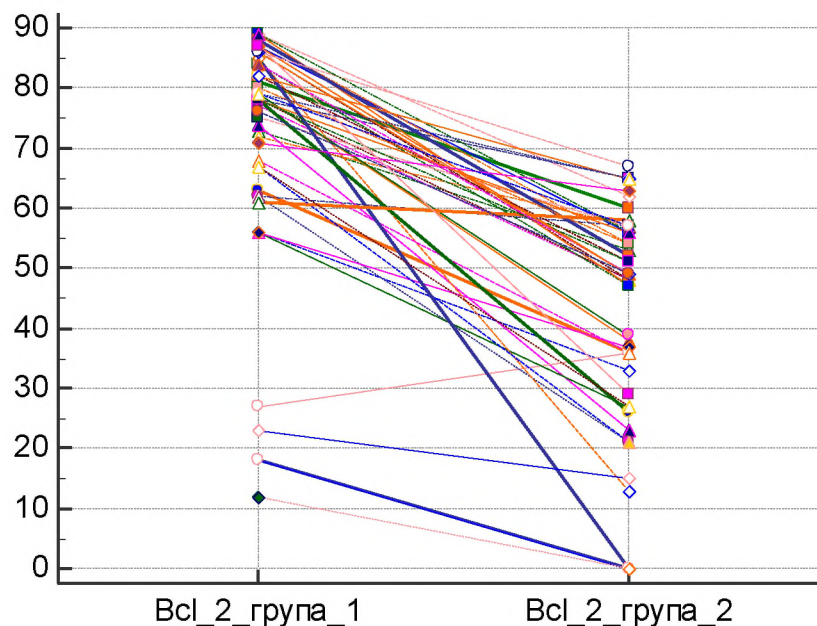


Рисунок 4.13. Графічне зображення зниження ІМ Vcl-2 після проведеної терапії ХЕ.

Другим маркером, рівень експресії якого досліджували в епітелії залоз, був p53. Його експресія була переважно з інтенсивністю + в обох групах, лише у 2 (4%) випадках групи 1 і в 5 (10%) випадках групи 2 експресія спостерігалася на рівні ++. У групі 1 у 47 випадках маркер взагалі не експресувався, у 2 зразках експресія була слабкою і лише в 1 зразку експресія досягала 11%. Середнє значення ІМ p53 в групі 1 склало $0,48 \pm 0,28\%$. У другій досліджуваній групі 11 випадків були негативними на фарбування p53, всі інші зразки показали рівень експресії $< 10\%$ (табл. 4.8). Середній показник ІМ в групі 2 склав $3,08 \pm 0,26\%$.

Має місце тенденція до експресії p53 на рівні <10% після проведеного лікування ($\chi^2 = 50,28$, $p < 0,0001$) зі значним зменшенням кількості негативних випадків, що відображено на рис. 4.14.

Таблиця 4.8

Розподіл пацієток за рівнем експресії p53 в епітелії залоз ендометрію

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0%	47	11	$(\chi^2 = 50,28$, $p < 0,0001)$
<10%	2	39	
10-29%	1	0	
$\geq 30\%$	0	0	

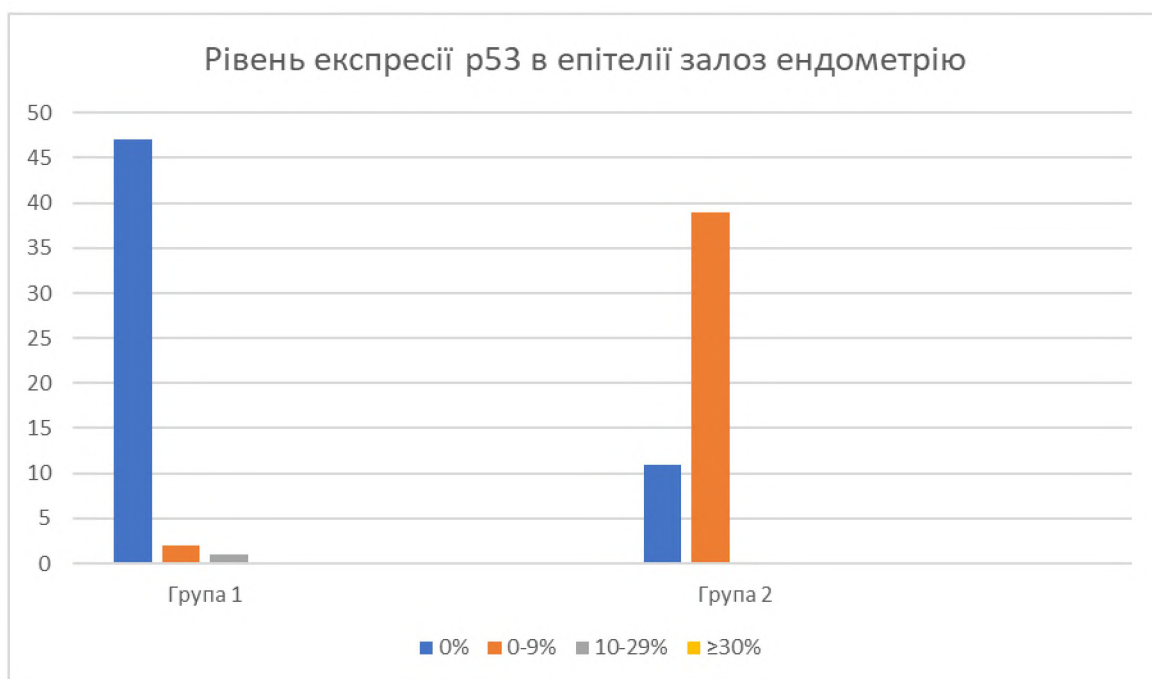


Рисунок 4.14. Збільшення випадків низького рівня експресії маркера p53 в групі 2 в порівнянні з переважанням негативних за експресією випадків в першій групі. На рисунку 4.14 видно чітку тенденцію до збільшення показника ІМ p53 в групі 2 після проведеної терапії ($T = -5.22$; $p < 0,0001$).

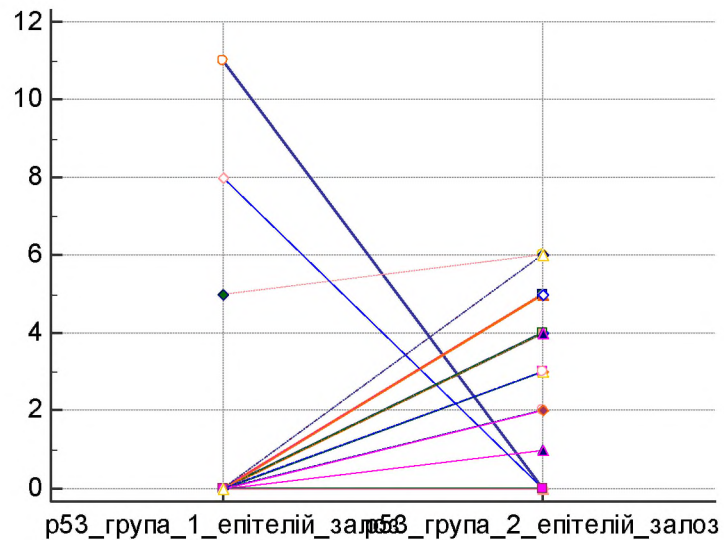


Рисунок 4.15. Графічне зображення тенденції до збільшення значень ІМ p53 в групі 2.

Цікавим було простежити взаємозв'язок між експресією двох маркерів в досліджуваних групах. Виявлено, що в групі 1 має місце сильний зворотній кореляційний зв'язок між експресією p53 та Vcl-2 ($r = -0,65$; $p < 0,001$) (рис. 4.16 А), в той час як в групі 2 проявляється прямий сильний кореляційний зв'язок ($r = 0,65$; $p < 0,001$) (рис. 4.16 В).

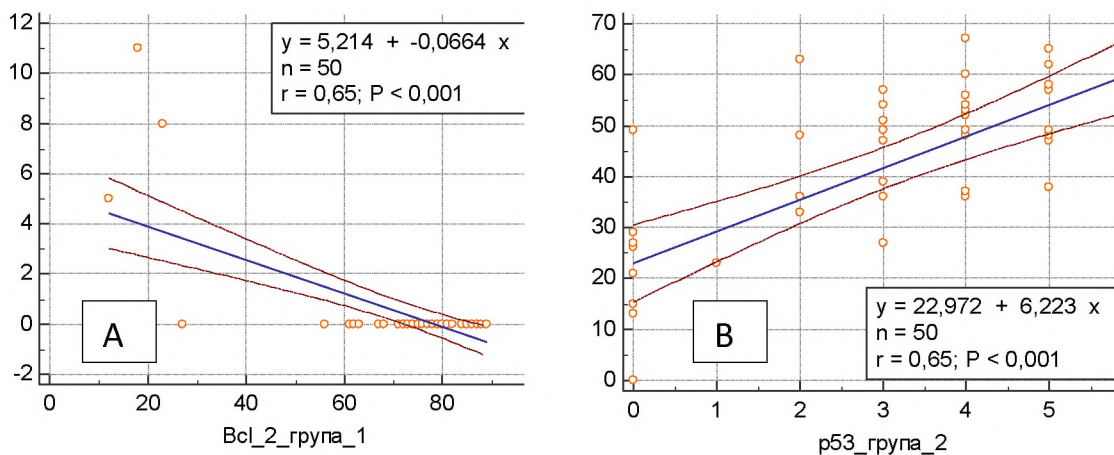


Рисунок 4.16. Кореляції між експресією p53 та Vcl-2 в групі 1 (А) та групі 2 (В).

Також простежено взаємозв'язок між антиапоптотичним маркером Bcl-2 та маркером проліферації Ki-67. В групі 1 взаємозалежності між експресією двох маркерів не виявлено ($r=0,01$; $p=0,95$), але у групі 2 достовірним виявилось збільшення експресії Ki-67 пропорційно до збільшення експресії Bcl-2 ($r=0,42$; $p=0,005$).

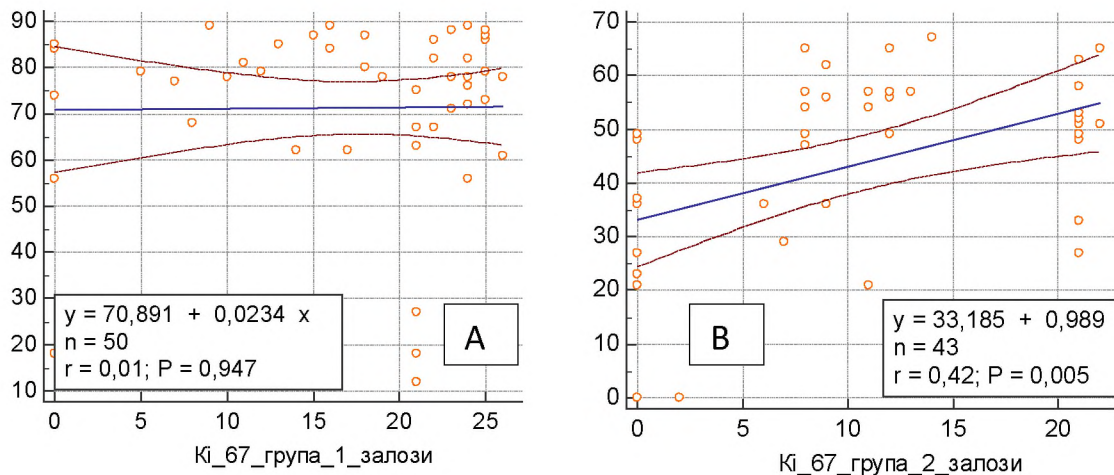


Рисунок 4.17. **A** – відсутність взаємозв'язку між експресією Ki-67 та Bcl-2 в групі 1; **B** – прямий сильний зв'язок між експресією Ki-67 та Bcl-2 в групі 2.

Резюме

Аналіз рівнів імуногістохімічної мітки маркерів p53 та Bcl-2 показав, що для групи 2 характерний рівень експресії Bcl-2 становить 0-49% ($\chi^2 = 22,69$, $p < 0,0001$) із зниженням відносних значень експресії маркера в групі 2 після терапії. Характерний рівень експресії p53 в групі 2 склав $< 10\%$ ($\chi^2 = 50,28$, $p < 0,0001$) із тенденцією до збільшення відносного значення ІМ ($T = -5,22$; $p < 0,0001$). Тобто, отримані граничні рівні експресії маркерів можна включити до ІГХ-панелі контролю якості лікування ХЕ.

Також було виявлено в групі 1 сильний зворотній кореляційний зв'язок між експресією p53 та Bcl-2 ($r = -0,65$; $p < 0,001$) та в групі 2 – прямий сильний кореляційний зв'язок ($r = 0,65$; $p < 0,001$).

При аналізі коекспресії Vcl-2 та Ki-67 виявлено прямий сильний кореляційний зв'язок в групі 2 ($r=0,42$; $p=0,005$).

4.5. Феномен епітеліально-мезенхімальної трансформації в ендометрії

Явище епітеліально-мезенхімальної трансформації вивчали за допомогою експресії маркерів E-kadherin та Vimentin. Встановлено, що в групі 1 11 (22%) випадків продемонстрували помірний рівень експресії, решта випадків експресували E-kadherin на високому рівні із середнім значенням $54,14 \pm 1,16\%$. В другій групі спостерігався високий рівень експресії маркера в 48 (96%), в 2 (4%) випадках було виявлено помірний рівень експресії (табл. 4.9). Середнє значення ІМ склало $93,32 \pm 0,72\%$. Проте, в порівнянні другою групою, показники експресії були в першій групі були нижчими ($T=-6,15$; $p<0,001$), що також видно на рисунку 4.18. Також встановлено, що для настання вагітності сприятливим вважався рівень E-kadherin 51-100% ($\chi^2=5,66$, $p=0,02$).

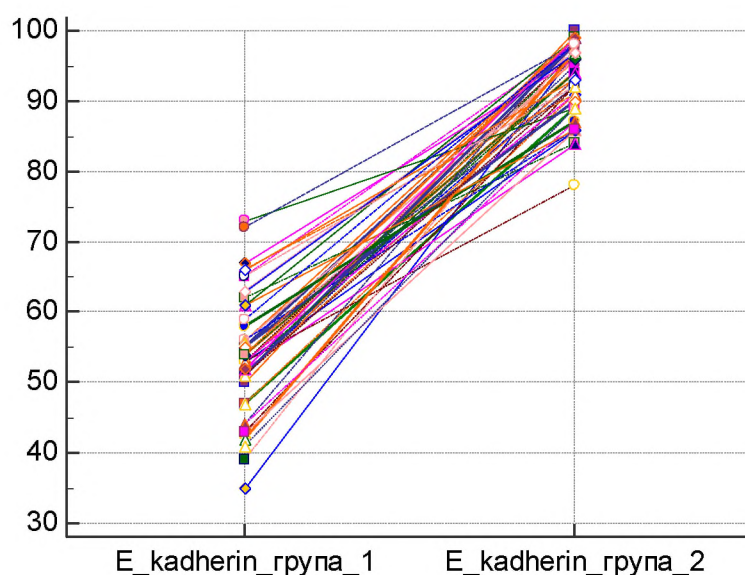


Рисунок 4.18. Точково-лінійна діаграма динаміки зміни експресії E-kadherin у пацієток до та після проведеного лікування.

Розподіл пацієток за рівнем експресії E-kadherin

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0%	0	0	$(\chi^2 = 5,66, p=0,02)$
<10%	0	0	
10-50%	11	2	
51-100%	41	48	

Цікаво було простежити, чи є зв'язок між втратою епітеліального фенотипу та вираженістю інфільтрації CD138. Знайдено сильний зворотній кореляційний зв'язок між експресією CD138 та E-kadherin у групі 1 ($r=-0,36$; $p=0,01$) (рис. 4.19 А), проте у групі 2 взаємозв'язку між експресією вказаних маркерів не виявлено ($r=0,07$; $p=0,65$) (рис. 4.19 В).

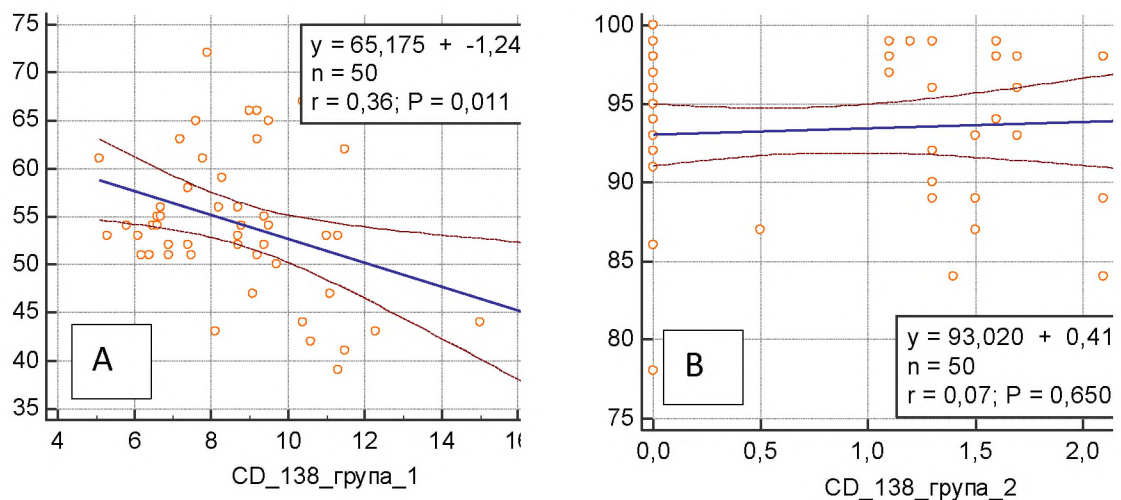


Рисунок 4.19. Графік кореляційної залежності експресії CD138 від експресії E-кадгерину в групі 1 – А, та групі 2 – В.

Досліджуючи експресію Vimentin в групі 1 (табл. 4.10) було виявлено, що його експресія переважно знаходилася на помірному та високому рівнях, але показник не перевищував 70%, а в середньому склав $54,6 \pm 1,25\%$. В групі 2 експресія Vimentin була відсутня або знаходилася

на слабкому та помірному рівні і не перевищувала 21% із середнім значенням ІМ $8,58 \pm 0,92\%$.

Таблиця 4.10

Розподіл пацієток за рівнем експресії Vimentin

Рівень експресії	Кількість пацієток (n=50)		Достовірність
	Група 1 (n/%)	Група 2 (n/%)	
0%	0	13	$(\chi^2 = 40,7, p < 0,0001)$
<10%	0	18	
10-50%	7	19	
51-100%	41	0	

Також встановлено, що для настання вагітності сприятливим рівнем експресії маркера вважався рівень <10% ($\chi^2 = 40,7, p < 0,0001$) та помічено суттєве зниження експресії ІМ Vimentin в групі 2 ($T=6,15; p < 0,001$) (рис. 4.20).

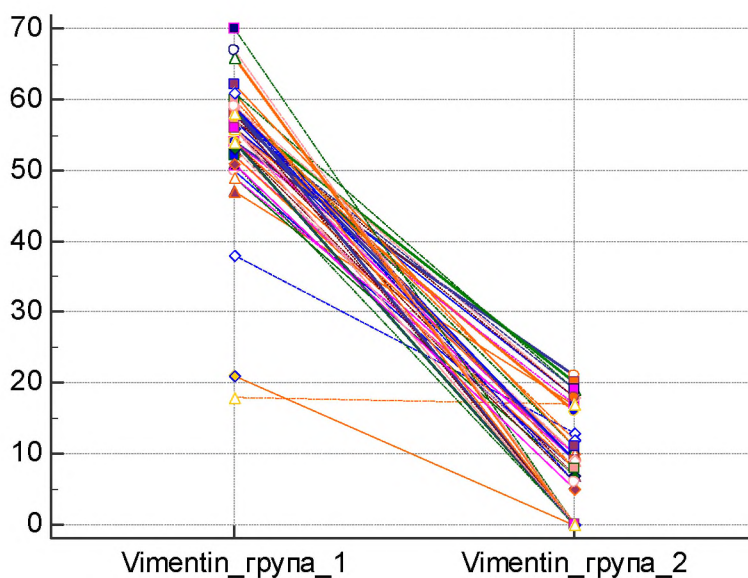


Рисунок 4.20. Точково-лінійна діаграма динаміки зміни експресії Vimentin у пацієток до та після проведеного лікування.

Феномен ЕМТ чітко спостерігався у групі 1, що показано на рисунку 4.21 А, і, навпаки – у групі 2 спостерігався феномен мезенхімально-епітеліальної трансформації (МЕТ) (рис. 4.21 В).

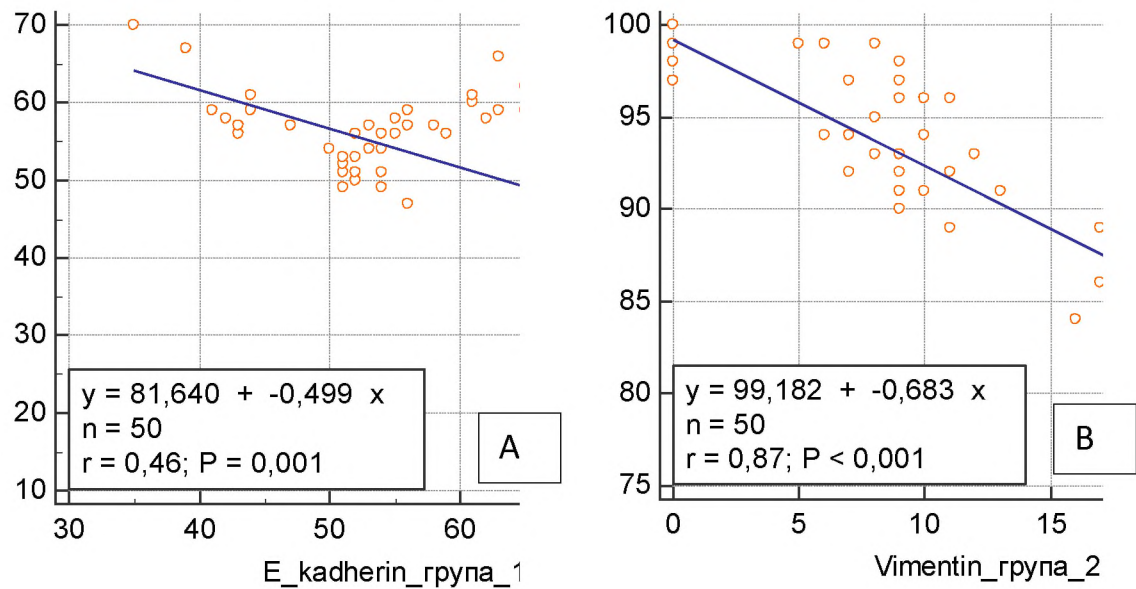


Рисунок 4.21. **А** - лінія регресії демонструє феномен ЕМТ у групі 1; **В** – лінія регресії відображає феномен МЕТ в групі 2.

Для Vimentin достовірної залежності не знайдено: в групі 1 простежувався слабкий прямий кореляційний взаємозв'язок ($r = 0,16$; $p = 0,27$) (рис. 4.22 А), в групі 2 залежність також була відсутня ($r = 0,05$; $p = 0,74$) (рис. 4.22 В).

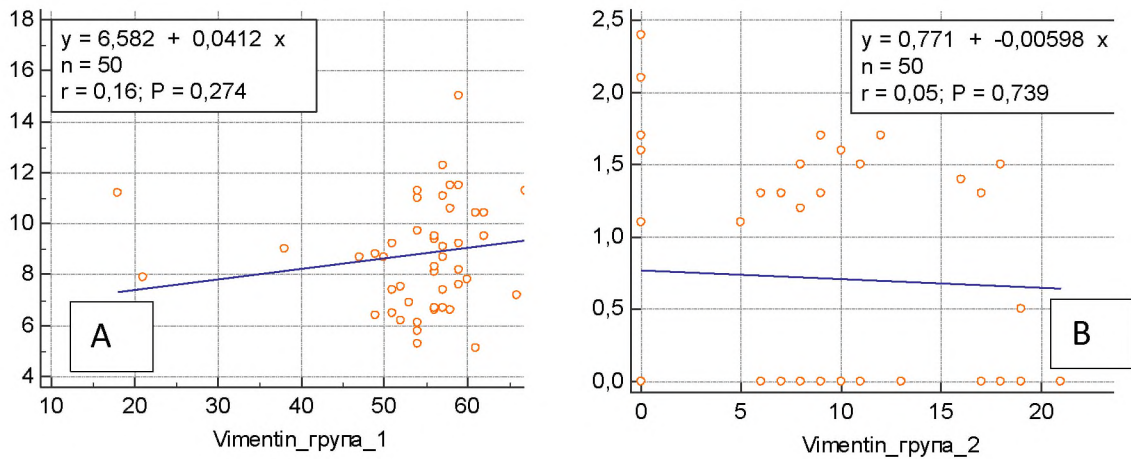


Рисунок 4.22. **A** – слабкий прямий кореляційний зв'язок між експресією CD138 та Vimentin у групі 1; **B** – лінія регресії демонструє відсутність зв'язку між експресією CD138 та Vimentin у групі 2.

Резюме

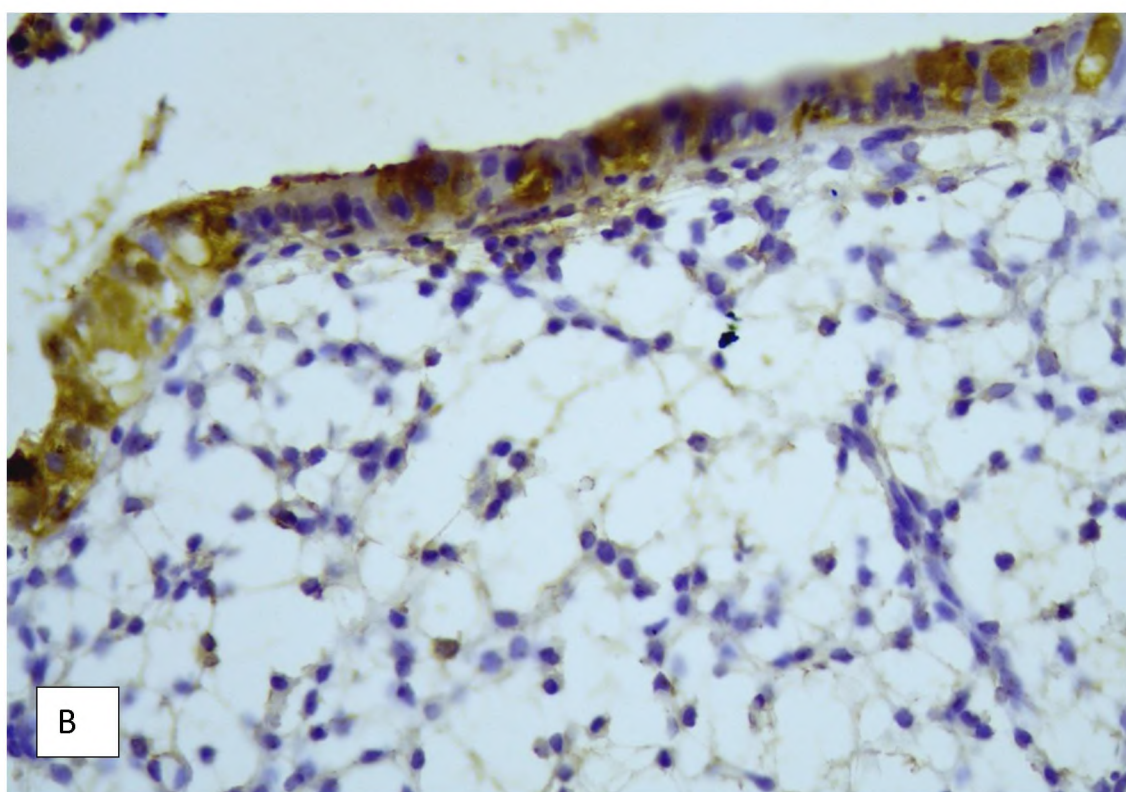
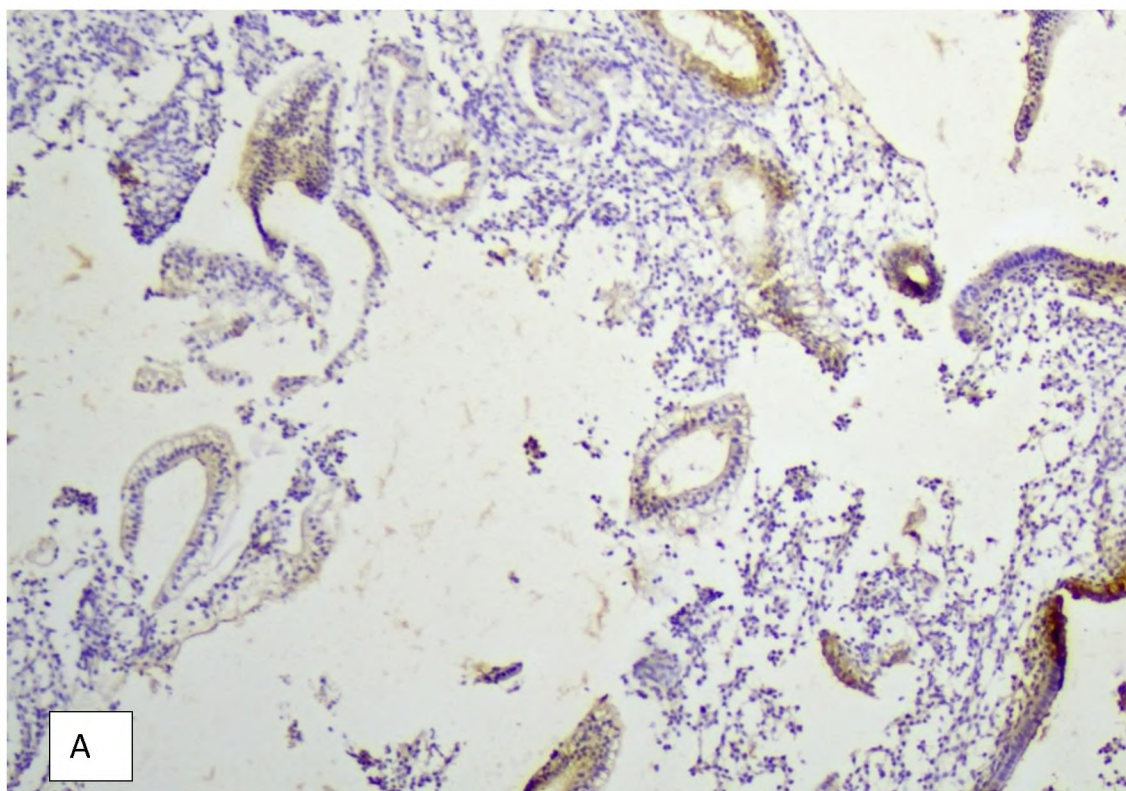
В ході дослідження маркерів EMT було виявлено, що критерієм ефективної терапії ХЕ є рівень E-kadherin 51-100% ($\chi^2 = 5,66$, $p = 0,02$) з тенденцією до зростання відносного показника експресії в порівнянні з вихідним рівнем ($T = -6,15$; $p < 0,001$). Для Vimentin характерний рівень експресії, за якого можна констатувати успішність терапії, склав $< 10\%$ ($\chi^2 = 40,7$, $p < 0,0001$) із суттєвим зниженням експресії IM Vimentin в групі 2 ($T = 6,15$; $p < 0,001$). Також в групі 1 виявлено, що із втратою епітеліального фенотипу збільшується вираженість інфільтрації CD138+ клітинами ($r = -0,36$; $p = 0,01$).

4.6. Оцінка експресії білка p16 в ендометрії.

Оскільки ІГХ-маркер експресувався в стромі, покривному епітелії та епітелії залоз, відповідну оцінку надавали по трьох локалізаціях експресії.

Інтенсивність ІГХ-мітки варіювалася від +++ до помірної в епітеліальному компоненті в групі 1 (рис. 4.23 А та В) та від ++ до + в

стромі в групі 1 (рис. 4.23 С). В групі 2 інтенсивність цитоплазматичного забарвлення була +++ або ++ в епітелії та + в стромі ендометрію.



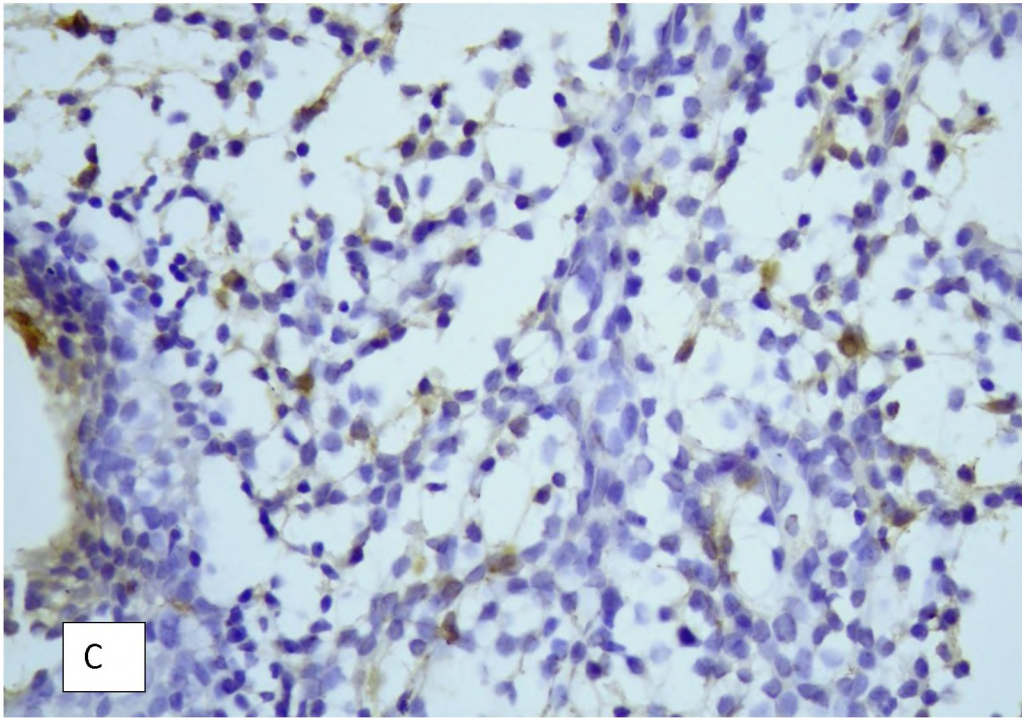


Рисунок 4.23. **А** – «+++» та «++++» експресія p16 в епітелії залоз та поверхневому епітелії (зб \times 100) ; **В** – «++++» експресія p16 в поверхневому епітелії ендометрія; **С** – «++» експресія p16 у стромі ендометрія.

В результаті проведеної оцінки ІГХ-мітки p16 виявлено, що в групі 1 показник експресії маркера коливався в межах від 0% до 6,8% в епітелії залоз, від 3,6% до 21,8% в покривному епітелії та від 0,01 до 6,8%. В групі 2 значення експресії маркера коливалося від 0% до 75,3% в епітелії залоз, від 11,3% до 93,2% в покривному епітелії та від 0,01% до 7,6% в стромі ендометрія. Середні значення ІГХ-мітки для обох досліджуваних груп подано у таблиці 4.11.

Таблиця 4.11

Середнє значення експресії ІГХ-маркера p16 в епітеліальному та стромальному компонентах ендометрія

	Покривний епітелій	Епітелій залоз	Строма
Група 1	11,8±0,58%	3,6±0,33%	3,1±0,2%
Група 2	41,9±2,3%	12,6±1,8%	3,4±0,3%
Критерій Вілкоксона	T=-5,52; p<0,0001	T=-5,16; p<0,0001	T=-1,5; p=0,13

Було встановлено, що для групи жінок, у яких настала вагітність з послідуочим народженням дитини, відмічалоя достовірне зростання експресії маркера p16 у поверхневому епітелії (T=-5,52; p<0,0001) (рис. 4.24 А) та епітелії залоз (T=-5,16; p<0,0001) (рис. 4.24 В), в той же час, для строми такої тенденції не помічено (T=-1,5; p=0,13) (рис. 4.24 С).

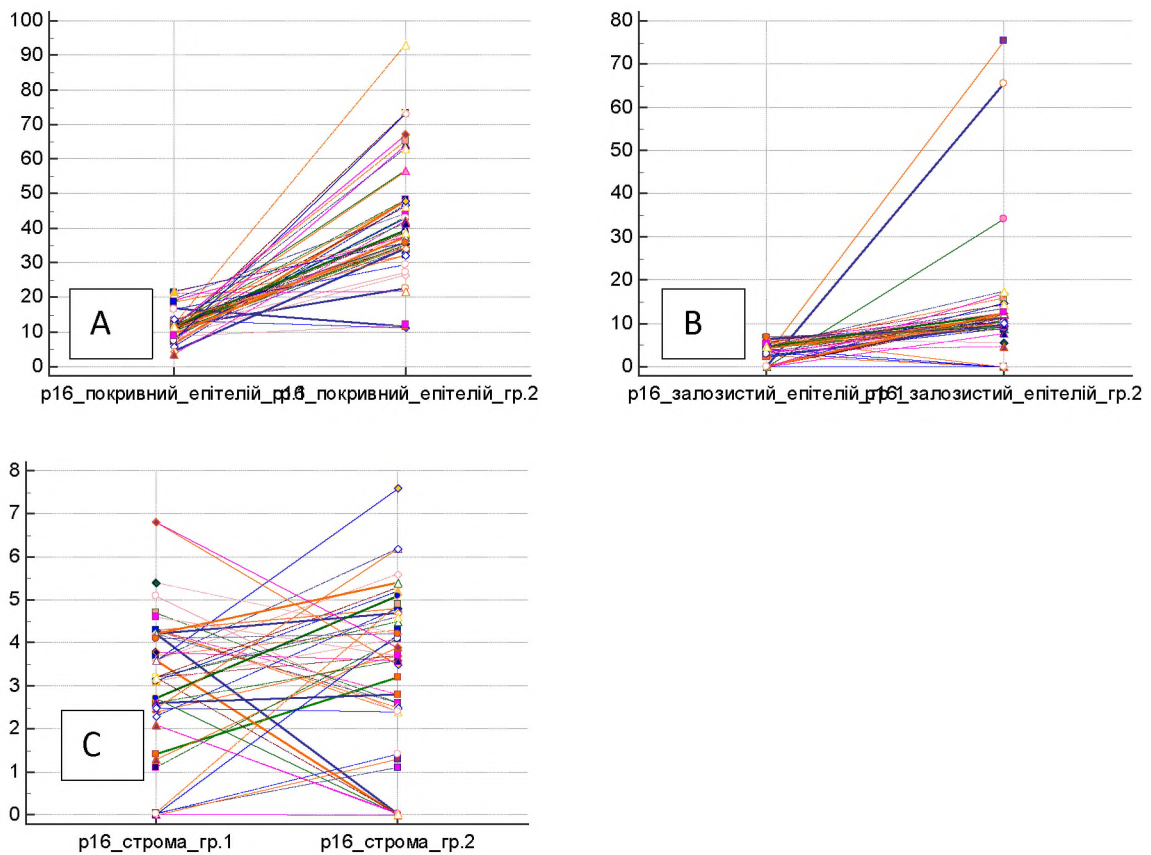


Рисунок 4.24. Точково-лінійна діаграма динаміки експресії p 16 в: **A** – в поверхневому епітелії; **B** – епітелії залоз; **C** – стромі ендометрію.

Також було цікаво дослідити критичний рівень ПХ-мітки маркера, за якого з вірогідністю 80% можна передбачити безпліддя у пацієнтки за даними оцінки Пайпель-біоптата. Для цього було використано ROC-криві з оцінкою площі AUC (рис. 4.25). Так, для залозистого епітелію критичний рівень ПХ-мітки p16 склав менше 6,8% (рис. 4.25 A), а для покривного епітелію – менше 21,8% (рис. 4.25 B). Оскільки достовірної різниці в експресії p16 в стромі ендометрію виявлено не було, критичний рівень ПХ-мітки p16 для стромі не обчислювався.

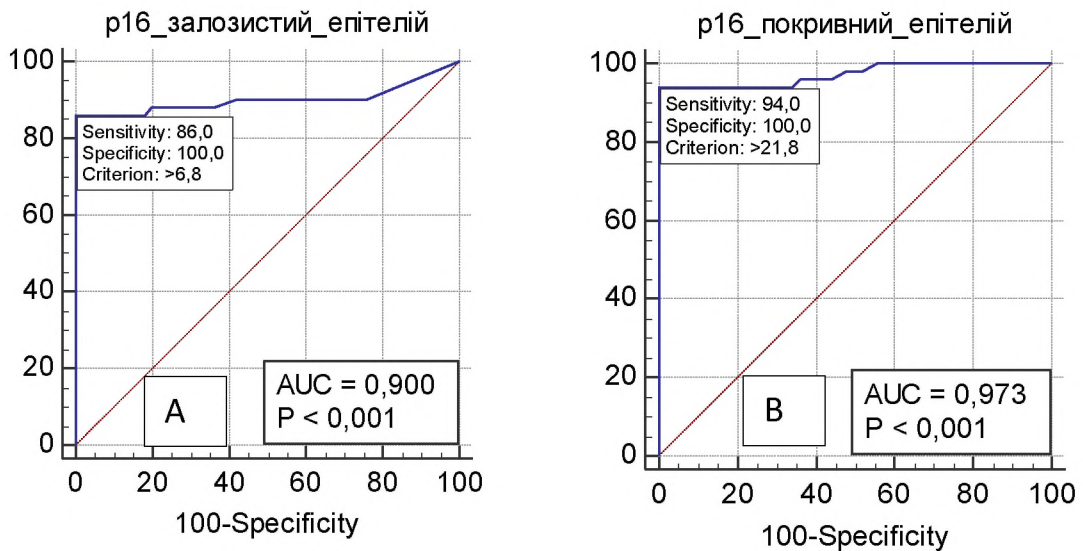


Рисунок 4.25. ROC-криві ІГХ-мітки p16 для залозистого (А) та покривного (В) епітелію.

Резюме

ІГХ-маркер p16 слід включити до ІГХ-панелі дослідження ендометрію при ХЕ, як такий, що допоможе спрогнозувати успішність настання вагітності після лікування ХЕ. З вірогідністю 80% можна констатувати успішність настання та виношування вагітності за критичного рівня $p16 > 6,8$ для залозистого епітелію та $>21,8\%$ – а для покривного епітелію.

Також достовірним є зростання експресії маркера у покривному епітелії ($T=-5,52$; $p<0,0001$) та епітелії залоз ($T=-5,16$; $p<0,0001$) в групі 2 в порівнянні з групою 1.

4.7 Оцінка динаміки експресії маркерів неоангіогенезу в ендометрії

Оцінка експресії регулятора ангіогенеза CD34 проводилася в стромі ендометрію. Інтенсивність експресії маркера була в групі 1 переважно помірною з фокусами «+++» експресії та вогнищами «+» експресії. У

групі 2 переважала «+++» експресія, але зустрічалися поля зору зі слабкою та помірною експресією маркера.

CD31 експресувався з високою або помірною інтенсивністю в обох групах.

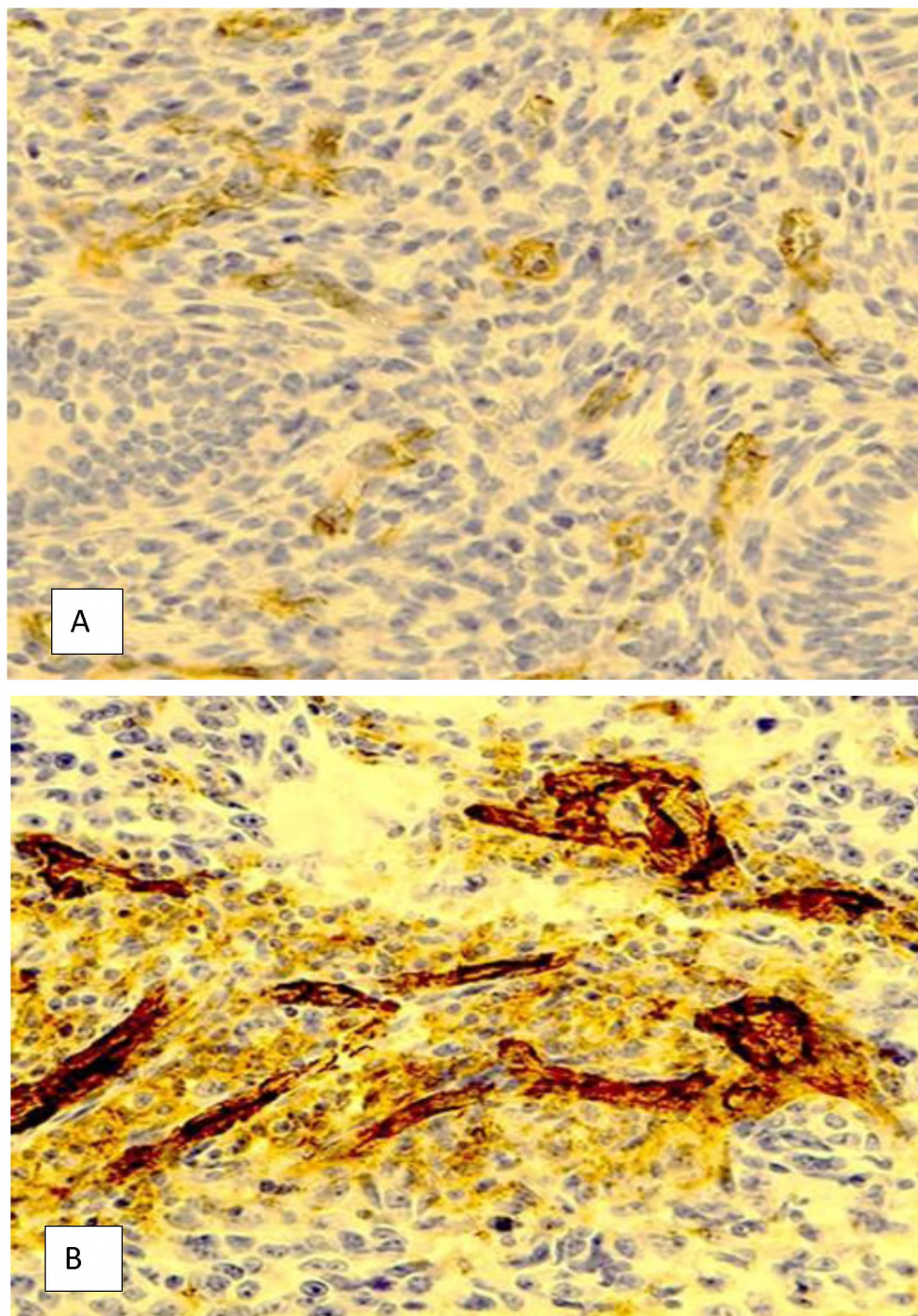


Рисунок 4.26. **A** – експресія CD31 в групі 1; **B** – експресія CD31 в групі 2.

VEGF в групі 1 експресувався з помірною інтенсивністю та поодинокими полями зору «+++» та «++» експресії. В групі 2 експресія VEGF була переважно інтенсивною. В таблиці 4.12 подані середні значення експресії маркерів CD34, CD31 та VEGF за формулою HS ($M \pm m$).

Таблиця 4.12

**Середнє значення експресії ІГХ-маркерів неангіогенезу в стромі
ендометрія**

	CD31 ($M \pm m$)	CD34 ($M \pm m$)	VEGF ($M \pm m$)
Група 1	38,58±5,74%	18,46±4,85%	208,41±11,64%
Група 2	40,26±4,51%	23,26±4,13%	228,98±12,23
Критерій Вілкоксона	T=-3,19; p=0,001	T=-5,32; p<0,0001	T=-4,95; p<0,0001

Оцінка ІМ CD31 показала, що після лікування рівень експресії маркера достовірно збільшився (T=-3,19; p=0,001), так само як і CD34 (T=-5,32; p<0,0001), і VEGF (T=-4,95; p<0,0001). Тенденцію до збільшення рівня ІГХ-мітки для всіх трьох маркерів продемонстровано на рис. 4.27.

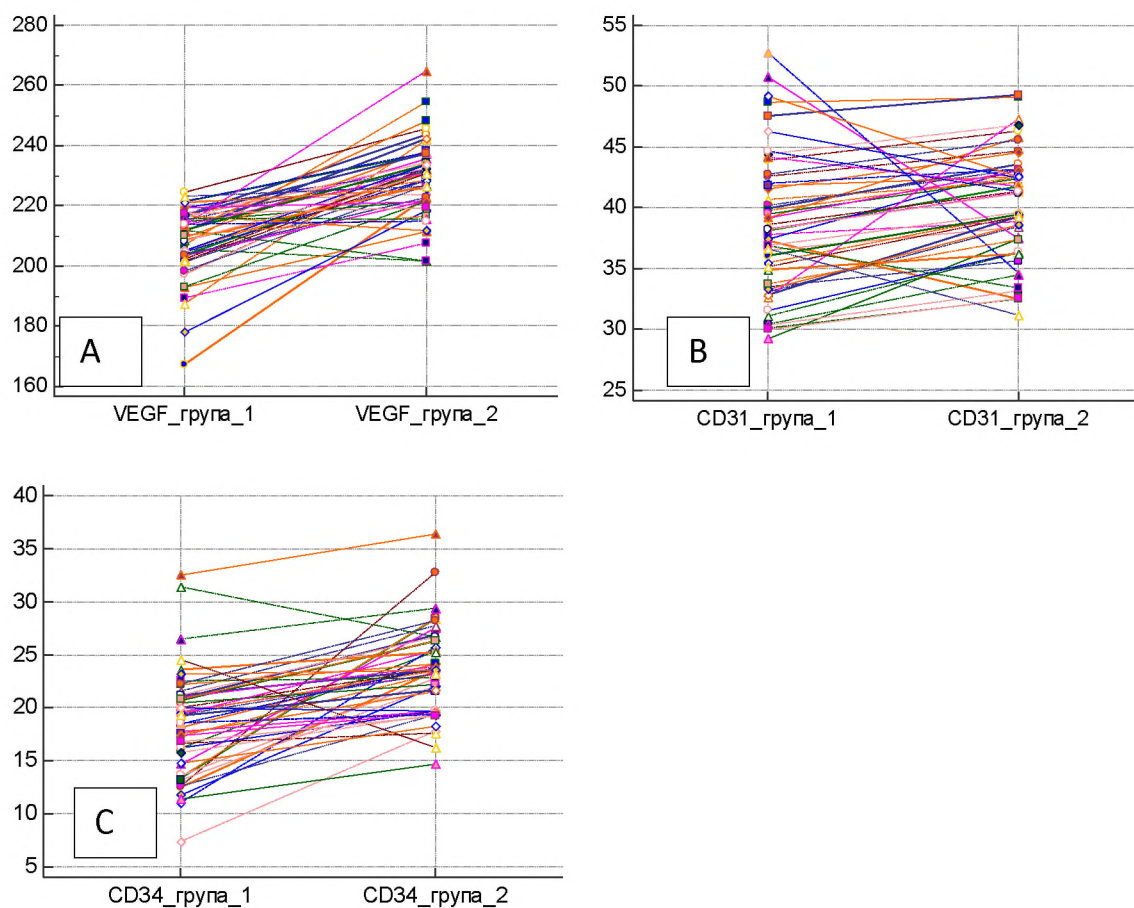


Рисунок 4.27. Точково-лінійна діаграма, що відображає динаміку зміни маркерів в процесі лікування ХЕ: **А** – експресія VEGF; **В** – експресія CD31; **С** – експресія CD34.

Прослідкувавши тенденцію до збільшення відносних показників експресії маркерів було цікаво перевірити, чи можна встановити граничний рівень, при якому з ймовірністю 80% можна казати про успішне лікування та настання вагітності з послідуочим народженням. Граничні рівні експресії маркерів вдалося встановити за методом аналізу кривих ROC для VEGF та CD34, для CD31 значення з заданим рівнем чутливості 80% було недостовірним ($p=0,07$) (рис. 4.28). Так, для VEGF констатувати позитивний ефект лікування можна при $IM > 221,4$ ($p < 0,001$), для CD34 $> 21,2$ ($p < 0,001$).

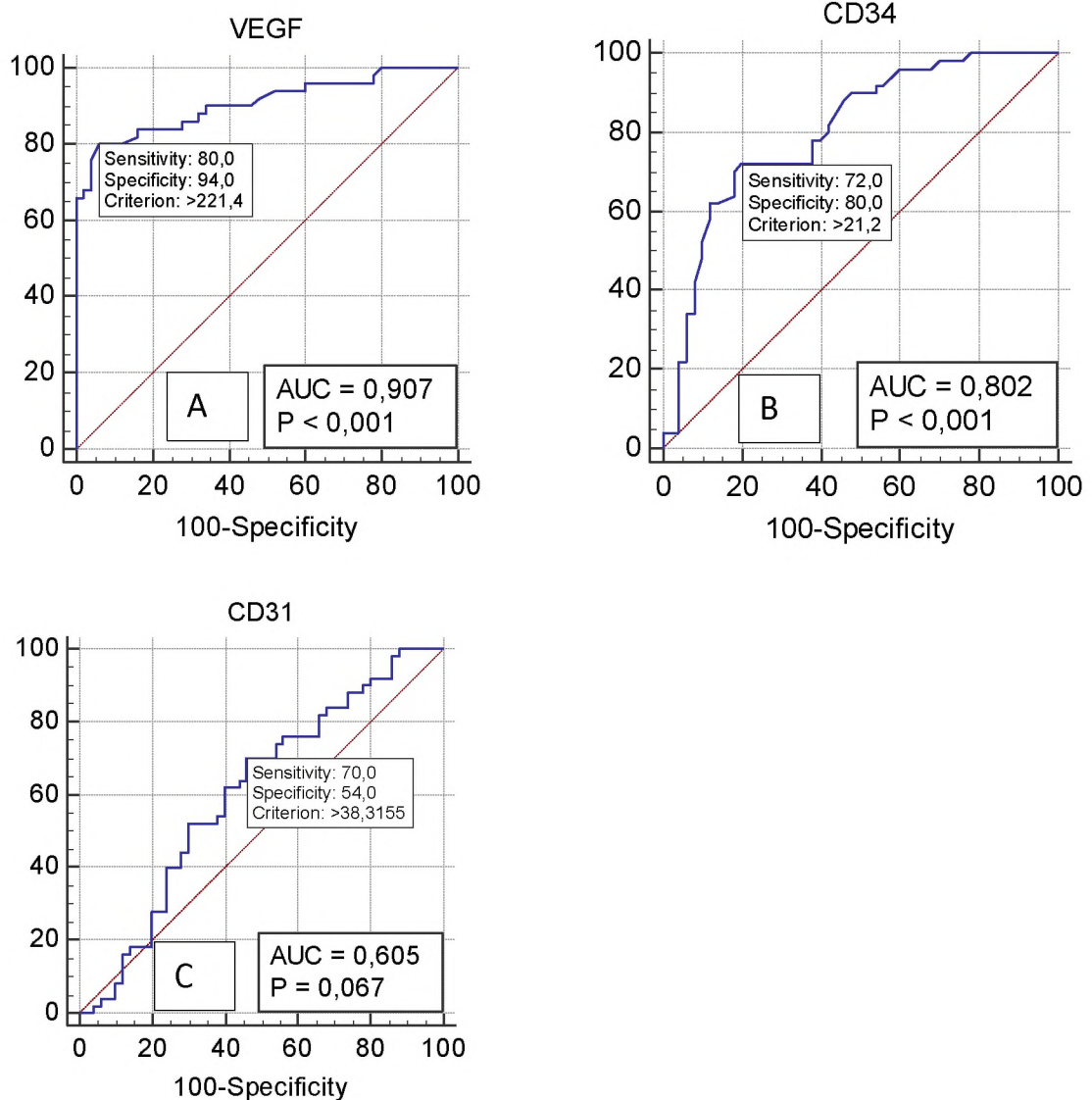


Рисунок 4.28. ROC-криві ІГХ-мітки: **A** – маркера VEGF; **B** – маркера CD34; **C** – маркера CD31.

Резюме

Аналіз маркерів неангіогенезу показав загальну виражену тенденцію всіх маркерів до зростання ІМ в випадках після лікування. Однак, зважаючи на доцільність включення в діагностичну панель усіх трьох маркерів слід пропонувати лише маркери VEGF та CD34, оскільки для них ми можемо запропонувати прогностичні рівні, а не тільки помітити тенденцію до зростання ІМ. Так, при рівні VEGF > 221,4 та при рівні CD34 > 21,2 з ймовірністю 80% можна прогнозувати настання успішної вагітності.

4.8 Імунний профіль ендометрію та динаміка експресії маркерів імуніцитів при терапії ХЕ

В дослідженні проаналізовано експресію маркерів CD3, CD4, CD8, CD20, CD56 та CD68 в стромі та епітелії залоз ендометрію.

Першим досліджуваним маркером був CD3. В групі 1 та групі 2 CD3⁺-клітини демонстрували інтенсивне та помірно інтенсивне забарвлення у всіх випадках (рис. 4.29 А та В).

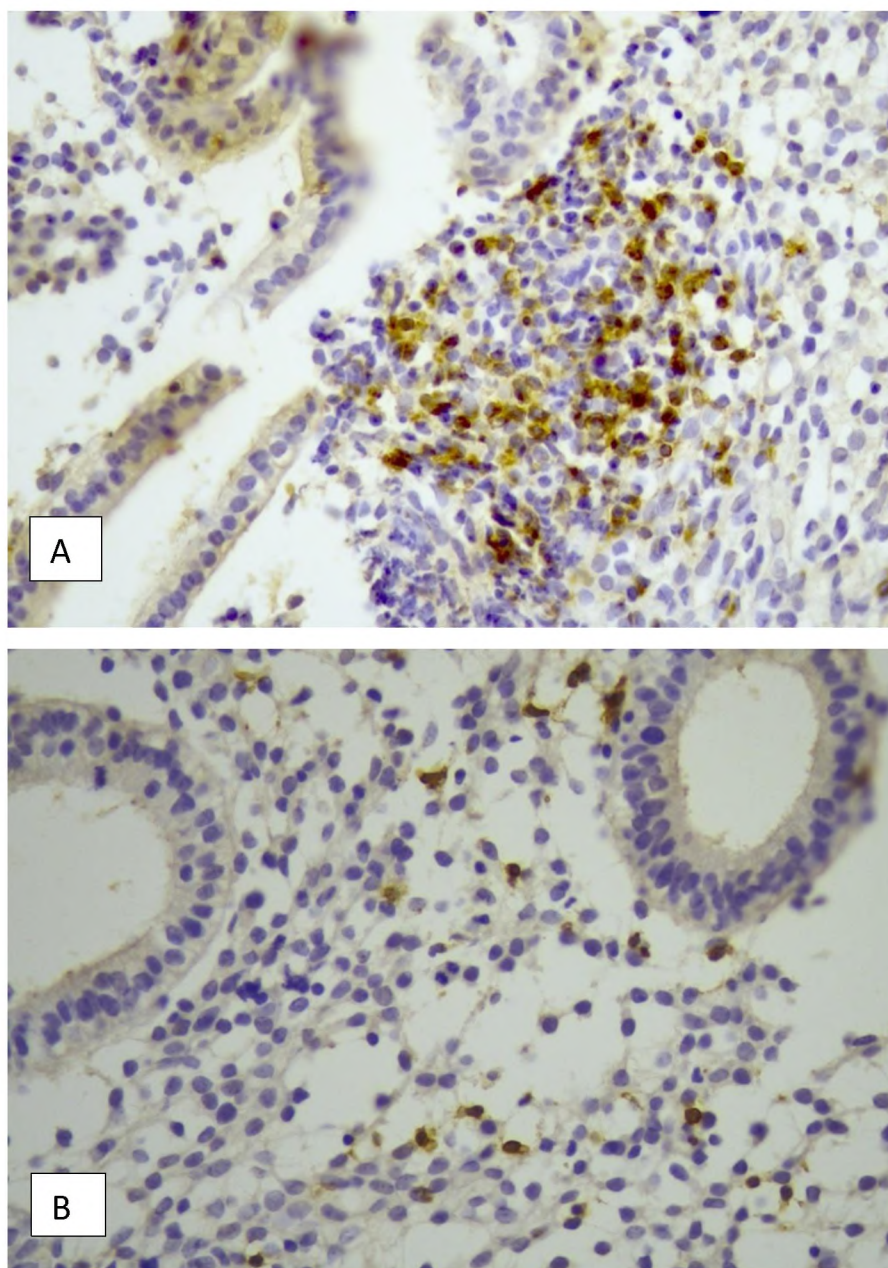


Рисунок 4.29. Експресія CD3 до лікування (А) та після проведеної терапії (В).

Середнє значення експресії CD3 в стромі в групі 1 склало $79,09 \pm 9,89$ проти $22,92 \pm 5,69$ в групі 2 (табл. 4.13). Відмічається достовірне зниження відносних значень стромальної експресії маркера в групі 2 ($T= 6,15$; $p < 0,0001$). В епітелії залоз середнє значення експресії CD3 в групі 1 склало $40,05 \pm 5,01$ проти $12,03 \pm 4,17$ в групі 2 (табл. 4.14). Так само, як і для строми, для залозистого компонента відмічається достовірне зниження відносних показників експресії маркера ($T= 6,15$; $p < 0,0001$).

Таблиця 4.13

Середнє значення експресії ІГХ-маркерів імунного профілю в стромі ендометрію

	CD3 (M±m)	CD4 (M±m)	CD8 (M±m)	CD20 (M±m)	CD56 (M±m)	CD68 (M±m)
Група 1	79,09±9,89	32,51±2,55	24,75±2,73	21,03±4,45	77,29±1,76	11,61±2,57
Група 2	22,92±5,69	43,59±4,05	16,94±1,75	6,45±4,38	43,73±3,09	8,86±1,34
Критерій Вілкоксона	T= 6,15; p<0,0001	T= -5,99; p<0,0001	T= 5,91; p<0,0001	T= 6,25; p<0,0001	T= 6,15; p<0,0001	T= 4,26; p<0,0001

Таблиця 4.14

Середнє значення експресії ІГХ-маркерів імунного профілю в залозах ендометрію

	CD3 (M±m)	CD4 (M±m)	CD8 (M±m)	CD20 (M±m)	CD56 (M±m)	CD68 (M±m)
Група 1	40,05±5,01	8,42±1,19	7,64±1,51	8,69±3,06	25,63±1,05	8,03±1,59
Група 2	12,03±4,17	12,01±2,3	4,58±0,96	4,79±3,52	11,94±1,93	4,56±1,28
Критерій Вілкоксона	T= 6,15; p<0,0001	T= -5,55; p<0,0001	T= 5,45; p<0,0001	T= 4,20; p<0,0001	T= 6,15; p<0,0001	T= 5,61; p<0,0001

Цікавою була можливість визначення критичних показників експресії CD3 у стромі та епітелії залоз для прогнозування успішності настання вагітності та констатації ефективності терапії. Методом аналізу ROC-кривих виявлено, що при показниках $CD3 \leq 34,96$ в стромі (рис. 4.30 А) та $CD3 \leq 21,04$ (рис. 4.30 В) з ймовірністю 80% можна свідчити про можливість вдалої вагітності з народженням дитини.

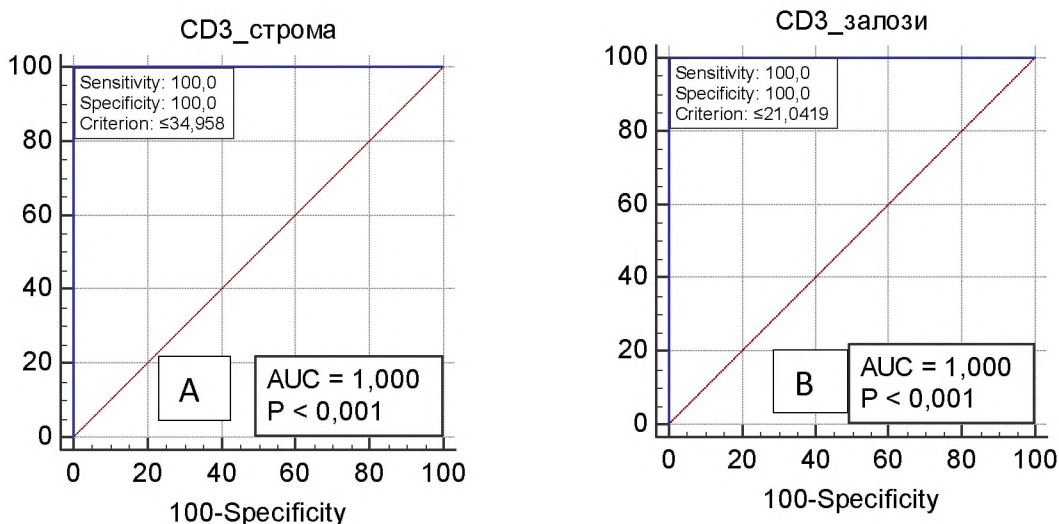


Рисунок 4.30. ROC-криві ІГХ-мітки CD3 у: **А** – стромі ендометрію; **В** – епітелії залоз.

Наступний досліджуваний нами маркер – CD4. Інтенсивність експресії CD4 варіювалась від + до +++ в групі 1 та була переважно ++ в групі 2. У групі 1 середній рівень експресії у стромі становив $32,51 \pm 2,55$ із достовірним збільшенням значень у групі 2 ($T = -5,99$; $p < 0,0001$) та середнім рівнем ІМ $43,59 \pm 4,05$. Середні значення експресії CD4 подано в таблиці 4.13 для стромі та 4.14 – для залоз ендометрію. В епітелії залоз середнє значення експресії CD4 в групі 1 склало $8,42 \pm 1,19$ із достовірним зростанням ($T = -5,55$; $p < 0,0001$) значень ІМ в групі 2 та середнім значенням експресії маркера $12,01 \pm 2,3$.

Як і для попереднього маркера, для CD4 було вираховано критичний рівень ІМ маркера (рис.4.31).

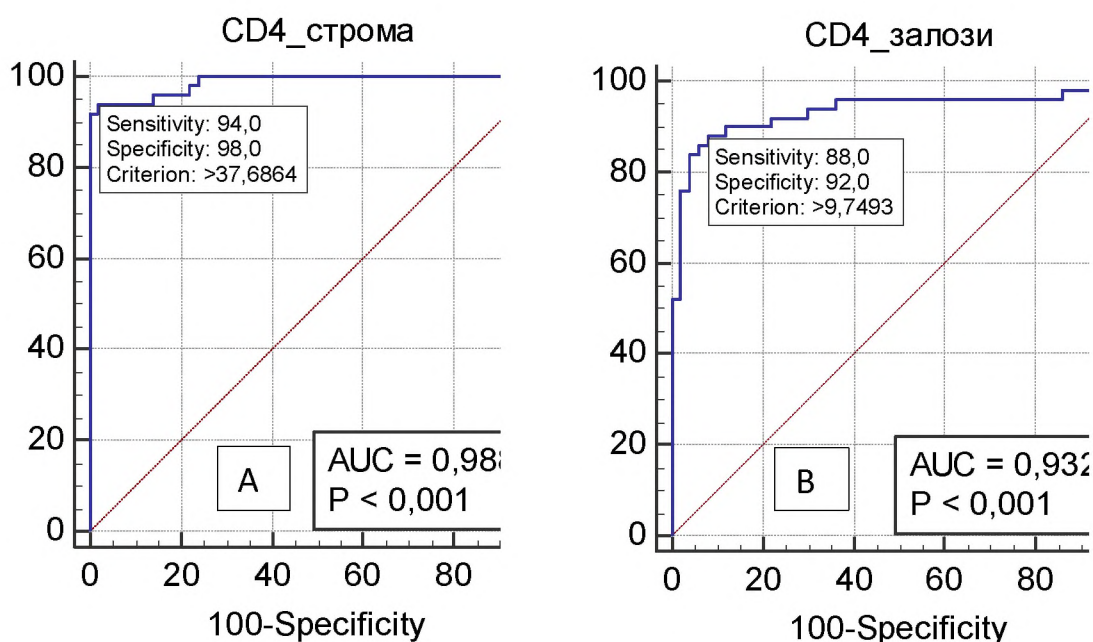


Рисунок 4.31. ROC-криві ІГХ-мітки CD4 у: **A** – стромі ендометрію; **B** – епітелії залоз.

Для стромі ендометрію критичний рівень експресії склав $CD4 > 37,69$, для залоз – $CD4 > 9,75$. З вірогідністю 80% за таких рівнів можна казати про успішність лікування.

Маркер CD8 експресувався на рівні ++ в обох досліджуваних групах з поодинокую слабкою експресією в окремих клітинах. Середнє значення експресії маркера Т-супресорів склало $24,75 \pm 2,73$ в групі 1 з достовірним зниженням значень ІМ в групі 2 ($T = 5,91$; $p < 0,0001$) та відносним середнім значенням $16,94 \pm 1,75$. Відносне середнє значення ІМ в стромі ендометрію в групі 1 склало $24,75 \pm 2,73$ проти $16,94 \pm 1,75$ в групі 2. Середній рівень ІМ в епітелії залоз склав $7,64 \pm 1,51$ в групі 1 та $4,58 \pm 0,96$ в групі 2. Спостерігалось достовірне зниження відносного значення ІМ в епітелії залоз ($T = 5,45$; $p < 0,0001$).

Також були обчислені критичні значення ІМ для CD8. Достовірного рівня CD8 для стромі ендометрію не виявлено (рис. 4.32 A), а для епітелію залоз з вірогідністю 80% вагітність настане та закінчиться народженням дитини при рівні експресії $CD8 \leq 5,95$ (рис. 4.32 B).

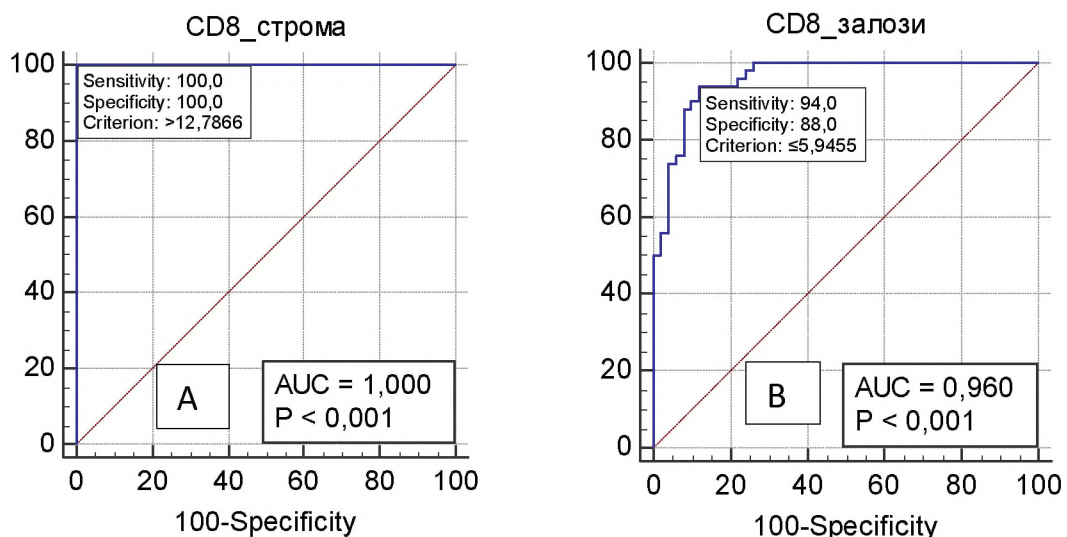


Рисунок 4.32. ROC-криві ІГХ-мітки CD8 у: **A** – стромі ендометрію; **B** – епітелії залоз.

Інтенсивність ІГХ-мітки CD20 була помірною в обох досліджуваних групах. Відносні значення експресії маркера подані в таблицях 4.13 та 4.14. Спостерігалось достовірне виражене зниження значень ІМ CD20 як в стромі ($T = 6,25$; $p < 0,0001$), так і в епітелії залоз ($T = 4,20$; $p < 0,0001$).

Аналіз ROC-кривих дозволив обчислити критичні значення експресії маркера CD20 з вірогідністю настання та виношування вагітності 80% (рис. 4.33 A та B). Так, для залозистого компоненту ІМ $CD20 \leq 5,46$, для стромы ІМ $CD20 \leq 12,61$.

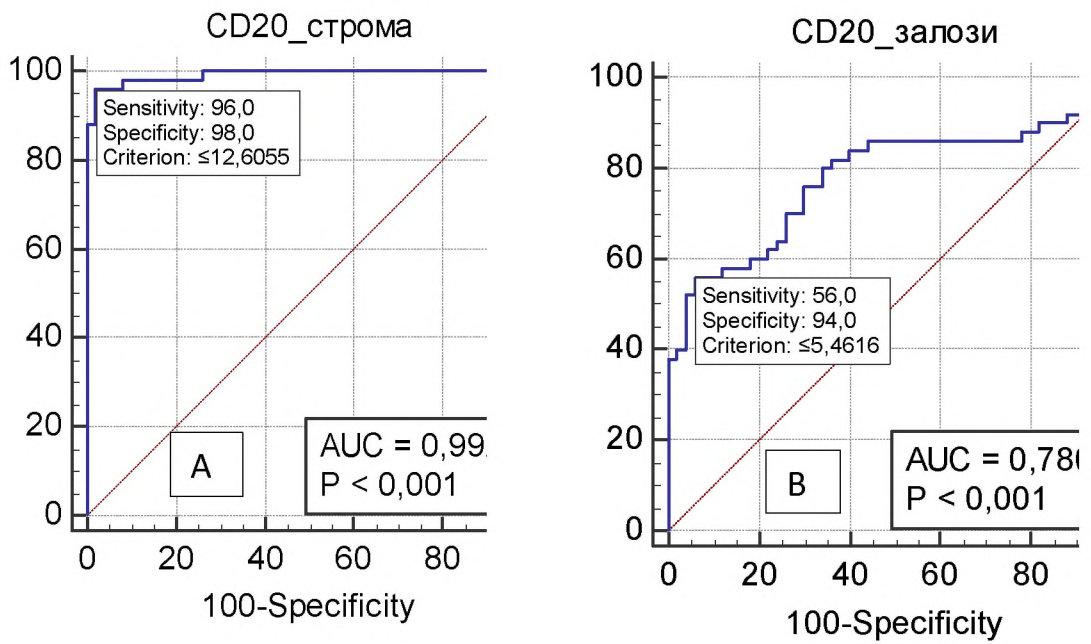


Рисунок 4.33. ROC-криві ІГХ-мітки CD20 у: **A** – стромі ендометрію; **B** – епітелії залоз.

Експресія маркера CD56 варіювала від помірної до інтенсивної в групі 1 (рис. 4.34).

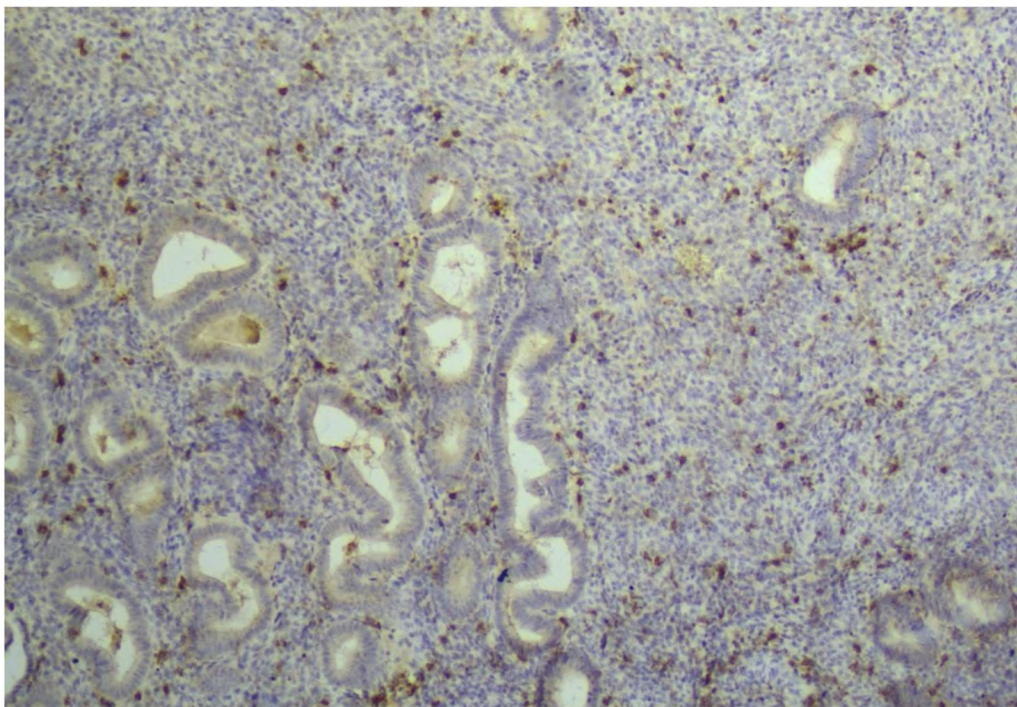


Рисунок 4.34. Експресія CD56 в групі 1.

В стромі ендометрію середнє значення ІМ в групі 1 склало $77,29 \pm 1,76$, в групі 2 – $43,73 \pm 3,09$ із достовірним зниженням значення ІМ у групі 2 ($T= 6,15$; $p < 0,0001$). В залозистому епітелії середнє значення ІМ склало $25,63 \pm 1,05$ в групі 1 та $11,94 \pm 1,93$ в групі 2. Також спостерігалось достовірне зниження показників експресії маркера в групі 2 ($T= 6,15$; $p < 0,0001$).

Обчислення площі під кривою ROC (рис. 4.35) виявило, що позитивний результат лікування з вірогідністю 80% буде при середньому значенні ІМ $CD56 \leq 50,06$ в стромі та $CD56 \leq 16,52$ в залозистому епітелії ендометрія.

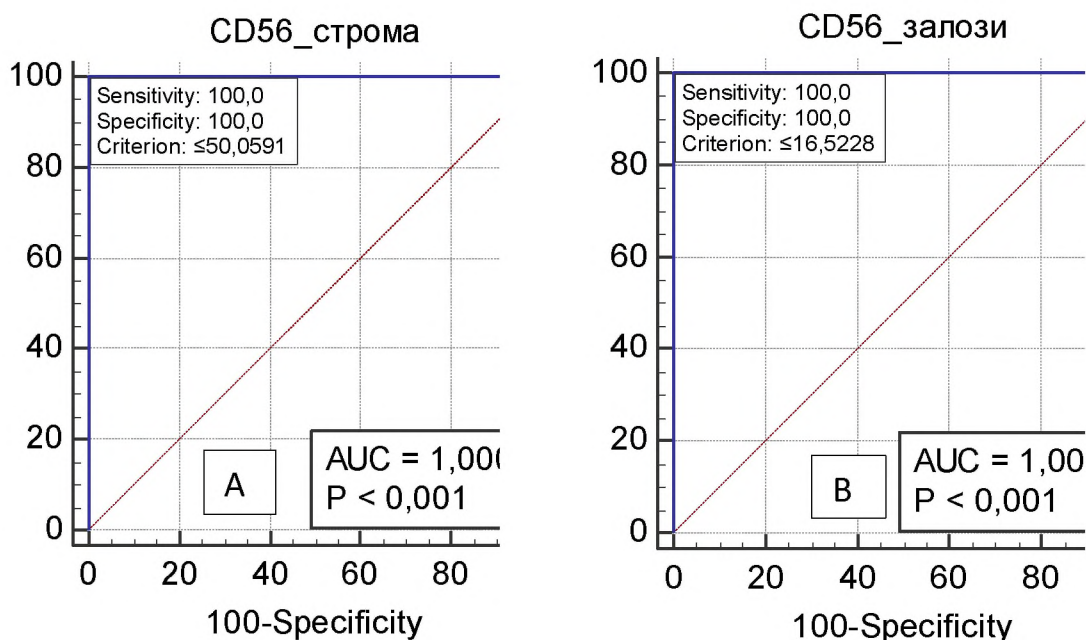


Рисунок 4.35. ROC-криві ІГХ-мітки CD56 у: **A** – стромі ендометрію; **B** – епітелії залоз.

Макрофагальну інфільтрацію оцінювали за допомогою експресії CD68. Всі випадки демонстрували слабку або помірну експресію як в групі 1 (рис. 4.36), так і в групі 2.

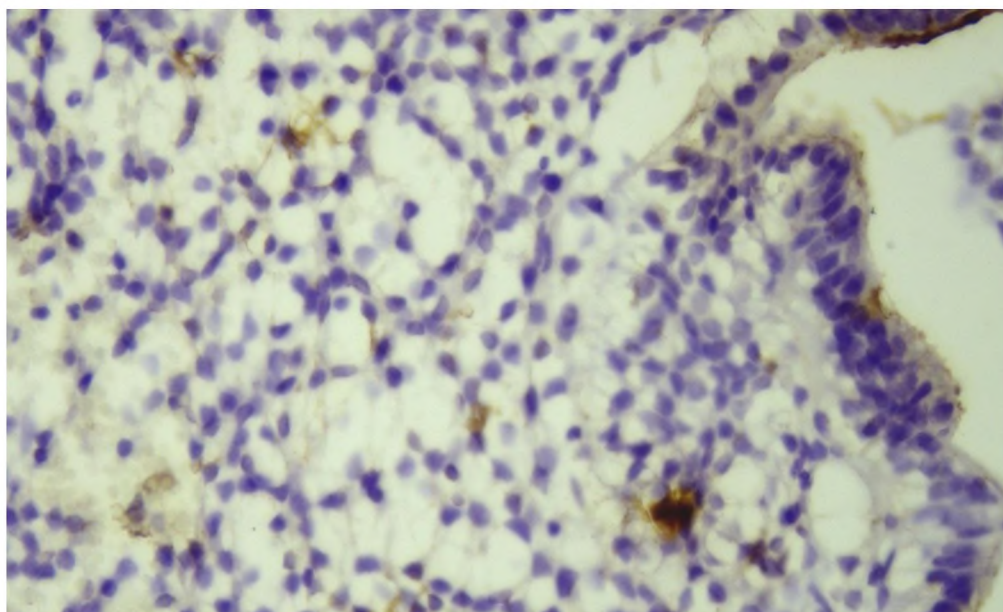


Рисунок 4.36. Помірна та слабка експресія CD68 в стромі та залозах ендометрію в групі 1.

Середнє значення ІМ в стромі в групі 1 склало $11,61 \pm 2,57$ проти $8,86 \pm 1,34$ в групі 2. Спостерігалось достовірне зниження відносного значення ІМ CD68 в стромі ($T= 4,26$; $p < 0,0001$). В залозистому епітелії середнє значення ІМ в групі 1 склало $8,03 \pm 1,59$ проти $4,56 \pm 1,28$ в групі 2. Як і в стромі, спостерігалось достовірне зниження значень ІМ в групі 2 ($T= 5,61$; $p < 0,0001$).

За допомогою аналізу ROC-кривих були знайдені критичні значення експресії CD68, при яких можна казати про успішність лікування. З ймовірністю 80% вагітність з наступним народженням дитини настане при ІМ $CD68 \leq 9,86$ в стромі ендометрію (рис. 4.37 А) та $CD68 \leq 5,99$ в епітелії залоз (рис. 4.37 В).

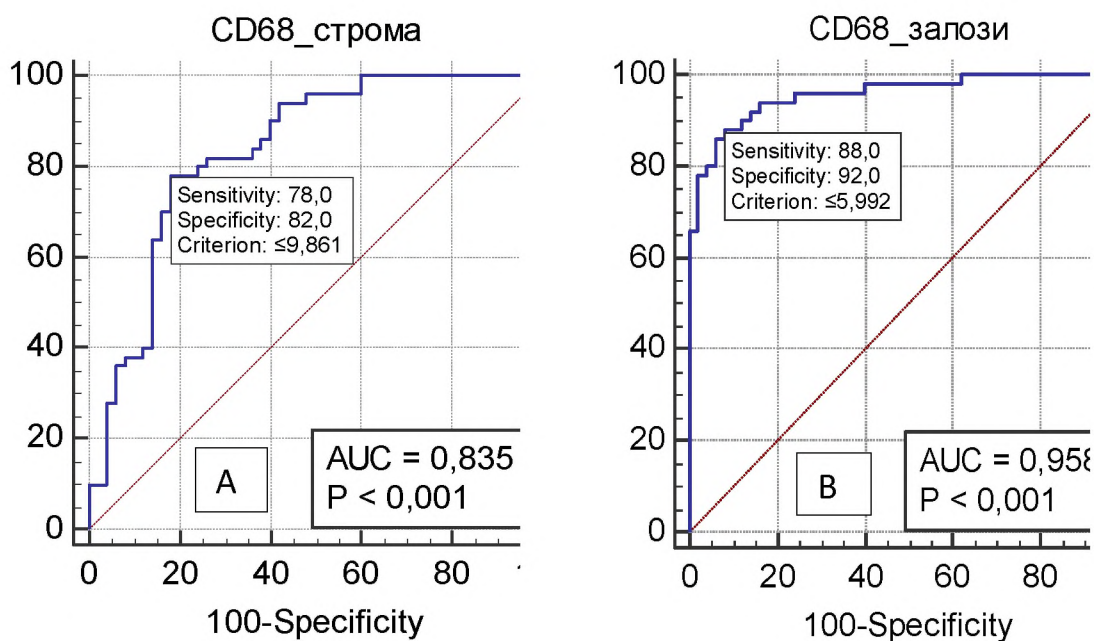


Рисунок 4.37. ROC-криві ІГХ-мітки CD68 у: **A** – стромі ендометрію; **B** – епітелії залоз.

Резюме

Аналіз імунного профілю ендометрія показав, що після проведеного лікування знижуються середні значення ІМ маркерів CD3 у стромі (T= 6,15; p<0,0001) та епітелії залоз (T= 6,15; p<0,0001), CD8 у стромі (T= 5,91; p<0,0001) та в епітелії залоз (T= 5,45; p<0,0001), CD20 у стромальному (T= 6,25; p<0,0001) та в епітеліальному компоненті ендометрію (T= 4,20; p<0,0001), CD56 у стромі (T= 6,15; p<0,0001) та епітелії залоз (T= 6,15; p<0,0001), CD68 в стромі (T= 4,26; p<0,0001) та залозистому епітелії (T= 5,61; p<0,0001). Водночас, помічене зростання ІМ після проведеної терапії групи Т-хелперів CD4 у стромі (T= -5,99; p<0,0001) та епітелії залоз (T= -5,55; p<0,0001).

Вдалося також встановити граничні значення, за яких з ймовірністю 80% можна говорити про ефективність лікування та можливість настання вагітності з послідуячим народженням дитини. Цей показник становив: для CD3 у стромі $\leq 34,96$ та в епітелії залоз $\leq 21,04$; для CD4 у стромі $> 37,69$, для залоз $> 9,75$. Достовірний рівень CD8 вдалося встановити

тільки для епітелію залоз $CD8 \leq 5,95$. Для $CD20$ критичне значення для залоз склало $\leq 5,46$ та для стромі $CD20 \leq 12,61$, Критичний рівень ІМ в стромі для $CD56$ склав $\leq 50,06$ і $\leq 16,52$ в залозистому епітелії ендометрія, а для $CD68$ ІМ склав $\leq 9,86$ в стромі ендометрію та $\leq 5,99$ в епітелії залоз.

4.9. Оцінка експресії CD44 в ендометрії

Аналіз експресії $CD44$ в ендометрії виявив, що для групи 1 була характерна помірна експресія маркера з вогнищами гіперекспресії $+++$, що показано на рисунку 4.38 А. 38 (76%) випадків були позитивними щодо експресії $CD44$. Інтенсивне фарбування спостерігалось в стромі ендометрію, в той час як епітелій залоз мав експресію $+$ або $++$. Експресія добре диференціювалася в стовбчастому епітелії залоз, в той час як в базальному шарі подекуди було важко диференціювати її з фарбуванням стромальних клітин.

В групі 2 в 44 (88%) випадків, що були позитивними за експресією маркера, спостерігалось інтенсивне фарбування стромі ендометрію та слабке або помірне у епітелії залоз (рис.4.38 В. Не спостерігалось полів гіперекспресії, як в групі 1, фарбування розподілялося рівномірно по всіх зразках та полях зору.

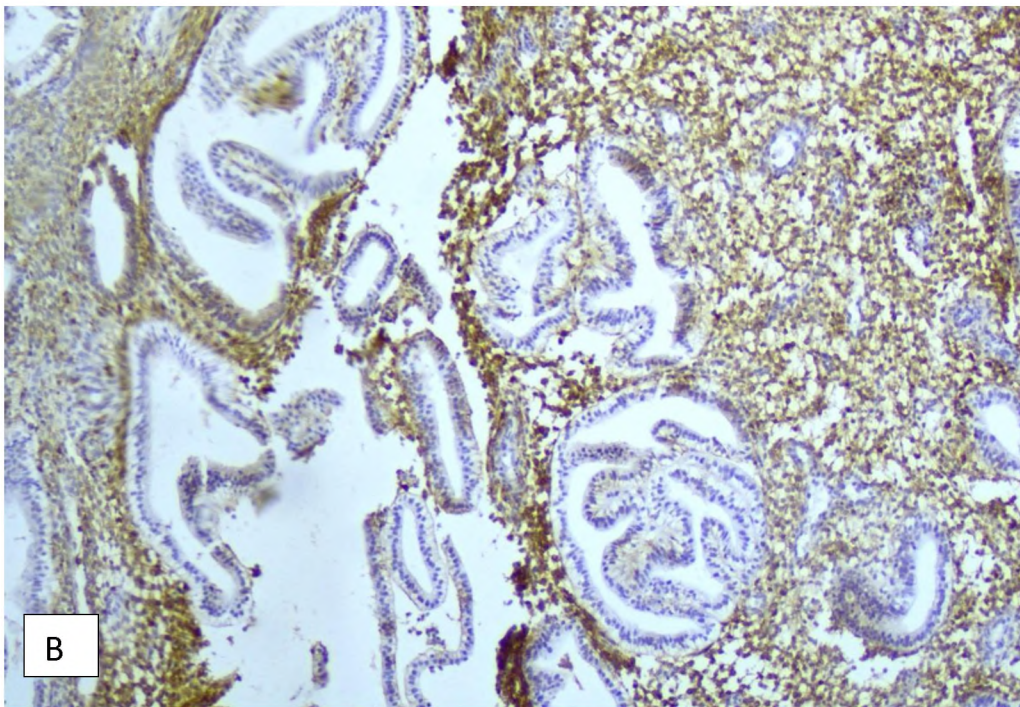
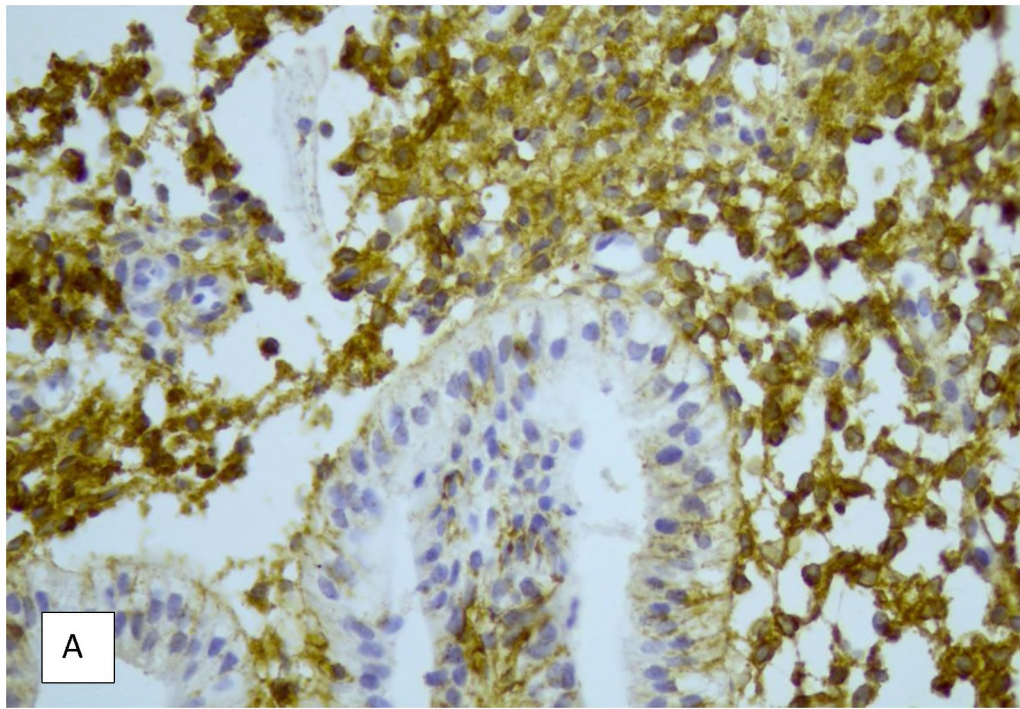


Рисунок 4.38. **А** – вогнищева гіперекспресія CD44 в групі 1 (зб.×400); **В** – помірна та виражена експресія CD44 в групі 2 (зб.×200).

Середній рівень ІМ в групі 1 склав $38,95 \pm 6,73$ із суттєвим підвищенням середнього значення ІМ в групі 2 до $76,46 \pm 1,9$. Спостерігалось достовірне зростання рівня експресії CD44 в групі 2 ($T=6,15$; $p < 0,001$).

За допомогою аналізу ROC-кривих було знайдено критичний рівень ІМ CD44. З чутливістю та специфічністю 100% вагітність буде успішною за рівня $CD44 > 54,75$ (рис. 4.39).

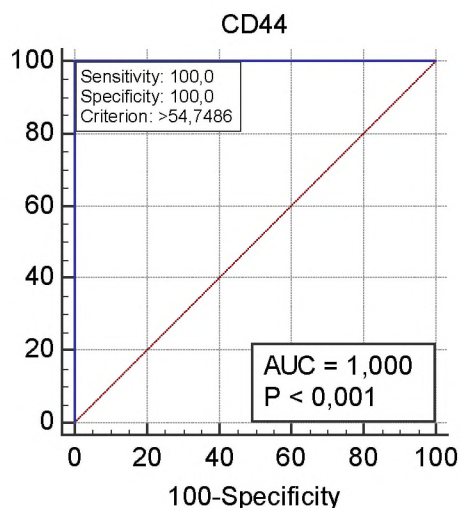


Рисунок 4.39. ROC-крива ІГХ-мітки CD44.

Резюме

Оцінка динаміки експресії маркера CD44 виявила достовірне збільшення відносних середніх показників експресії в групі 2 ($T=-6,15$; $p < 0,001$). Також знайдено критичний рівень ІМ CD44, що склав $>54,75$.

4.10 Резюме

Порівняльний аналіз імуногістохімічних особливостей ендометрію при хронічному ендометриті до та після проведеного лікування дозволив встановити критичні діагностичні рівні експресії або інтервали експресії маркерів, за яких можна констатувати ефективність проведеної терапії з прогнозуванням настання успішної вагітності з вірогідністю 80%.

Визначення експресії Синдекану-1 в ендометрії показало достовірне зниження ІМ в групі 2 ($p < 0,0001$), критичний рівень експресії CD138 склав $\leq 2,4$ клітини.

Аналіз проліферативної активності показав, що в стромі ендометрію характерна тенденція до зникнення експресії Ki-67 або зниження рівня експресії до рівня 1 балу в групі 2 ($p=0,003$) із зниженням відносних середніх показників стромальної експресії в групі 2 ($p<0,0001$). Оцінюючи експресію Ki-67 в залозистому епітелії, було виявлено тенденцію до експресії Ki-67 на рівні 0-1 бал в групі 2 ($p=0,01$) із достовірним зниженням відносних середніх показників ІМ в групі 2 ($p<0,0001$).

Оцінка рецептивності ендометрію з застосуванням маркера ER не дала достовірних відмінностей в рівні експресії маркера у стромі ендометрія між двома групами. Для групи 1 та групи 2 характерний рівень стромальної експресії склав 51-100%, проте помічено зростання кількості випадків помірної експресії (11-50%) у групі 2 ($p<0,0001$). В епітелії характерний рівень експресії маркера склав 50% в обох групах дослідження без достовірних відмінностей ($p=0,42$). В цілому в групі 2 помічено схильність до зниження відносних значень ІМ ER як у стромі ($p<0,0001$), так і в епітелії ($p<0,0001$). Маркер рецепторів до прогестерону PR мав достовірні відмінності в експресії в епітеліальному компоненті ендометрія: в групі 2 характерний рівень становив 0-50% ($p<0,0001$), проте для строми граничного характерного значення не виявлено ($p=0,77$).

Апоптотична спроможність ендометрію оцінювалася за допомогою маркерів Bcl-2 та p53. В групі 2 характерний рівень експресії Bcl-2 становить 0-49% ($p<0,0001$) в епітелії із зниженням відносних значень експресії маркера в групі пацієток після лікування ($p<0,0001$). В групі 2 мала місце тенденція до експресії p53 на рівні $<10\%$ ($p<0,0001$) із достовірним збільшенням відносного значення ІМ ($p<0,0001$). Кореляційний аналіз виявив в групі 1 сильний зворотній зв'язок між експресією p53 та Bcl-2 ($p<0,001$) та в групі 2 – прямий сильний зв'язок

($p < 0,001$). Аналіз коекспресії Vcl-2 та Ki-67 показав прямий сильний кореляційний зв'язок в групі 2 ($p = 0,005$).

Також в дослідженні було проаналізовано феномен ЕМТ. Виявлено, що для групи 2 характерним є рівень E-kadherin 51-100% ($p = 0,02$) з тенденцією до зростання відносного показника експресії в порівнянні з вихідним рівнем ($p < 0,001$). Vimentin в групі 2 мав тенденцію до експресії на рівні $< 10\%$ ($p < 0,0001$) із достовірним зниженням ІМ в групі 2 ($p < 0,001$). В групі 1 виявлено зворотній кореляційний зв'язок між епітеліальним фенотипом та вираженістю інфільтрації CD138+ клітинами ($p = 0,01$).

Для ІГХ-маркера p16 встановлено критичні рівні експресії $> 6,8$ для залозистого епітелію та $> 21,8$ – для покривного епітелію. Виявлено достовірне зростання експресії маркера у покривному епітелії ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$) в групі 2.

Аналіз маркерів неангіогенезу показав загальну виражену тенденцію CD31 ($p = 0,001$), CD34 ($p < 0,0001$) та VEGF ($p < 0,0001$) до зростання відносних середніх значень ІМ в групі 2. Однак ми вважаємо доцільним пропонування для прогностичної панелі лише маркерів VEGF та CD34, оскільки для них ми можемо розрахувати критичні значення. Для ІГХ-маркера VEGF такий рівень становить $> 221,4$ ($p < 0,001$), а для CD34 складає $> 21,2$.

Оцінка імунного профілю ендометрія виявилася найоб'ємнішою. Виявлено, що в групі 2 майже для всіх маркерів характерна тенденція до зниження середніх значень ІМ. Зокрема, така тенденція знайдена для маркерів CD3 у стромі ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$), CD8 у стромі ($p < 0,0001$) та в епітелії залоз ($p < 0,0001$), CD20 у стромальному ($p < 0,0001$) та в залозистому епітелії ($p < 0,0001$), CD56 у стромі ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$), CD68 в стромі ($p < 0,0001$) та залозистому

епітелії ($p < 0,0001$). Лише для CD4 помічене зростання ІМ в групі 2 у стромі ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$). Як і для інших маркерів, встановлено критичні рівні експресії. Вони склали: для CD3 у стромі $\leq 34,96$ та в епітелії залоз $\leq 21,04$; для CD4 у стромі $> 37,69$, для залоз $> 9,75$. Достовірний рівень CD8 вдалося встановити тільки для епітелію залоз $CD8 \leq 5,95$. Для CD20 критичне значення для залоз склало $\leq 5,46$ та для стромі $CD20 \leq 12,61$, Критичний рівень ІМ в стромі для CD56 склав $\leq 50,06$ і $\leq 16,52$ в залозах, а для CD68 ІМ склав $\leq 9,86$ в стромі ендометрію $\leq 5,99$ в епітелії залоз.

Аналіз експресії маркера стовбурових клітин CD44 показав достовірне збільшення відносних середніх значень ІМ в групі 2 ($p < 0,001$) та дозволив визначити критичний рівень ІМ CD44, що склав $> 54,75$.

Матеріали з даного розділу висвітлені в публікаціях здобувачки [1, 2, 5, 6, 7, 8].

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Однією із важливих медико-соціальних проблем сьогодні є безплідний шлюб. Допоміжні репродуктивні технології є золотим стандартом лікування різних форм безпліддя, однак досить часто вони виявляються неефективними через наявність запальних захворювань органів малого тазу. Хронічний ендометрит є одним із ключових факторів, що призводить до репродуктивних невдач та діагностується в 40% випадків пацієток з безпліддям [62]. Приблизно в 72% випадків в біоптатах ендометрію верифікують ХЕ, що є наслідком перенесених раніше захворювань, що передаються статевим шляхом та у 12-68% випадків трубно-перитонеального безпліддя. Більша частина випадків ХЕ припадає саме на молодий вік, 21-45 років, коли і має реалізуватися репродуктивний потенціал жінки [62, 217, 218].

На даний час не існує чітких критеріїв діагностичного алгоритму ХЕ та програми відновлення репродуктивної функції у жінок з даним захворюванням [63, 218]. Більшість випадків ХЕ має безсимптомний перебіг [16]. Літературні дані про патогенез хронічного ендометриту та процес розвитку хронічного запального процесу носять фрагментарний характер. Всі фактори, що перераховані вище, говорять про відсутність уніфікованого протоколу діагностики хронічного ендометриту та ведення таких пацієток.

Беручи до уваги все вищеперераховане, окреслюється актуальність мети даної роботи: оптимізувати діагностичний алгоритм ХЕ на основі комплексного клініко-морфологічного та ІГХ дослідження.

Для досягнення поставленої мети на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини ХНМУ в рамках в рамках НДР кафедри перинатології, акушерства та гінекології ХМАПО: “Вивчення дії патогенетичних факторів ушкодження репродуктивної системи жінок на

структуру перинатальних втрат і гінекологічну захворюваність і розробка нових терапевтичних заходів, спрямованих на збереження здоров'я нації” (№ державної реєстрації 0111U002865) та НДР кафедри акушерства та гінекології №3 ХНМУ «Створення системи прогнозування, профілактики та лікування ускладнень вагітності, пологів і післяпологового періоду в жінок, які зазнали впливу стресу внаслідок військових дій» (№ державної реєстрації 0123U104315) було виконано дослідження із використанням патогістологічних заключень та парафінових блоків 50 пацієнток, що звернулися до гістологічної та імуногістохімічної лабораторії «Prime Test».

Було сформовано 2 групи дослідження: основна група (група 1) – 50 жінок до проведеного лікування хронічного ендометриту, група контролю (група 2)– 50 пацієнток після проведеної терапії з успішним настанням вагітності та наступними пологами. Критеріями включення до основної групи стали: жінки віком від 18 років, які мали в анамнезі невиношування вагітності, самовільне переривання вагітності; повнота анамнестичних даних, наявність мікропрепаратів та парафінових блоків з достатньою кількістю та якістю матеріалу; відсутність інших гінекологічних захворювань, що потребували б лікування хірургічними методами; встановлений та підтверджений імуногістохімічним методом дослідження діагноз «хронічний ендометрит». Критеріями включення до групи порівняння стали пацієнтки основної групи, в яких після проведеного лікування хронічного ендометриту за однією зі схем впродовж 6 місяців настала вагітність, яка завершилася народженням дитини; відсутність морфологічних ознак хронічного ендометриту або їх значне зменшення в порівнянні з вихідною оцінкою морфологічних даних. Критеріями виключення для обох груп в нашому дослідженні служили будь-які вади розвитку репродуктивної системи; ендокринні захворювання, які можуть впливати на репродуктивну функцію;

екстрагенітальна патологія (системні запальні захворювання сполучної тканини, злоякісні новоутворення будь-якої локалізації).

Розглядаючи основний масив даних патогістологічних заключень пацієток із безпліддям, було встановлено, що ХЕ займає друге місце в структурі патології, що призвела до інфертильності. Інформація з інших джерел є досить суперечливою, адже відсоткова частка за літературними даними сягає від 19,1% до 65,2%, виносячи ХЕ, як головну причину жіночої інфертильності [220, 221]. На нашу думку, такі розбіжності можуть характеризуватися різноманітністю досліджуваних популяцій, специфічністю виборок та навіть географічним положенням, адже за даними літератури, дещо вищий рівень безпліддя реєструється в європейських, азіатських країнах та деяких країнах Африки [221].

На підставі аналізу даних патогістологічних заключень виявлено, що середній вік хворих на хронічний ендометрит склав $30,5 \pm 3,8$ років. Отримані дані потрапляють в віковий діапазон репродуктивного віку та співпадають з даними Авраменка Н.В. [217] та Пирогової В.І. [218], проте середній вік пацієток в нашому дослідженні дещо вищий за показники перелічених авторів, що може бути зумовлене особливостями вибірки, а також соціально-економічними особливостями, адже на нашу думку, приблизно в віці 30 років сім'я має достатній рівень забезпечення для народження дітей, а отже, гостріше звертає увагу на репродуктивні невдачі та неможливість завагітніти.

В нашому дослідженні 36% випадків ХЕ мали безсимптомний перебіг і жінки зверталися до клініки лише, коли стикалися з неможливістю завагітніти або мали повторювані викидні. В 40% випадків жінки скаржилися на дисменорею і це стало найчастішим симптомом. В порівнянні з літературними даними, в нашому дослідженні безсимптомний перебіг мала дещо вища масова частка пацієнтів, ніж в дослідженні Пирогової В.І. [68], де відсоток безсимптомного перебігу був

12%, що, на нашу думку, пояснюється особливостями вибірки. Другою за поширеністю скаргою була дисменорея, як і в дослідженні авторів Пирогової В.І. та Козловського І.В. [217].

Аналіз морфологічних особливостей ендометрію виявив, що 78% (n=39) досліджуваних біоптатів зустрічалася повна форма ХЕ і в 22% (n=11) мала місце неповна форма ХЕ. Отримані нами дані відрізняються від даних, отриманих в дослідженні Сусідко О. [221], де повна форма зустрічалася в 19% випадків та неповна – в 81%. Таку різницю, на нашу думку, можна пояснити розмірами вибірки. Хоча за окремими ознаками отримані нами показники близькі до даних згаданого дослідника. Так, в нашій роботі наявність запальних інфільтратів спостерігалася в 100% випадків групи 1, в той час як в дослідженні Сусідко О. вони візуалізувалися в 94% випадків. Вогнищевий фіброз строми в нас мав дещо нижчий рівень – 86% проти 93% у автора, а невідповідність будови ендометрію фазі менструального циклу спостерігалася приблизно на однакових рівнях: в нашому дослідженні цей показник склав 92%, а в дослідженні Сусідко О. – 94% [222]. В результаті проведеної терапії ми, як і автори статті «Морфологічні особливості ендометрія у жінок з репродуктивними втратами на тлі хронічного ендометриту» отримали суттєве зменшення ознак ХЕ або їх повне зникнення [222].

Наступним етапом нашої роботи стало дослідження імуногістохімічного профілю ендометрію при хронічному ендометриті з можливим виокремленням маркерів, що повинні входити до панелі ПГХ-дослідження. Окрім верифікації власне діагнозу ХЕ, ми оцінювали корисність маркерів для контролю якості лікування та прогнозування настання успішної вагітності.

Першим досліджуваним маркером став CD138, який використовувався як золотий стандарт визначення плазматичних клітин в ендометрії та верифікації діагнозу. Зафіксовано зниження відносного

середнього значення ІМ CD138 ($p < 0,0001$) в групі 2. Всі пацієнтки після проведеного лікування завагітніли та виносили малюка, тобто очевидним є позитивний вплив суттєвого зниження кількості плазмоцитів на можливість настання вагітності. Такої ж думки в своєму дослідженні дійшли Yuue Li зі співавторами, а також підраховали, що для настання вагітності допустима кількість плазмоцитів не повинна перевищувати 5 клітини, що не протирічить отриманим нами даним, тобто $\leq 2,4$ клітини [128]. Дані Rimmer та співавторів говорять про те, що плазматична інфільтрація більше 4-6 клітин/поле зору асоційована з повторюваними викиднями або неможливістю завагітніти [120]. Також при визначенні кореляційних зв'язків між експресією CD138 та E-kadherin знайдено сильний зворотній кореляційний зв'язок у групі 1 ($p = 0,01$), проте не знайдено такої залежності у групі 2 ($p = 0,65$). Логічним було припустити, що наявність персистуючого хронічного запалення призведе до запуску ЕМТ [223], що підтверджується в нашому дослідженні ($p = 0,001$) і, навпаки, при зникненні запальних інфільтратів виникає МЕТ ($p < 0,001$). За нашою гіпотезою, вираженість ЕМТ мала б бути пропорційною до вираженості інфільтрації CD138, проте припущення не отримало підтвердження. За інформацією, наведеною в огляді Couchman, зникнення з поверхні клітин рецепторів до CD138 призводить до виснаження експресії E-kadherin, проте безпосередньо експресія CD138 та E-kadherin не пов'язані між собою і питання потребує подальшого вивчення [126]. Щодо коекспресії CD138 та Vimentin – ні в групі 1 ($p = 0,27$), ні в групі 2 ($p = 0,73$) не виявлено достовірного зв'язку між двома маркерами. Отримані нами дані також свідчать про відсутність прямого взаємозв'язку між експресією CD138 та маркерами епітеліально-мезенхімального переходу.

Аналіз проліферативної активності ендометрію дозволив виявити характерні рівні експресії маркеру, за яких можна констатувати

успішність проведеного лікування. Так, для групи 2 в стромі характерний рівень експресії Ki-67 становить 0-1 б ($p=0,003$), так само, як і в епітелії залоз ($p=0,01$). Також отримані нами дані свідчать про достовірне зниження рівня ІМ Ki-67 епітелію залоз ($p < 0,0001$) і в стромі ендометрію ($p < 0,0001$) після лікування, що співпадає з результатами дослідження Дубчака та співавторів. Літературні дані кажуть про те, що експресія Ki-67 прямо пропорційна до вираженості запалення і з огляду на суттєве зниження ІМ в групі 2, ми можемо підтвердити отримані нами дані [15].

Маркери апоптозу дозволили визначити характерні діапазони експресії. Так, в групі 2 характерний рівень експресії Vcl-2 становить 0-49% ($p < 0,0001$) в епітелії, при цьому помічено зниження відносного середнього значення ІМ ($p < 0,0001$) в порівнянні з групою 1. p53 в групі 2 експресувався на рівні $< 10\%$ ($p < 0,0001$) із достовірним збільшенням відносного значення ІМ ($p < 0,0001$). Було помічено спільність механізмів протидії апоптозу та проліферативної активності ендометрію – виявлено прямий сильний кореляційний зв'язок між експресією Vcl-2 та Ki-67 в групі 2 ($p=0,005$). Даних щодо рівнів експресії Vcl-2 та p53 в оглянутій літературі нами не виявлено, проте тенденції до зниження рівня Vcl-2 та підвищення рівня p53 після лікування збігаються з даними Вдовиченка Ю. та співавторів [225]. На нашу думку, апоптотичні властивості ендометрію в діагностичній панелі ХЕ не мають обов'язкового значення. Вони можуть бути включені до дослідження у разі виявлення гіперпластичних процесів в ендометрії на фоні ХЕ або підозрі на злоякісне новоутворення.

Додатково до вже отриманих даних про феномен ЕМТ, було визначено характерні рівні E-kadherin 51-100% ($p=0,02$) та Vimentin в групі 2 $< 10\%$ ($p < 0,0001$). Рівень ІМ в групі 2 достовірно підвищувався ($p < 0,001$) із одночасним зниженням відносних значень ІМ Vimentin в групі 2 ($p < 0,0001$). Також у групі 1 чітко простежувався епітеліально-

мезенхімальний перехід ($p=0,001$), а у групі 2 ендометрій піддався мезенхімально-епітеліальній трансформації ($p<0,001$), що, вочевидь, також позитивно впливає на здатність зародка імплантуватися в ендометрій. До такого ж висновку прийшли Mitsuaki Ishida з співавторами [199].

В нашому дослідженні виявлено, що для жінок з безпліддям характерним є зниження експресії p16 у залозистому ($p<0,0001$) та покривному епітелії ($p<0,0001$), в той час як для строми такої тенденції не виявлено ($p= 0,13$). Дані нашої роботи підтверджуються аналогічним дослідженням Dimitar Parvanov та співавторів [226], де також зміни експресії маркера відстежуються тільки в епітеліальному компоненті ендометрія. Також було знайдено критичні рівні експресії маркера в glandулярному епітелії $> 6,8\%$ та в покривному – $> 21,8\%$. На нашу думку, p16 можна включати в ІГХ-панель контролю лікування ХЕ та безпліддя, пов'язаного із ним. За даними літератури, саме він грає роль у підготовці до успішної імплантації та формуванні рецептивного ендометрію.

Аналіз маркерів неангіогенезу показав загальну виражену тенденцію CD31 ($p=0,001$), CD34 ($p<0,0001$) та VEGF ($p<0,0001$) до зростання відносних середніх значень ІМ в групі 2, що свідчить про посилення неангіогенезу в ендометрії та покращення кровопостачання тканини. Отримані нами дані щодо покращення васкуляризації ендометрію після терапії хронічного ендометриту співпадають з даними Hibson O. O., Makarchuk, O. M. та співавторів [227]. Однак, на нашу думку, доцільним є включення до прогностичної панелі лише маркерів VEGF та CD34, оскільки для них ми можемо розрахувати критичні значення. Для ІГХ-маркера VEGF такий рівень становить $>221,4$ ($p<0,001$), а для CD34 складає $>21,2$.

Імунний профіль досліджувався за допомогою декількох маркерів, що були специфічними для різних субпопуляцій імунних клітин. В ході

дослідження виявлено, що в групі 2 майже для всіх маркерів характерна тенденція до зниження середніх значень ІМ. Зокрема, така тенденція знайдена для маркерів CD3 у стромі ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$), CD8 у стромі ($p < 0,0001$) та в епітелії залоз ($p < 0,0001$), CD20 у стромальному ($p < 0,0001$) та в залозистому епітелії ($p < 0,0001$), CD56 у стромі ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$), CD68 в стромі ($p < 0,0001$) та залозистому епітелії ($p < 0,0001$). Лише для CD4 помічене зростання ІМ в групі 2 у стромі ($p < 0,0001$) та епітелії залоз ($p < 0,0001$). Як і для інших маркерів, встановлено критичні рівні експресії. Вони склали: для CD3 у стромі $\leq 34,96$ та в епітелії залоз $\leq 21,04$; для CD4 у стромі $> 37,69$, для залоз $> 9,75$. Достовірний рівень CD8 вдалося встановити тільки для епітелію залоз $CD8 \leq 5,95$. Для CD20 критичне значення для залоз склало $\leq 5,46$ та для стромі $CD20 \leq 12,61$, Критичний рівень ІМ в стромі для CD56 склав $\leq 50,06$ і $\leq 16,52$ в залозах, а для CD68 ІМ склав $\leq 9,86$ в стромі ендометрію та $\leq 5,99$ в епітелії залоз. Отримані дані порівняно з даними дослідження Алексєнко О.С. та Гаркавенко К.В [228]. У праці досліджувався імунний профіль нормального ендометрія при фізіологічному менструальному циклі. Порівняно з нормальними показниками, рівень експресії маркерів описаних імуніцитів в нашому дослідженні дещо вищий. З нашої точки зору це можна пояснити залишковими явищами перенесеного хронічного ендометриту та не говорить про неефективність лікування.

Аналіз експресії маркера CD44, рецептора гіалуронової кислоти, показав достовірне збільшення відносних середніх значень ІМ в групі 2 ($p < 0,001$). Також було визначено критичний рівень ІМ CD44 $> 54,75$, за якого можна прогнозувати настання вагітності з наступним народженням дитини. Літературні дані свідчать про зниження експресії CD44 у жінок з повторюваним невиношуванням вагітності, що не протирічить отриманим нами даним [207]. Оскільки доведено, що рівень CD44

напряму корелює з успішним виношуванням вагітності [210-212], слід додати цей маркер до діагностичної ІГХ-панелі.

Таким чином в ході аналізу великого пулу маркерів було виділено основні, які необхідні для констатації успіху лікування ХЕ (рис. 5.1). Критичні значення, за яких можна прогнозувати успішну вагітність після проведеного лікування, розраховані з чутливістю $\geq 80\%$. Решту досліджуваних в роботі маркерів можна застосовувати в розширеній панелі імуногістохімічного дослідження ендометрію.



Рисунок 5.1. Діагностична панель ознак та ІГХ-маркерів, що пропонується для оцінки ефективності лікування ХЕ.

Таким чином, в роботі проведено удосконалення критеріїв діагностики та прогнозування перебігу хронічного ендометриту у жінок з

безпліддям через поєднання даних клінічного, морфологічного та імуногістохімічного дослідження. Знайдені прогностичні маркери дають змогу всебічно оцінити молекулярний профіль ендометрію для складання достовірного прогностичного алгоритму, що є надвизначно важливим у вирішенні проблеми безпліддя.

ВИСНОВКИ

Хронічний ендометрит є достатньо розповсюдженою патологією, що призводить до безпліддя. Відсутність уніфікованих затверджених протоколів діагностики, оцінки ефективності терапії ХЕ та прогнозу настання вагітності роблять ХЕ актуальною науковою проблемою та залишають місце для дослідницьких пошуків. У дисертаційній роботі надано розгорнутий клініко-морфологічний та молекулярно-генетичний аналіз особливостей ендометрію при хронічному ендометриті у жінок із безпліддям. Знайдено найбільш інформативні діагностичні та прогностичні критерії, що дозволяють оцінювати ефективність проведеного лікування та передбачувати з ймовірністю 80% настання успішної вагітності, що закінчиться пологами.

1. В структурі жіночого безпліддя в нашому дослідженні ХЕ займає друге місце із питомою вагою 27,83% , поступаючись розладам овуляторно-менструального циклу, що займають 52,78% усіх причин безпліддя.

2. В результаті аналізу патогістологічних заключень пацієнток виявлено, що для хворих на хронічний ендометрит середній вік склав $30,5 \pm 3,8$ років. В 36% (n=18) випадків ХЕ перебігав безсимптомно У 40% (n=20) випадків жінки скаржилися на дисменорею – найчастіший симптом ХЕ. В 78% (n=39) досліджуваних біоптатів при морфологічному дослідженні мала місце повна форма ХЕ, в 22% (n=11) - неповна форма ХЕ. До основних морфологічних ознак, за якими можна діагностувати ХЕ, віднесено: наявність запальних інфільтратів із плазмоцитами, вогнищевий фіброз стромы та стінок спіральних артерій, невідповідність будови ендометрію фазі менструального циклу Морфологічним критерієм успішності терапії є зменшення вираженості основних морфологічних ознак ХЕ або їх повне зникнення.

3. Спостерігалось достовірне зниження ІМ CD138 в групі 2 із критичним рівнем експресії $\leq 2,4$ клітини. Тенденція до зниження середніх значень ІМ доведена для CD3, CD8, CD20, CD56 CD68 та у стромі та епітелії залоз. Для CD4 характерна зворотня тенденція. Виявлено критичні рівні експресії маркерів в полі зору: для CD3 у стромі $\leq 34,96$ та в епітелії залоз $\leq 21,04$; для CD4 у стромі $> 37,69$, для залоз $> 9,75$; CD8 $\leq 5,95$ для залозистого епітелію; CD20 $\leq 5,46$ для залоз та $\leq 12,61$ для стромі; CD56 в стромі $\leq 50,06$ і $\leq 16,52$ в залозах; для CD68 $\leq 9,86$ в стромі та $\leq 5,99$ в епітелії залоз.

4. В обох досліджуваних групах характерний рівень експресії ER в стромі та епітелії залоз склав 51-100%, проте помічено зростання кількості випадків помірної експресії у стромі (11-50%) у групі 2. В цілому в групі помічено схильність до зниження відносних значень ІМ ER ($t=5,36$; $p<0,0001$) в стромальному та епітеліальному компонентах ендометрію. Характерний рівень експресії PR для групи 2 становив 0-50% в епітелії, для стромі достовірного діапазону експресії не виявлено.

5. Аналіз проліферативної активності показав, що в стромі ендометрію характерна тенденція до зникнення експресії Ki-67 або зниження рівня експресії до рівня 1 балу в групі 2 із зниженням відносного середнього значення ІМ. В групі 2 характерний рівень експресії Vcl-2 становить 0-49% в епітелії із зниженням відносних значень експресії маркера в групі 2. В групі 2 рівень експресії p53 $< 10\%$ із достовірним збільшенням відносного значення ІМ.

6. Аналіз маркерів неоангіогенезу показав загальну виражену тенденцію CD31, CD34 та VEGF до зростання відносних середніх значень ІМ в групі 2, Для маркерів VEGF та CD34 вдалося визначити критичні значення експресії: для VEGF $> 221,4$, а для CD34 $> 21,2$.

7. В групі 1 доведено зниження експресії p16 у залозистому та покривному епітелії в порівнянні з групою 2. Критичні рівні експресії маркера в glandулярному епітелії $> 6,8\%$, для поверхневого епітелію – $>$

21,8%. Зважаючи на одну з ключових ролей p16 в процесі успішної імплантації, його слід включати в ІГХ-панель дослідження. Щодо його ролі, як маркера p16 слід провести додаткові дослідження, бо отримані дані суперечливі. Аналіз експресії маркера CD44 показав достовірне збільшення відносного середнього значення ІМ в групі 2. Критичний рівень маркера склав >54,75%. Враховуючи літературні дані щодо його ролі в процесі імплантації та зниження експресії при невиношуванні вагітності слід включити його ІГХ-панелі.

8. Морфологічним критерієм успішності терапії є зменшення вираженості фіброзу стромы та спіральних артерій, проте залишкові фокуси фіброзу можуть залишатися. Після лікування зафіксовано відсутність інфільтратів в ендометрії по типу лімфоїдних фолікулів, проте фіксувалися окремі плазмцити. Дисхроноз ендометрію після лікування зберігався лише в 12% випадків.

9. Серед клінічних ознак хронічного ендометриту не можна виділити патогномонічних симптомів ХЕ. Морфологічними діагностичними критеріями служать наявність в базальному та функціональному шарах ендометрію запальних інфільтратів по типу лімфоїдних фолікулів із плазмцитами, вогнищевий фіброз стромы та стінок спіральних артерій, дисхроноз ендометрію. В ІГХ-дослідженні до обов'язкових маркерів із прогностичним значенням слід віднести Ki-67, CD138, ER, PR, E-kadherin, Vimentin, p16, VEGF, CD34, CD3, CD4, CD8, CD20, CD56 CD68. В разі необхідності розширення ІГХ-панелі маркерів слід включати Bcl-2, p53, CD31.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. До діагностичної панелі ІГХ-маркерів для ХЕ слід віднести Ki-67, CD138, ER, PR, E-kadherin, Vimentin, p16, VEGF, CD34, CD3, CD4, CD8, CD20, CD56 CD68. В разі необхідності розширення ІГХ-панелі маркерів слід включати Bcl-2, p53, CD31.

2. Для оцінки ефективності лікування та прогнозування настання успішної вагітності слід враховувати комплексно морфологічні та ІГХ-критерії. До морфологічних критеріїв успішності лікування слід віднести зникнення з ендометрію запальних інфільтратів по типу лімфоїдних фолікулів, зникнення дисхронозу, наявність можливих залишкових змін у вигляді фіброзу строми та спіральних артерій, поодиноких плазмоцитів. Також слід користуватися критичними значеннями ІГХ-маркерів, зазначеними в таблиці для прогнозування настання вагітності, що закінчиться народженням дитини:

Маркер	Локалізація	Значення
CD138	-	$\leq 2,4$ кл/п.з.
Ki-67	Строма	0-20%
	Епітелій залоз	0-20%
ER	Строма	51-100%
	Епітелій залоз	-
PR	Строма	-
	Епітелій залоз	0-50%
E-kadherin	Строма	51-100%
Vimentin	Строма	<10%
p16	Епітелій залоз	> 6,8
	Поверхневий епітелій	> 21,8
VEGF	Строма	>221,4

CD34	Строма	>21,2.
CD3	Строма	≤34,96
	Епітелій залоз	≤21,04
CD4	Строма	>37,69
	Епітелій залоз	>9,75
CD8	Строма	-
	Епітелій залоз	≤5,95
CD20	Строма	≤12,61
	Епітелій залоз	≤5,46
CD56	Строма	≤50,06
	Епітелій залоз	≤16,52
CD68	Строма	≤9,86
	Епітелій залоз	≤5,99
CD44		>54,75.

3. У разі необхідності розширення ІГХ-панелі додатково можна використовувати маркери Vcl-2, p53 та CD31 із рівнями, зазначеними в таблиці:

Маркер	Локалізація	Значення
Vcl-2	Строма	-
	Епітелій залоз	0-49%
p53	Епітелій	<10%
	залоз	
CD31	Строма	Тенденція до збільшення ІМ

		в порівнянні з рівнем до лікування
--	--	--

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Kiriya D. (2023). Assessment of the receptivity of the endometrium to steroid hormones in women with chronic endometritis. *Periodyk naukowy Akademii Polonijnej*, 56 (1), 419-424. doi: <https://doi.org/10.23856/5657>
2. Kiriya D.H. (2023). Rol' epitelial'no-mezenkhimal'noyi transformatsiyi u bezpliddi, vyklykanomu khronichnym endometrytom [The role of epithelial-mesenchymal transformation in infertility caused by chronic endometritis]. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*, 1 (168), 343-351. doi: 10.29254/2077-4214-2023-1-168-343-351 [in Ukrainian]
3. Kiriya D.H. (2023). Strukturnyy analiz prychnyn zhinochoho bezpliddya u likuval'nykh zakladakh m. Kharkiv [Structural analysis of the causes of female infertility in medical institutions in Kharkiv]. *Skhidnoyevropeys'kyy zhurnal vnutrishn'oyi ta simeynoyi medytsyny*, 1, 97-101. doi: 10.15407/internalmed2023.01.097 [in Ukrainian]
4. Danilyuk, S., Kiriya, D., Dolhaia, O. & Oliinyk, A.. (2020). Patohistolohichni ta imunohistokhimichni osoblyvosti endometriya pry khronichnomu endometryti u zhinok z bezplidnyam (ohlyad literatury) [Pathohistological and immunohistochemical features of the endometrium in chronic endometritis in women with infertility (literature review)]. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*, 4 (158), 13-17. doi: 10.29254/2077-4214-2020-4-158-13-17 [in Ukrainian]
5. Kiriya D.H. (2023). Prohnostychna rol' ekspresiyi markeriv Ki-67 ta bcl-2 pry khronichnomu endometryti u zhinok z bezplidnyam [Prognostic role of expression of Ki-67 and bcl-2 markers in chronic endometritis in women with infertility]. *Integration of scientific solutions and methods into practice. Abstracts of XVI International Scientific and Practical Conference. (m. Paryzh, Frantsiya, 24-26 kvitnya 2023 r.), Paryzh, 2023 r. S. 193-195 [in Ukrainian]*

6. Kiriya D. (2023). Prognostic role of apoptosis markers in chronic endometritis in women with infertility. Scientists and modern theoretical ideas. Abstracts of XXXV International Scientific and Practical Conference. (м. Хайфа, Ізраїль, 4-6 вересня 2023 р.), Хайфа, 2023 р. С. 114-117

7. Kiriya D. & Yakovtsova I.I. (2023). Dynamics of VEGF expression in the endometrium in patients with CE before and after therapy. Sectoral research XXI: characteristics and features. Abstracts of VI International Scientific and Theoretical Conference. (м. Чикаго, США, 8 вересня 2023 р.), Чикаго, 2023 р. С. 144-146

8. Kiriya D. (2023). Znyzhennya ekspresiyi markera p16 yak predyktor povtoryuvanykh vykydniv u zhinok z khronichnym endometrytom [Decreased expression of the p16 marker as a predictor of recurrent miscarriages in women with chronic endometritis]. Modern problems and the latest theories of development. Materialy XXXVI mizhnarodnoyi naukovo-praktychnoyi konferentsiyi, 170-173 [in Ukrainian]

9. Hryhorenko, V. & Kiriya, D. (2024). Assessment of clinical features of endometrium in chronic endometritis. Problems of integration of education, science and business in globalization. Abstracts of VI International Scientific and Practical Conference, 182-184.

10. Hryhorenko, V. & Kiriya, D. (2024). Morfolohichni osoblyvosti endometriyu pry khronichnomu endometryti [Morphological features of the endometrium in chronic endometritis]. Materialy mizhnarodnoyi naukovo-praktychnoyi konferentsiyi «Nauka, osvita i tekhnolohiyi: svitovi tendentsiyi ta rehional'nyy aspekt, С. 30-32 [in Ukrainian]

11. Tatarchuk, T. F., Herman, D. H. & Red'ko, N. A. (2014). Novoe v dyahnostyke khronicheskoho éndometryta [New in the diagnosis of chronic endometritis.]. *Zbirnyk naukovykh prats' Asotsiatsiyi akusheriv-*

hinekolohiv Ukrayiny, 1-2, 290-293. Retrieved from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/znpaagu_2014_1-2_92. [in Russian]

12. Zegers-Hochschild, F., Adamson, G.D., J. de Mouzon, Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K., Sullivan, E. & S. van der Poel. (2009). On behalf of ICMART and WHO, The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology. *Human Reproduction*, 24 (11), 2683–2687. doi: 10.1093/humrep/dep343

13. Zhou, M., Wang, H., Zeng, X., Yin, P., Zhu, J., Chen, W., Li, X., Wang, L., Wang, L., Liu, Y., Liu, J., Zhang, M., Qi, J., Yu, S., Afshin, A., Gakidou, E., Glenn, S., Krish, V. S., Miller-Petrie, M. K. & Liang, X. (2019). Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*, 394(10204), 1145–1158. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30427-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30427-1)

14. Irfan A. Asangani, Vijaya L. Dommeti, Xiaojun Wang, Rohit Malik, Marcin Cieslik, Rendong Yang, June Escara-Wilke, Kari Wilder-Romans, Sudheer Dhanireddy, Carl Engelke, Mathew K. Iyer, Xiaojun Jing, Yi-Mi Wu, Xuhong Cao, Zhaohui S. Qin, Shaomeng Wang, Felix Y. Feng & Arul M. Chinnaiyan. (2014). Therapeutic targeting of BET bromodomain proteins in castration-resistant prostate cancer. *Nature*, 510, 278–282 <https://doi.org/10.1038/nature13229>

15. Dubchak A., Zadorozhna T., Milyevs'kyi O. & Dovhan' O. (2015). Morfolohichni ta imunohistokhimichni osoblyvosti endometriya v period "vikna implantatsiyi" u zhink z bezplidnyam na tli khronichnykh zapal'nykh zakhvoryuvan' vnutrishnikh statevykh orhaniv [Morphological and immunohistochemical features of the endometrium during the "window of implantation" in women with infertility against the background of chronic inflammatory diseases of the internal genital organs]. *Zdorov'e*

zhenshchyny, 6, 178-181. Retrieved from [http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=Zdzh_2015_6_42)

[bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=Zdzh_2015_6_42](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=Zdzh_2015_6_42). [in Ukrainian]

16. Kimura, F., Takebayashi, A., Ishida, M., Nakamura, A., Kitazawa, J., Morimune, A., Hirata, K., Takahashi, A., Tsuji, S., Takashima, A., Amano, T., Tsuji, S., Ono, T., Kaku, S., Kasahara, K., Moritani, S., Kushima, R. & Murakami, T. (2019), Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, 45: 951-960. <https://doi.org/10.1111/jog.13937>

17. Camden A. J., Szwarc M. M., Chadchan S. B., DeMayo F. J., O'Malley B. W., Lydon J. P. & Kommagani R. (2017). Growth regulation by estrogen in breast cancer 1 (GREB1) is a novel progesterone-responsive gene required for human endometrial stromal decidualization. *Molecular Human Reproduction*. 23 (9), 646–653. doi: 10.1093/molehr/gax045

18. Saran, R., Robinson, B., Abbott, K. C., Agodoa, L. Y. C., Albertus, P., Ayanian, J., Balkrishnan, R., Bragg-Gresham, J., Cao, J., Chen, J. L. T., Cope, E., Dharmarajan, S., Dietrich, X., Eckard, A., Eggers, P. W., Gaber, C., Gillen, D., Gipson, D., Gu, H., ... Shahinian, V. (2017). US Renal Data System 2016 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. *American Journal of Kidney Diseases*, 69(3), A7–A8. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2016.12.004>

19. Park, H. J., Kim, Y. S., Yoon, T. K., & Lee, W. S. (2016). Chronic endometritis and infertility. In *Clinical and Experimental Reproductive Medicine* (Vol. 43, Issue 4, pp. 185–192). <https://doi.org/10.5653/cerm.2016.43.4.185>

20. La Ferlita, A., Battaglia, R., Andronico, F., Caruso, S., Cianci, A., Purrello, M., & Di Pietro, C. (2018). *Molecular Sciences Non-*

Coding RNAs in Endometrial Physiopathology.
<https://doi.org/10.3390/ijms19072120>

21. Grund, S., & Grümmer, R. (2018). Direct cell–cell interactions in the endometrium and in endometrial pathophysiology. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8), 2227.

22. Shi, C., Shen, H., Fan, L. J., Guan, J., Zheng, X. B., Chen, X., ... & Han, H. J. (2017). Endometrial microRNA signature during the window of implantation changed in patients with repeated implantation failure. *Chinese medical journal*, 130(05), 566-573.

23. Herman, YU. V., Lun'ko, T. A., Hryhurko, D. O., Hladchuk, I. Z. (2020). Porivnyal'nyy analiz uskladnen' pislyaoperatsiynoho periodu pry kesarevomu roztyni za M. Stark ta modyfikovanoyu metodykoyu [A regular analysis of the complexity of the postoperative period during cesarean surgery according to M. Stark and a modified technique]. *Aktual'ni pytannya pediatriyi, akusherstva ta hinekolohiyi*, 2, 69-75. [in Ukrainian]

24. Orishchak I., Makarchuk O. (2022). Kharakterystyka mikrobioty slyzovoyi khvoroby reproduktyvnoho traktu u patsiyentiv z hiperplaziyeyu endometriyi u poyednanni z zapalennyam endometrytu ta optymizovana prohrama rehabilitatsiynoyi terapiyi ta prekontseptsynoyi pidhotovky [Characterization of the microbiota of the mucous membrane of the reproductive tract in patients with endometrial hyperplasia in combination with chronic endometritis and an optimized program of rehabilitation therapy and preconception preparation]. *Perynatolohiya ta reproduktolohiya: vid doslidzhen' do praktyky*, 2(2), 47-60. [in Ukrainian]

25. Deans, R., Vancaillie, T., Ledger, W., Liu, J., & Abbott, J. A. (2018). Live birth rate and obstetric complications following the hysteroscopic management of intrauterine adhesions including Asherman syndrome. *Human Reproduction*, 33(10), 1847-1853.

26. Liu, L., Yang, H., Guo, Y., Yang, G., & Chen, Y. (2019). The impact of chronic endometritis on endometrial fibrosis and reproductive

prognosis in patients with moderate and severe intrauterine adhesions: a prospective cohort study. *Fertility and sterility*, 111(5), 1002-1010.

27. Cicinelli, E., Trojano, G., Mastromauro, M., Vimercati, A., Marinaccio, M., Mitola, P. C., ... & de Ziegler, D. (2017). Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenetic link. *Fertility and sterility*, 108(2), 289-295.

28. Allemani, C., Matsuda, T., Di Carlo, V., Harewood, R., Matz, M., Nikšić, M., ... & Hood, M. (2018). Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *The Lancet*, 391(10125), 1023-1075.

29. Pantos, K., Simopoulou, M., Pantou, A., Rapani, A., Tsioulou, P., Nitsos, N., ... & Sfakianoudis, K. (2019). A case series on natural conceptions resulting in ongoing pregnancies in menopausal and prematurely menopausal women following platelet-rich plasma treatment. *Cell Transplantation*, 28(9-10), 1333-1340.

30. Takebayashi, A., Kimura, F., Kishi, Y., Ishida, M., Takahashi, A., Yamanaka, A., ... & Murakami, T. (2014). The association between endometriosis and chronic endometritis. *PLoS One*, 9(2), e88354.

31. Kalugina, L. V., Zadorozhna, T. D., & Yusko, T. I. (2019). Kliniko-morfolohichni osoblyvosti khronichnoho sal'pinhooforytu z riznymy variantamy perebihu v zhinok reproduktyvnoho viku [Clinical and morphological features of chronic salpingo-oophoritis with different course options in women of reproductive age]. *Ukrayins'kyy zhurnal Perynatolohiya i Pediatriya*, 4 (80), 16-23. [in Ukrainian]

32. Saxena, P., & Sindhu, S. G. (2018). Endometritis in infertility. *Fertility Science and Research*, 5(2), 41.

33. Susidko, O. M., Lubkovs'ka, O. A., Kovalyshyn O. A. (2023). Biotsenoz vahinal'noho traktu u patsiyentiv z bezplidnyam na tli

zapalennya endometrytu [Biocenosis of the vaginal tract in patients with infertility against the background of chronic endometritis]. *Reproduktyvne zdorov'ya zhinky*, (4), 74-78. [in Ukrainian]

34. Bouet, P. E., El Hachem, H., Monceau, E., Gariépy, G., Kadoch, I. J., & Sylvestre, C. (2016). 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*, 105(1), 106-110.

35. Kitaya, K., & Yasuo, T. (2011). Immunohistochemical and clinicopathological characterization of chronic endometritis. *American journal of reproductive immunology*, 66(5), 410-415.

36. Romanenko, T. G., & Hayduk, A. D. (2022). Immunomorfologichni oznaky zapalennya endometrytu u patsiyentiv pislya nedavnikh sprob zastosuvannya dopomizhnykh reproduktyvnykh tekhnolohiy [Immunomorphological signs of chronic endometritis in patients after unsuccessful attempts to use assisted reproductive technologies]. *Women's reproductive health*, (3), 27-33. [in Ukrainian]

37. Kinake, M., Watane, S., & Deshpande, S. (2021). Clinicopathological study of abnormal uterine bleeding: A two-year study at tertiary care center. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*, 10(6), 1-8.

38. Chodankar, R., & Critchley, H. O. (2019). Biomarkers in abnormal uterine bleeding. *Biology of reproduction*, 101(6), 1155-1166.

39. Tersoglio, A. E., Tersoglio, S., Salatino, D. R., Castro, M., Gonzalez, A., Hinojosa, M., & Castellano, O. (2020). Regenerative therapy by endometrial mesenchymal stem cells in thin endometrium with repeated implantation failure. A novel strategy. *JBRA Assisted Reproduction*, 24(2), 118.

40. Khanlarkhani, N., Mortezaee, K., Amidi, F., Kharazinejad, E., Beyer, C., Baazm, M., ... & Zendedel, A. (2017). Role of stromal derived

factor-1a (SDF-1a) for spermatogenesis of busulfan-injured rats. *Reproductive Toxicology*, 73, 142-148.

41. Dorostghoal, M., Moramezi, F., & Keikhah, N. (2018). Overexpression of endometrial estrogen receptor-alpha in the window of implantation in women with unexplained infertility. *International journal of fertility & sterility*, 12(1), 37.

42. Ukrainets, R. V., & Korneva, YU. S. (2019). Peritoneal'nyye makrofagi-klyuchevoye zveno v stanovlenii, progressirovani i podderzhanii endometrioidnykh geterotopiy i razviti endometrio-ssotsiirovannogo besplodiya (obzor literatury) [Peritoneal macrophages are a key link in the formation, progression and maintenance of endometrioid heterotopias and the development of endometriosis-associated infertility (literature review)]. *Problemy Reproduktsii*, 25(3). Retrieved from <https://web.s.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=10257217&AN=137804912&h=AXlmqOpUzJdIOhpHkzy%2fll%2fCM8U17AS4RxYa3d6RB7KWglLCD6AuR%2fdkK20WkmvsTQtkY8Z9t51AsH%2bSpAi0A%3d%3d&crl=c&resultNs=AdminWebAuth&resultLocal=ErrCrlNotAuth&crlhashurl=login.aspx%3fdirect%3dtrue%26profile>

43. Brugo-Olmedo, S., Chillik, C., & Kopelman, S. (2001). Definition and causes of infertility. *Reproductive BioMedicine Online*, 2(1), 173–185. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)62193-1](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)62193-1)

44. Infertility Workup for the Women's Health Specialist: ACOG Committee Opinion, Number 781. (2019). *Obstetrics and Gynecology*, 133(6), e377–e384. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003271>

45. Mustafa, M., Sharifa, A. M., Hadi, J., Izzam, E., & Aliya, S. (2019). Male and female infertility: causes, and management. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 18, 27-32.

46. Bellver, J., & Donnez, J. (2019). Introduction: Infertility etiology and offspring health. *Fertility and Sterility*, 111(6), 1033–1035. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2019.04.043>
47. Harashchenko, T. M. (2011). Reproduktyvni vtraty vnaslidok mertvonarodzhen' v Ukrayini: demohrafichnyy aspekt [Reproductive losses due to stillbirths in Ukraine: demographic aspect]. *Demohrafiya ta sotsial'na ekonomika*, 2(16), 156-165. [in Ukrainian]
48. Semenyuk, L. M. (2013). Hiperandroheniya yak chynnyk reproduktyvnykh vtrat [Hyperandrogenism as a factor in reproductive losses]. *Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery*, 1 (42), 71-79. [in Ukrainian]
49. Lytvyn, N. V. (2017). Otsinka spetsyfichnykh bilkiv vahitnosti dlya prohnozuvannya rannikh reproduktyvnykh vtrat u zhinok, vklyuchenykh u prohramu dopomizhnykh reproduktyvnykh tekhnolohiy [Evaluation of pregnancy-specific proteins for predicting early reproductive loss in women enrolled in an assisted reproductive technology program]. *Zbirnyk naukovykh prats' asotsiatsiyi akusheriv-hinekologiv Ukrayiny*, 99-103. [in Ukrainian]
50. Knyazyeva A. O. (2017). Reproduktyvni vtraty pry khronichnomu endometryti [Reproductive losses in chronic endometritis]. "Khyst" Vseukrayins'kyy medychnyy zhurnal molodykh vchenykh, 19, 22. [in Ukrainian]
51. Semenyuk, L. M. (2019). Nedostatnist' lyuteyinovoyi fazy menstrual'noho tsyklu-tryvozhnyy dzvinok maybutnikh reproduktyvnykh vtrat [Insufficiency of the lutein phase of the menstrual cycle is an alarm call of future reproductive losses]. *Klinichna endokrynolohiya ta endokrynna khirurgiya*, 1 (65), 94-97. [in Ukrainian]
52. Daugirdaitė, V., van den Akker, O., & Purewal, S. (2015). Posttraumatic stress and posttraumatic stress disorder after termination of

pregnancy and reproductive loss: a systematic review. *Journal of pregnancy*, 2015.

53. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2020). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertility and Sterility*, 113(3), 533-535.

54. Dimitriadis, E., Menkhorst, E., Saito, S., Kutteh, W. H., & Brosens, J. J. (2020). Recurrent pregnancy loss. *Nature reviews disease primers*, 6(1), 98.

55. Petrov, Y. A., & Kupina, A. D. (2020). Hysteroscopic method for the diagnosis of chronic endometritis in women with reproductive losses. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(5), 553-557.

56. Kitaya, K., Matsubayashi, H., Yamaguchi, K., Nishiyama, R., Takaya, Y., Ishikawa, T., Yasuo, T., & Yamada, H. (2016). Chronic Endometritis: Potential Cause of Infertility and Obstetric and Neonatal Complications. *American Journal of Reproductive Immunology*, 75(1), 13–22. <https://doi.org/10.1111/AJI.12438>

57. World Health Organization. (2015). *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision*. Version:2015

58. Puente E., Alonso L., Laganà A. S., Ghezzi F., Casarin J. & Carugno J. (2020). Chronic endometritis: old problem, novel insights and future challenges. *International Journal of Fertility and Sterility*, 13 (4), 250-256. doi: 10.22074/ijfs.2020.5779

59. Kasius, J. C., Fatemi, H. M., Bourgain, C., Sie-Go, D. M. D. S., Eijkemans, R. J. C., Fauser, B. C., Devroey, P., & Broekmans, F. J. M. (2011). The impact of chronic endometritis on reproductive outcome. *Fertility and Sterility*, 96(6), 1451–1456. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2011.09.039>

60. Espinós, J. J., Fabregues, F., Fontes, J., García-Velasco, J. A., Llácer, J., Requena, A., Checa, M., & Bellver, J. (2021). Impact of chronic endometritis in infertility: a SWOT analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, 42(5), 939–951. <https://doi.org/10.1016/J.RBMO.2021.02.003>
61. Margulies, S. L., Dhingra, I., Flores, V., Hecht, J. L., Fadare, O., Pal, L., & Parkash, V. (2021). The Diagnostic Criteria for Chronic Endometritis: A Survey of Pathologists. *International Journal of Gynecological Pathology*. <https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000737>
62. Khmil, S. V., & Chudiiiovych, N. Y. (2019). Khronichnyy endometryt yak odyin iz faktoriv nevdalykh sprob implantatsiyi embrioniv u prohramakh dopomizhnykh reproduktyvnykh tekhnolohiy [Chronic endometritis as one of the factors of failed embryo implantation attempts in assisted reproductive technology programs]. *Aktual'ni pytannya pediatriyi, akusherstva ta hinekolohiyi*, (2), 111-117. [in Ukrainian]
63. Timofeev, D. E., & Cherems'ka, D. YA. (2019). Khronichnyy endometryt i yoho diahnozyka v suchasniy hinekolohiyi [Chronic endometritis and its diagnosis in modern gynecology], *Kharkiv international annual scientific meeting: materialy naukovo-praktychnoyi konferentsiyi studentiv, molodykh vchenykh ta likariv* [Kharkiv international annual scientific meeting: materials of the scientific and practical conference of students, young scientists and doctors]. Kharkiv. [in Ukrainian]
64. Hurtgen, J. P. (2006). Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. *Theriogenology*, 66(3), 560-566.
65. Kuroda, K., Yamanaka, A., Takamizawa, S., Nakao, K., Kuribayashi, Y., Nakagawa, K., Nojiri, S., Nishi, H., & Sugiyama, R. (2022). Prevalence of and risk factors for chronic endometritis in patients with intrauterine disorders after hysteroscopic surgery. *Fertility and sterility*, 118(3), 568–575. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.05.029>

66. Zou, Y., Li, S., Ming, L., Yang, Y., Ye, P., & Zou, J. (2022). The Correlation between Chronic Endometritis and Tubal-Factor Infertility. *Journal of clinical medicine*, 12(1), 285. <https://doi.org/10.3390/jcm12010285>
67. Ravel, J., Moreno, I., & Simón, C. (2021). Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease. *American journal of obstetrics and gynecology*, 224(3), 251–257. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.10.019>
68. Pyrohova, V.I., Kozlovs'kyi, I.V. & Holota, L.I. (2014). Likuvannya khronichnoho endometrytu u zhinok z bezplidnyam [Treatment of chronic endometritis in women with infertility]. *Aktual'ni pytannya pediatriyi, akusherstva ta hinekolojiyi*, 2, 117-119. [in Ukrainian]
69. Wang, S., Zhao, H., Li, F., Xu, Y., Bao, H., & Zhao, D. (2022). Higher Chronic Endometritis Incidences within Infertile Polycystic Ovary Syndrome Clinical Cases. *Journal of healthcare engineering*, 2022, 9748041. <https://doi.org/10.1155/2022/9748041>
70. Postolenko, V. YU., Avramenko, N. V., & Barkovs'kyi, D. YE. (2022). Stan mikroflory ta stupin' vyrazhenosti mistsevoho immunoho zakhystu v endometriyi zhinok z bezplidnyam, shcho rozvyvayet'sya na tli khronichnoho endometrytu poyednanoho z bakterial'nym vahinozom [The state of the microflora and the degree of expression of local immune protection in the endometrium of women with infertility, which develops against the background of chronic endometritis combined with bacterial vaginosis]. *Klinichna medytsyna*, 1(35), 150-157. doi: 10.26693/jmbs07.01.150. [in Ukrainian]
71. Chen, P., Chen, P., Guo, Y., Fang, C., & Li, T. (2021). Interaction Between Chronic Endometritis Caused Endometrial Microbiota Disorder and Endometrial Immune Environment Change in Recurrent Implantation Failure. *Frontiers in immunology*, 12, 748447. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.748447>

72. Dosval'd, A. KH., & Malanchuk, L. M. (2021). Klinichna kharakterystyka zhinok iz bezplidnyam za umov komorbidnosti syndromu polikistoznykh yayechnykh ta khronichnoho endometrytu [Clinical characteristics of women with fertility due to co-morbidity of polycystic ovary syndrome and chronic endometritis]. *Visnyk sotsial'noyi hihiyeny ta orhanizatsiyi okhorony zdorov'ya Ukrayiny*, (4), 96-104. [in Ukrainian]
73. Zeng, S., Liu, X., Liu, D., & Song, W. (2022). Research update for the immune microenvironment of chronic endometritis. *Journal of reproductive immunology*, 152, 103637. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2022.103637>
74. Zaporozhan V.M., Tsel's'kyi, M.R., & Rozhkov's'ka N.M. (2005). Infektsiyi verkhnikh viddiliv reproduktyvnoho traktu i systemni infektsiyi [Infections of the upper parts of the reproductive tract and systemic infections]. In *Akusherstvo i Hinekologiya. Tom 2. [Obstetrics and Gynecology. Volume 2.]* (63-64). Odesa: Odes'kyi meduniversytet [in Ukrainian].
75. Shcherbyna, M. O., Kurichova, N. YU., & Kapustnyk, N. V. (2015). Etiopatohenez khronichnoho endometrytu pry anomal'nykh matkovykh krovtechakh u zhinok v perymenopauzi [Etiopathogenesis of chronic endometritis with abnormal uterine bleeding in perimenopausal women]. Riven' efektyvnosti ta neobkhdnist' vplyvu medychnoyi nauky na rozvytok medychnoyi praktyky. *Zbirnyk materialiv mizhnarodnoyi naukovo-praktychnoyi konferentsiyi* [The level of effectiveness and the need for the influence of medical science on the development of medical practice. Collection of materials of the international scientific and practical conference.]. Київ [in Ukrainian].
76. Nyshchuk, K. D. (2019). Suchasnyy pohlyad na zhinoche bezplidnya pry khronichnomu endometryti [A modern view of female infertility in chronic endometritis]. *Pivdennoukrayins'kyi medychnyy naukovyy zhurnal*, 22 (22), 34-36. [in Ukrainian]

77. Młodzik, N., Lukaszuk, K., Sieg, W., Jakiel, G., & Smolarczyk, R. (2020). Endometrial microbiota - do they mean more than we have expected?. *Ginekologia polska*, 91(1), 45–48. <https://doi.org/10.5603/GP.2020.0010>

78. Moreno, I., & Simon, C. (2018). Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility. *Fertility and sterility*, 110(3), 337–343. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.04.041>

79. Postolenko, V. YU. (2020). Skryninzh mikrobiotsenozu endometriyu zhinok iz bezplidnyam na tli khronichnoho endometrytu [Screening of endometrial microbiocenosis of women with infertility on the background of chronic endometritis]. *Medyko-sotsial'ni, pravovi problemy reproduktyvnoyi medytsyny ta efektyvni shlyakhy yikh podolannya v umovakh reformuvannya medychnoyi haluzi Ukrayiny. Zbirnyk tez Vseukrayins'koyi naukovo-praktychnoyi konferentsiyi z mizhnarodnoyu uchastyu spil'no z asotsiatsiyeyu hinekolohiv-endokrynolohiv Ukrayiny [Medical and social, legal problems of reproductive medicine and effective ways to overcome them in the conditions of reforming the medical industry of Ukraine. Collection of theses of the All-Ukrainian scientific and practical conference with international participation together with the association of gynecologists-endocrinologists of Ukraine]. Zaporizhzhya, .53-55. [in Ukrainian]*

80. Haiduk, A. (2021). Mikrobioty pikhvy, kanalu shyyky matky ta porozhnyny matky pry khronichnomu endometryti [Microbiota of the vagina, cervical canal and uterine cavity in chronic endometritis]. *Perinatology and reproductology: from research to practice*, 1(3), 64-71. [in Ukrainian]

81. Ivina, O. V., & Pryymak, S. H. (2016). Al'ternatyvnyy pidkhid do likuvannya khronichnoho endometrytu [An alternative approach to the treatment of chronic endometritis]. *Medychnyy forum*, 68. [in Ukrainian]

82. Kosey, N. V., Tatarchuk, T. F., Vetokh, H. V., & Vasyl'chenko, L. A. (2023). Suchasni svitovi tendentsiyi vyvchennya etiologiyi, patohenezu, diahnostyky ta likuvannya khronichnoho endometrytu [Current global trends in the study of etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment of chronic endometritis]. *Reproduktyvne zdorov'ya zhinky*, (5), 7-12. [in Ukrainian].
83. Pidruchnyak, D. B., & Voloshchuk, I. I. (2014). Suchasnyy pidkhid do likuvannya khronichnoho endometrytu virusnoyi etiologiyi [A modern approach to the treatment of chronic endometritis of viral etiology]. *Khyst: Vseukrayins'kyy medychnyy zhurnal molodykh vchenykh*. [in Ukrainian]
84. Vani, B.S, Vani, R. & Jijiya, Bai P. (2019). Histopathological evaluation of endometrial biopsies and curetting's in abnormal uterine bleeding. *Trop J Path Micro*, 5(4),190-197.
85. Rohan, C. & Hilary, O.D. (2019). Biomarkers in abnormal uterine bleeding. *Biology of Reproduction*, 101(6),1155–1166.
86. Audial, S., & Bonnotte, B. (2015). Réaction inflammatoire [Inflammation]. *La Revue du praticien*, 65(3), 403–408.
87. Tursi, A., & Elisei, W. (2019). Role of Inflammation in the Pathogenesis of Diverticular Disease. *Mediators of inflammation*, 2019, 8328490. <https://doi.org/10.1155/2019/8328490>
88. Jiang, L., Yan, Y., Liu, Z., & Wang, Y. (2016). Inflammation and endometriosis. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 21(5), 941–948. <https://doi.org/10.2741/4431>
89. Pirtea, P., Cicinelli, E., De Nola, R., de Ziegler, D., & Ayoubi, J. M. (2021). Endometrial causes of recurrent pregnancy losses: endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis. *Fertility and sterility*, 115(3), 546–560. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.12.010>
90. Taylor, M., Jenkins, S. M., & Pillarisetty, L. S. (2023). Endometritis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

91. de Ziegler, D., Pirtea, P., & Ayoubi, J. M. (2019). Inflammation and uterine fibrosis: the possible role of chronic endometritis. *Fertility and sterility*, 111(5), 890–891. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.02.005>
92. Shibuya M. (2015). VEGF-VEGFR System as a Target for Suppressing Inflammation and other Diseases. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*, 15(2), 135–144. <https://doi.org/10.2174/1871530315666150316121956>
93. Uemura, A., Fruttiger, M., D'Amore, P. A., De Falco, S., Jousen, A. M., Sennlaub, F., Brunck, L. R., Johnson, K. T., Lambrou, G. N., Rittenhouse, K. D., & Langmann, T. (2021). VEGFR1 signaling in retinal angiogenesis and microinflammation. *Progress in retinal and eye research*, 84, 100954. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2021.100954>
94. Shaik-Dasthagirisaheb, Y. B., Varvara, G., Murmura, G., Saggini, A., Potalivo, G., Caraffa, A., Antinolfi, P., Tete', S., Tripodi, D., Conti, F., Cianchetti, E., Toniato, E., Rosati, M., Conti, P., Speranza, L., Pantalone, A., Saggini, R., Theoharides, T. C., & Pandolfi, F. (2013). Vascular endothelial growth factor (VEGF), mast cells and inflammation. *International journal of immunopathology and pharmacology*, 26(2), 327–335. <https://doi.org/10.1177/039463201302600206>
95. Bien, M. Y., Wu, M. P., Chen, W. L., & Chung, C. L. (2015). VEGF correlates with inflammation and fibrosis in tuberculous pleural effusion. *TheScientificWorldJournal*, 2015, 417124. <https://doi.org/10.1155/2015/417124>
96. Kushnir, V. A., Solouki, S., Sarig-Meth, T., Vega, M. G., Albertini, D. F., Darmon, S. K., Deligdisch, L., Barad, D. H., & Gleicher, N. (2016). Systemic Inflammation and Autoimmunity in Women with Chronic Endometritis. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 75(6), 672–677. <https://doi.org/10.1111/aji.12508>

97. Kabodmehri, R., Etezadi, A., Sharami, S. H., Ghanaei, M. M., Hosseinzadeh, F., Heirati, S. F. D., & Pourhabibi, Z. (2022). The association between chronic endometritis and uterine fibroids. *Journal of family medicine and primary care*, 11(2), 653–659. https://doi.org/10.4103/jfmmpc.jfmmpc_1470_21
98. Farghali, M. M., Abdelazim, I. A., & El-Ghazaly, T. E. (2021). Relation between chronic endometritis and recurrent miscarriage. *Przegląd menopauzalny = Menopause review*, 20(3), 116–121. <https://doi.org/10.5114/pm.2021.109769>
99. Vilella, F., Wang, W., Moreno, I., Quake, S. R., & Simon, C. (2021). Understanding the human endometrium in the 21st century. *American journal of obstetrics and gynecology*, 225(1), 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.04.224>
100. Fitzgerald, H. C., Schust, D. J., & Spencer, T. E. (2021). In vitro models of the human endometrium: evolution and application for women's health. *Biology of reproduction*, 104(2), 282–293. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioaa183>
101. Pedziwiatr-Werbicka, E., Serchenya, T., Shcharbin, D., Terekhova, M., Prokhira, E., Dzmitruk, V., Shyrochyna, I., Sviridov, O., Peña-González, C. E., Gómez, R., Sánchez-Nieves, J., Javier de la Mata, F., & Bryszewska, M. (2018). Dendronization of gold nanoparticles decreases their effect on human alpha-1-microglobulin. *International journal of biological macromolecules*, 108, 936–941. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.004>
102. Serchenya, T., Shcharbin, D., Shyrochyna, I., Sviridov, O., Terekhova, M., Dzmitruk, V., Abashkin, V., Apartsin, E., Mignani, S., Majoral, J. P., Ionov, M., & Bryszewska, M. (2019). Immunoreactivity changes of human serum albumin and alpha-1-microglobulin induced by their interaction with dendrimers. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 179, 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.065>

103. Schminkey, D. L., & Groer, M. (2014). Imitating a stress response: a new hypothesis about the innate immune system's role in pregnancy. *Medical hypotheses*, 82(6), 721–729. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2014.03.013>
104. Geremia, A., Biancheri, P., Allan, P., Corazza, G. R., & Di Sabatino, A. (2014). Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity reviews*, 13(1), 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.06.004>
105. Lessey, B. A., & Young, S. L. (2019). What exactly is endometrial receptivity?. *Fertility and sterility*, 111(4), 611–617. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.02.009>
106. Yarova, I. V. (2022). Suchasne otsynuyannya stanu endometriyi (Ohlyad literatury) [Modern evaluation of the state of the endometrium (Literature review)]. *Women's reproductive health*, (4), 57-64. [in Ukrainian]
107. Munro M. G. (2019). Uterine polyps, adenomyosis, leiomyomas, and endometrial receptivity. *Fertility and sterility*, 111(4), 629–640. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.02.008>
108. Bui, A. H., Timmons, D. B., & Young, S. L. (2022). Evaluation of endometrial receptivity and implantation failure. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 34(3), 107–113. <https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000783>
109. Ruiz-Alonso, M., Valbuena, D., Gomez, C., Cuzzi, J., & Simon, C. (2021). Endometrial Receptivity Analysis (ERA): data versus opinions. *Human reproduction open*, 2021(2), hoab011. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoab011>
110. Craciunas, L., Gallos, I., Chu, J., Bourne, T., Quenby, S., Brosens, J. J., & Coomarasamy, A. (2019). Conventional and modern markers of endometrial receptivity: a systematic review and meta-analysis.

Human reproduction update, 25(2), 202–223.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmy044>

111. Crha, I., Ventruba, P., Žáková, J., Jeřeta, M., Pilka, R., Lousová, E., & Papíková, Z. (2019). Uterine microbiome and endometrial receptivity. *Děložní mikrobiom jako faktor receptivity endometria. Ceska gynekologie*, 84(1), 49–54.

112. Gellersen, B., & Brosens, J. J. (2014). Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. *Endocrine reviews*, 35(6), 851–905.
<https://doi.org/10.1210/er.2014-1045>

113. Jiang, N. X., & Li, X. L. (2022). The Disorders of Endometrial Receptivity in PCOS and Its Mechanisms. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 29(9), 2465–2476.
<https://doi.org/10.1007/s43032-021-00629-9>

114. Lessey, B. A., & Kim, J. J. (2017). Endometrial receptivity in the eutopic endometrium of women with endometriosis: it is affected, and let me show you why. *Fertility and sterility*, 108(1), 19–27.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.05.031>

115. Lebovitz, O., & Orvieto, R. (2014). Treating patients with "thin" endometrium - an ongoing challenge. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 30(6), 409–414.
<https://doi.org/10.3109/09513590.2014.906571>

116. Edgell, T. A., Rombauts, L. J., & Salamonsen, L. A. (2013). Assessing receptivity in the endometrium: the need for a rapid, non-invasive test. *Reproductive biomedicine online*, 27(5), 486–496.
<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.05.014>

117. Mahajan N. (2015). Endometrial receptivity array: Clinical application. *Journal of human reproductive sciences*, 8(3), 121–129.
<https://doi.org/10.4103/0974-1208.165153>

118. Cornish, E. F., McDonnell, T., & Williams, D. J. (2022). Chronic Inflammatory Placental Disorders Associated With Recurrent Adverse Pregnancy Outcome. *Frontiers in immunology*, 13, 825075. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.825075>
119. Berezna, V. A., Mamontova, T. V., & Gromova, A. M. (2021). Cd68+ m1 macrophages is associated with placental insufficiency under fetal growth restriction. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*, 74(2), 213–219.
120. Rimmer, M. P., Fishwick, K., Henderson, I., Chinn, D., Al Wattar, B. H., & Quenby, S. (2021). Quantifying CD138+ cells in the endometrium to assess chronic endometritis in women at risk of recurrent pregnancy loss: A prospective cohort study and rapid review. *The journal of obstetrics and gynaecology research*, 47(2), 689–697. <https://doi.org/10.1111/jog.14585>
121. Vitagliano, A., Cialdella, M., Cicinelli, R., Santarsiero, C. M., Greco, P., Buzzaccarini, G., Noventa, M., & Cicinelli, E. (2021). Association between Endometrial Polyps and Chronic Endometritis: Is It Time for a Paradigm Shift in the Pathophysiology of Endometrial Polyps in Pre-Menopausal Women? Results of a Systematic Review and Meta-Analysis. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(12), 2182. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11122182>
122. Cicinelli, E., Tinelli, R. & Lepera, A. (2010). Correspondence between hysteroscopic and hystologic findings in women with chronic endometritis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 89, 1061–1065.
123. Korniyenko, S. M. (2017). Ul'trasonohrafichni kryteriyi v dyferentsiyaniy diahnostytsi polypiv endometriya ta khronichnoho endometryta [Ultrasonographic criteria in the differential diagnosis of endometrial polyps and chronic endometritis]. *Reports of Vinnytsia National Medical University*, 21(1 (1)), 49-54. [in Ukrainian]

124. Klimaszyk, K., Svarre Nielsen, H., Wender-Ozegowska, E., & Kedzia, M. (2023). Chronic endometritis - is it time to clarify diagnostic criteria?. *Ginekologia polska*, 94(2), 152–157. <https://doi.org/10.5603/GP.a2022.0147>
125. Palaiologou, M., Delladetsima, I., & Tiniakos, D. (2014). CD138 (syndecan-1) expression in health and disease. *Histology and histopathology*, 29(2), 177–189. <https://doi.org/10.14670/HH-29.177>
126. Couchman, J. R. (2021). Syndecan-1 (CD138), Carcinomas and EMT. *International journal of molecular sciences*, 22(8), 4227. <https://doi.org/10.3390/ijms22084227>
127. Yasuo, T., & Kitaya, K. (2022). Challenges in Clinical Diagnosis and Management of Chronic Endometritis. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 12(11), 2711. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12112711>
128. Li, Y., Xu, S., Yu, S., Huang, C., Lin, S., Chen, W., Mo, M., Lian, R., Diao, L., Ding, L., & Zeng, Y. (2021). Diagnosis of chronic endometritis: How many CD138+ cells/HPF in endometrial stroma affect pregnancy outcome of infertile women?. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 85(5), e13369. <https://doi.org/10.1111/aji.13369>
129. Urruticoechea, A., Smith, I. E., & Dowsett, M. (2005). Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. *Journal of clinical oncology*, 23(28), 7212-7220.
130. Scholzen, T., & Gerdes, J. (2000). The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *Journal of cellular physiology*, 182(3), 311-322.
131. Endl, E., & Gerdes, J. (2000). The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. *Experimental cell research*, 257(2), 231-237.

132. Andrés-Sánchez, N., Fisher, D., & Krasinska, L. (2022). Physiological functions and roles in cancer of the proliferation marker Ki-67. *Journal of Cell Science*, 135(11), jcs258932.
133. Czyzewska, J., Guzińska-Ustymowicz, K., Lebelt, A., Zalewski, B., & Kemonia, A. (2004). Evaluation of proliferating markers Ki-67, PCNA in gastric cancers. *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku* (1995), 49, 64-66.
134. Luo, G., Hu, Y., Zhang, Z., Wang, P., Luo, Z., Lin, J., ... & Yang, Y. (2017). Clinicopathologic significance and prognostic value of Ki-67 expression in patients with gastric cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*, 8(30), 50273.
135. Böger, C., Behrens, H. M., & Röcken, C. (2016). Ki67—an unsuitable marker of gastric cancer prognosis unmasks intratumoral heterogeneity. *Journal of surgical oncology*, 113(1), 46-54.
136. Vilar, E., Salazar, R., Perez-Garcia, J., Cortes, J., Oberg, K., & Taberero, J. (2007). Chemotherapy and role of the proliferation marker Ki-67 in digestive neuroendocrine tumors. *Endocrine-Related Cancer*, 14(2), 221-232.
137. Pelosi, G., Rindi, G., Travis, W. D., & Papotti, M. (2014). Ki-67 antigen in lung neuroendocrine tumors: unraveling a role in clinical practice. *Journal of thoracic oncology*, 9(3), 273-284.
138. Reid, M. D., Bagci, P., Ohike, N., Saka, B., Erbarut Seven, İ., Dursun, N., ... & Adsay, V. (2015). Calculation of the Ki67 index in pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative analysis of four counting methodologies. *Modern Pathology*, 28(5), 686-694.
139. Genc, C. G., Falconi, M., Partelli, S., Muffatti, F., van Eeden, S., Doglioni, C., ... & Nieveen van Dijkum, E. J. M. (2018). Recurrence of pancreatic neuroendocrine tumors and survival predicted by Ki67. *Annals of surgical oncology*, 25, 2467-2474

140. Grabowski, J. P., Vila, C. M., Richter, R., Taube, E., Plett, H., Braicu, E., & Sehouli, J. (2020). Ki67 expression as a predictor of chemotherapy outcome in low-grade serous ovarian cancer. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 30(4).
141. Li, L. T., Jiang, G., Chen, Q., & Zheng, J. N. (2015). Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer. *Molecular medicine reports*, 11(3), 1566-1572.
142. Nielsen, T. O., Leung, S. C. Y., Rimm, D. L., Dodson, A., Acs, B., Badve, S., ... & Hayes, D. F. (2021). Assessment of Ki67 in breast cancer: updated recommendations from the international Ki67 in breast cancer working group. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 113(7), 808-819.
143. Spratt D. E. (2018). Ki-67 Remains Solely a Prognostic Biomarker in Localized Prostate Cancer. *International journal of radiation oncology, biology, physics*, 101(3), 513–515. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2018.03.008>
144. Agoff, S. N., Lin, P., Morihara, J., Mao, C., Kiviat, N. B., & Koutsky, L. A. (2003). p16INK4a expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. *Modern Pathology*, 16(7), 665-673.
145. Güler, N., Çomunoğlu, N., & Cabbar, F. (2012). Ki-67 and MCM-2 in dental follicle and odontogenic cysts: the effects of inflammation on proliferative markers. *The Scientific World Journal*, 2012.
146. Bruckheimer, E. M., Cho, S. H., Sarkiss, M., Herrmann, J., & McDonnell, T. J. (1998). The Bcl-2 gene family and apoptosis. *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, 62, 75–105. <https://doi.org/10.1007/BFb0102306>
147. Hassan, M., Watari, H., AbuAlmaaty, A., Ohba, Y., & Sakuragi, N. (2014). Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. *BioMed research international*, 2014, 150845.

<https://doi.org/10.1155/2014/150845> (Retraction published Biomed Res Int. 2020 Aug 28;2020:2451249)

148. Joswig, A., Gabriel, H. D., Kibschull, M., & Winterhager, E. (2003). Apoptosis in uterine epithelium and decidua in response to implantation: evidence for two different pathways. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 1, 44. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-1-44>

149. Correia-da-Silva, G., Bell, S. C., Pringle, J. H., & Teixeira, N. A. (2005). Patterns of expression of Bax, Bcl-2 and Bcl-x(L) in the implantation site in rat during pregnancy. *Placenta*, 26(10), 796–806. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2004.09.008>

150. Ranger, A. M., Malynn, B. A., & Korsmeyer, S. J. (2001). Mouse models of cell death. *Nature genetics*, 28(2), 113–118. <https://doi.org/10.1038/88815>

151. Gottlieb, T. M., & Oren, M. (1998). p53 and apoptosis. *Seminars in cancer biology*, 8(5), 359–368. <https://doi.org/10.1006/scbi.1998.0098>

152. Wang, X., Simpson, E. R., & Brown, K. A. (2015). p53: Protection against Tumor Growth beyond Effects on Cell Cycle and Apoptosis. *Cancer research*, 75(23), 5001–5007. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-0563>

153. Sang, L., Fang, Q. J., & Zhao, X. B. (2019). A research on the protein expression of p53, p16, and MDM2 in endometriosis. *Medicine*, 98(14), e14776. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014776>

154. Serra, S., & Chetty, R. (2018). p16. *Journal of clinical pathology*, 71(10), 853–858. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2018-205216>

155. Le, A., Li, Q., Zheng, X., & Yang, H. (2022). P16 and P21 are involved in the pathogenesis of endometrial thinning: A cross-sectional study. *Medicine*, 101(40), e30987. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000030987>

156. Yang, H., Xie, Y., Yang, R., Wei, S. L., & Xi, Q. (2008). Expression of p16INK4a in mouse endometrium and its effect during blastocyst implantation. *Sheng li xue bao : [Acta physiologica Sinica]*, 60(4), 547–552.
157. Liggett, W. H., Jr, & Sidransky, D. (1998). Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 16(3), 1197–1206. <https://doi.org/10.1200/JCO.1998.16.3.1197>
158. Yu, K., Huang, Z. Y., Xu, X. L., Li, J., Fu, X. W., & Deng, S. L. (2022). Estrogen Receptor Function: Impact on the Human Endometrium. *Frontiers in endocrinology*, 13, 827724. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.827724>
159. Beltjens, F., Molly, D., Bertaut, A., Richard, C., Desmoulins, I., Loustalot, C., Charon-Barra, C., Courcet, E., Bergeron, A., Ladoire, S., Jankowski, C., Boidot, R., & Arnould, L. (2021). ER-/PR+ breast cancer: A distinct entity, which is morphologically and molecularly close to triple-negative breast cancer. *International journal of cancer*, 149(1), 200–213. <https://doi.org/10.1002/ijc.33539>
160. Foley, N. M., Coll, J. M., Lowery, A. J., Hynes, S. O., Kerin, M. J., Sheehan, M., Brodie, C., & Sweeney, K. J. (2018). Re-Appraisal of Estrogen Receptor Negative/Progesterone Receptor Positive (ER-/PR+) Breast Cancer Phenotype: True Subtype or Technical Artefact?. *Pathology oncology research : POR*, 24(4), 881–884. <https://doi.org/10.1007/s12253-017-0304-5>
161. Oliynyk, I. YU. (2012). Immunohistokhimichne doslidzhennya retseptoriv estrohenu i prohesteronu u vohnyshchakh retrotservikal'noho endometriozu [Immunohistochemical study of estrogen and progesterone receptors in foci of retrocervical endometriosis.]. *Patolohiya*, (3), 31-33. [in Ukrainian]

162. Kopyyka, I., & Chaykovs'kyi, YU. (2006). Rozpodil retseptoriv estroheniv i prohesteronu v endometriyi v normi ta pry hiperplaziyakh [Distribution of estrogen and progesterone receptors in the endometrium in normal and hyperplastic conditions]. *Klinichna anatomiya ta operatyvna khirurhiya*, 5(4), 69-72. [in Ukrainian]
163. Mishra, K., Wadhwa, N., Guleria, K., & Agarwal, S. (2008). ER, PR and Ki-67 expression status in granulomatous and chronic non-specific endometritis. *The journal of obstetrics and gynaecology research*, 34(3), 371–378. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2007.00700.x>
164. Gan, L., Duan, H., Wang, S., Xu, Q., & Tang, Y. Q. (2017). *Zhonghua fu chan ke za zhi*, 52(1), 47–52. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0529-567X.2017.01.010>
165. Benyuk, V. O., Honcharenko, V. M., & Nykonyuk, T. R. (2016). Suchasni determinanty patohenezu hiperplastychnykh protsesiv endometriya [Modern determinants of pathogenesis of endometrial hyperplastic processes]. *Zdorov'e zhenshchyny*, (5), 137-142. [in Ukrainian]
166. Melincovici, C. S., Boşca, A. B., Şuşman, S., Mărginean, M., Mişu, C., Istrate, M., Moldovan, I. M., Roman, A. L., & Mişu, C. M. (2018). Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie*, 59(2), 455–467.
167. Cicinelli, E., Vitagliano, A., Loizzi, V., De Ziegler, D., Fanelli, M., Bettocchi, S., Nardelli, C., Trojano, G., Cicinelli, R., Minervini, C. F., Leronni, D., & Viggiano, L. (2021). Altered Gene Expression Encoding Cytokines, Growth Factors and Cell Cycle Regulators in the Endometrium of Women with Chronic Endometritis. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(3), 471. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11030471>

168. Nielsen, J. S., & McNagny, K. M. (2008). Novel functions of the CD34 family. *Journal of cell science*, 121(22), 3683-3692.
169. Sidney, L. E., Branch, M. J., Dunphy, S. E., Dua, H. S., & Hopkinson, A. (2014). Concise review: evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. *Stem cells*, 32(6), 1380-1389.
170. Bohra H, Rathi KR, Dudani S, Bohra A, Vishwakarma S, Sahai K. The Study of MIB-1 LI and CD 34 As A Marker of Proliferative Activity and Angiogenesis in Different Grades of Meningioma. *J Clin Diagn Res*. 2016 Aug;10(8):EC14-7. doi: 10.7860/JCDR/2016/12690.8328. Epub 2016 Aug 1. PMID: 27656445; PMCID: PMC5028582.
171. Rotondo, F., Sharma, S., Scheithauer, B. W., Horvath, E., Syro, L. V., Cusimano, M., Nassiri, F., Yousef, G. M., & Kovacs, K. (2010). Endoglin and CD-34 immunoreactivity in the assessment of microvessel density in normal pituitary and adenoma subtypes. *Neoplasma*, 57(6), 590–593. https://doi.org/10.4149/neo_2010_06_590
172. Heimburg, S., Oehler, M. K., Kristen, P., Papadopoulos, T., & Caffier, H. (1997). The endothelial marker CD 34 in the assessment of tumour vascularisation in ovarian cancer. *Anticancer research*, 17(4B), 3149–3151.
173. Erdem, O., Erdem, M. E. H. M. E. T., Erdem, A., Memis, L., & Akyol, G. (2007). Expression of vascular endothelial growth factor and assessment of microvascular density with CD 34 and endoglin in proliferative endometrium, endometrial hyperplasia, and endometrial carcinoma. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 17(6).
174. Hvingel, B., Lieng, M., Roald, B., & Orbo, A. (2012). Vascular markers CD31, CD34, actin, VEGFB, and VEGFR2, are prognostic markers for malignant development in benign endometrial polyps.
175. Lertkiatmongkol, P., Liao, D., Mei, H., Hu, Y., & Newman, P. J. (2016). Endothelial functions of platelet/endothelial cell adhesion

molecule-1 (CD31). *Current opinion in hematology*, 23(3), 253–259.
<https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000239>

176. Liu, L., & Shi, G. P. (2012). CD31: beyond a marker for endothelial cells. *Cardiovasc Res*, 94(1), 3-5.

177. McKenney, J. K., Weiss, S. W., & Folpe, A. L. (2001). CD31 expression in intratumoral macrophages: a potential diagnostic pitfall. *The American journal of surgical pathology*, 25(9), 1167-1173.

178. Cheung, K., Ma, L., Wang, G., Coe, D., Ferro, R., Falasca, M., ... & Marelli-Berg, F. M. (2015). CD31 signals confer immune privilege to the vascular endothelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(43), E5815-E5824.

179. Rogers, P. A. W., Donoghue, J. F., & Girling, J. E. (2008). Endometrial lymphangiogenesis. *Placenta*, 29, 48-54.

180. Gritsenko, P. I., Samojlenko, A. V., Shpon'ka, I. S., & Poslavska, O. V. (2015). Imunohistokhimichni osoblyvosti budovy hranulyatsiynoyi tkanyny pry pervynnomu ta vtorynnomu apikal'nomu periodontyti [Immunohistochemical features of the structure of granulation tissue in primary and secondary apical periodontitis]. *Morphologia*, 9(1), 13-19. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2015.1.13-19> [in Ukrainian]

181. Nosenko, O. M., Moskalenko, T. YA., Kosyuha, O. M., Nosenko, E. N. & Kosyuha O. N. (2016). Aktyvnist' pryrodnykh kilernykh klityn v eutopichnomu endometriyi pry adenomiozi u zhinok z nadzvychaynoyu implantatsiynoyu kharakterystykoyu [Activity of natural killer cells in eutopic endometrium in adenomyosis in women with different implantation characteristics]. Retrieved from <http://repo.odmu.edu.ua:80/xmlui/handle/123456789/4614> [in Ukrainian]

182. Mikhaleva, L., Boltovskaya, M., Mikhalev, S., Babichenko, I. & Vandysheva, R.. (2017). Endometrial dysfunction caused by chronic endometritis: Clinical and morphological aspects. *Arkhiv patologii*. 79. 22. [10.17116/patol201779622-29](https://doi.org/10.17116/patol201779622-29).

183. Loskutova, T. O., Kryachkova, N. V., & Chulkov, O. S. (2020). Diahnostychni mozhyvosti imunohistokhimichnoho markera CD 138 u diahnostytsi khvoroby endometrytu u zhinok z obtyazhenym akushers'ko-hinekologichnym anamnezom [Diagnostic possibilities of the immunohistochemical marker CD 138 in the diagnosis of chronic endometritis in women with complicated obstetric and gynecological anamnesis]. Vydavnytstvo «Baltija Publishing». Retrieved from https://scholar.google.com.ua/scholar?hl=uk&as_sdt=0%2C5&q=%D0%B5%D0%BD%D0%B4%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D1%82%D1%80%D1%96%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%B0+%D0%B4%D0%B8%D1%81%D1%84%D1%83%D0%BD%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F+%D0%B5%D0%BD%D0%B4%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D1%82%D1%80%D0%B8%D1%82&btnG [in Ukrainian]

184. Tawfik, O., Venuti, S., Brown, S., & Collins, J. (1996). Immunohistochemical characterization of leukocytic subpopulations in chronic endometritis. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*, 4(5), 287–293. <https://doi.org/10.1155/S1064744996000555>

185. Nevhadovs'ka, P. M., & Chechuha, S. B. (2023). Diahnostyka khronichnoho endometrytu u zhinok iz zvychnym nevnoshuvannyam khvoroby [Diagnosis of chronic endometritis in women with recurrent miscarriage]. *Naukovyy visnyk Uzhhorods'koho universytetu. Seriya «Medytsyna»*, (1 (67)), 57-60.

186. Chechuha, S. B., Nevhadovska, P. M., & Nochvina, O. A. (2022). Imunohistokhimichni kharakterystyky endometriyu u zhinok zi zvychnym nevnoshuvannyam zakhvoryuvannya ta poshkodzhenym endometrytom [Immunohistochemical characteristics of the endometrium in women with habitual miscarriage and chronic endometritis]. *REPRODUCTIVE ENDOCRINOLOGY*, (65), 60-66. [in Ukrainian]

187. Chiokadze, M., Bär, C., Pastuschek, J., Dons'koi, B. V., Khazhylenko, K. G., Schleußner, E., Markert, U. R., & Favaro, R. R. (2020).

Beyond Uterine Natural Killer Cell Numbers in Unexplained Recurrent Pregnancy Loss: Combined Analysis of CD45, CD56, CD16, CD57, and CD138. *Diagnostics* (Basel, Switzerland), 10(9), 650. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10090650>

188. Zohni, K. M., Gat, I., & Librach, C. (2016). Recurrent implantation failure: a comprehensive review. *Minerva ginecologica*, 68(6), 653–667.

189. Dekel, N., Gnainsky, Y., Granot, I., & Mor, G. (2010). Inflammation and implantation. *American journal of reproductive immunology* (New York, N.Y. : 1989), 63(1), 17–21. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00792.x>

190. Li, Y., Yu, S., Huang, C., Lian, R., Chen, C., Liu, S., Li, L., Diao, L., Markert, U. R., & Zeng, Y. (2020). Evaluation of peripheral and uterine immune status of chronic endometritis in patients with recurrent reproductive failure. *Fertility and sterility*, 113(1), 187–196.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.09.001>

191. Khan, K. N., Fujishita, A., Ogawa, K., Koshiba, A., Mori, T., Itoh, K., Nakashima, M., & Kitawaki, J. (2021). Occurrence of chronic endometritis in different types of human adenomyosis. *Reproductive medicine and biology*, 21(1), e12421. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12421>

192. Yang, G., Zhang, Q., Tan, J., Xiong, Y., Liang, Y., Yan, J., Gu, F., & Xu, Y. (2023). HMGB1 induces macrophage pyroptosis in chronic endometritis. *International immunopharmacology*, 123, 110706. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110706>

193. Fan, X., Yang, Y., Wen, Q., Li, Y., Meng, F., Liao, J., Chen, H., Lu, G. X., Lin, G., & Gong, F. (2021). CD19 and intraglandular CD163-positivity as prognostic indicators of pregnancy outcome in CD138-negative women with a previous fresh-embryo-transfer failure. *Journal of reproductive immunology*, 147, 103362. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2021.103362>

194. Ramesh, V., Brabletz, T., & Ceppi, P. (2020). Targeting EMT in Cancer with Repurposed Metabolic Inhibitors. *Trends in cancer*, 6(11), 942–950. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.06.005>
195. Pastushenko, I., & Blanpain, C. (2019). EMT Transition States during Tumor Progression and Metastasis. *Trends in cell biology*, 29(3), 212–226. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.12.001>
196. Seeneevassen, L., Bessède, E., Mégraud, F., Lehours, P., Dubus, P., & Varon, C. (2021). Gastric Cancer: Advances in Carcinogenesis Research and New Therapeutic Strategies. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3418. <https://doi.org/10.3390/ijms22073418>
197. Xu, J., Fang, Y., Chen, K., Li, S., Tang, S., Ren, Y., Cen, Y., Fei, W., Zhang, B., Shen, Y., & Lu, W. (2022). Single-Cell RNA Sequencing Reveals the Tissue Architecture in Human High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 28(16), 3590–3602. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-22-0296>
198. Lüönd, F., Sugiyama, N., Bill, R., Bornes, L., Hager, C., Tang, F., Santacrose, N., Beisel, C., Ivanek, R., Bürglin, T., Tiede, S., van Rheenen, J., & Christofori, G. (2021). Distinct contributions of partial and full EMT to breast cancer malignancy. *Developmental cell*, 56(23), 3203–3221.e11. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.11.006>
199. Ishida, M., Takebayashi, A., Kimura, F., Nakamura, A., Kitazawa, J., Morimune, A., Hanada, T., Tsuta, K., & Murakami, T. (2020). Induction of the epithelial-mesenchymal transition in the endometrium by chronic endometritis in infertile patients. *PLoS ONE*, 16.
200. Hashimoto, Y., Tsuzuki-Nakao, T., Kida, N., Matsuo, Y., Maruyama, T., Okada, H., & Hirota, K. (2023). Inflammatory Cytokine-Induced HIF-1 Activation Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition in Endometrial Epithelial Cells. *Biomedicines*, 11(1), 210. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11010210>

201. Goyal, N., Singh, M., Sagar, N., Khurana, N., & Singh, I. (2021). Association of E-cadherin & vimentin expression with clinicopathological parameters in lingual squamous cell carcinomas & their role in incomplete epithelial mesenchymal transition. *The Indian journal of medical research*, 153(4), 484–491. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1409_18
202. van Roy, F., & Berx, G. (2008). The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 65(23), 3756–3788. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8281-1>
203. Wong, S. H. M., Fang, C. M., Chuah, L. H., Leong, C. O., & Ngai, S. C. (2018). E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications. *Critical reviews in oncology/hematology*, 121, 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.11.010>
204. Paulin, D., Liliénbaum, A., Kardjian, S., Agbulut, O., & Li, Z. (2022). Vimentin: Regulation and pathogenesis. *Biochimie*, 197, 96–112. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2022.02.003>
205. Kuburich, N. A., den Hollander, P., Pietz, J. T., & Mani, S. A. (2022). Vimentin and cytokeratin: Good alone, bad together. *Seminars in cancer biology*, 86(Pt 3), 816–826. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.12.006>
206. Paravati, R., De Mello, N., Onyido, E. K., Francis, L. W., Brüsehafer, K., Younas, K., ... & Margarit, L. (2020). Differential regulation of osteopontin and CD44 correlates with infertility status in PCOS patients. *Journal of Molecular Medicine*, 98, 1713-1725.
207. Pazhohan, A., Amidi, F., Akbari-Asbagh, F., Seyedrezazadeh, E., Aftabi, Y., Abdolalizadeh, J., Khodarahmian, M., Khanlarkhani, N., & Sobhani, A. (2018). Expression and shedding of CD44 in the endometrium of women with endometriosis and modulating effects of vitamin D: A randomized exploratory trial. *The Journal of steroid*

biochemistry and molecular biology, 178, 150–158.
<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.12.001>

208. Weng, X., Maxwell-Warburton, S., Hasib, A., Ma, L., & Kang, L. (2022). The membrane receptor CD44: novel insights into metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 33(5), 318–332. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2022.02.002>

209. Gargett, C. E., Schwab, K. E., & Deane, J. A. (2016). Endometrial stem/progenitor cells: the first 10 years. *Human reproduction update*, 22(2), 137–163. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv051>

210. Zhu, R., Wang, S. C., Sun, C., Tao, Y., Piao, H. L., Wang, X. Q., Du, M. R., & Da-Jin Li (2013). Hyaluronan-CD44 interaction promotes growth of decidual stromal cells in human first-trimester pregnancy. *PloS one*, 8(9), e74812. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074812>

211. Hussein-Akram, F., Haroun, S., Altmäe, S., Skjöldebrand-Sparre, L., Åkerud, H., Poromaa, I. S., Landgren, B. M., & Stavreus-Evers, A. (2018). Hyaluronan-binding protein 2 (HABP2) gene variation in women with recurrent miscarriage. *BMC women's health*, 18(1), 143. <https://doi.org/10.1186/s12905-018-0618-9>

212. Hu, M., Cheng, Y. X., Yang, X., Yu, J., Huang, J., & Hong, L. (2018). Dysregulation of CD44v6 may lead to recurrent spontaneous abortion by inhibiting the proliferation and migration of trophoblast cells. *International journal of clinical and experimental pathology*, 11(4), 2072–2079.

213. Ross, J., Guaschino, S., Cusini, M., & Jensen, J. (2018). 2017 European guideline for the management of pelvic inflammatory disease. *International journal of STD & AIDS*, 29(2), 108–114. <https://doi.org/10.1177/0956462417744099>

214. Dabbs, David J. (2019). *Diagnostic Immunohistochemistry : Theranostic and Genomic Applications*. Fifth edition. Philadelphia, PA: Elsevier, 932
215. Bilyk, O.O. & Vorobyova L.I. (2006). Immunohistochemical detection of the expression of p53, p21waf1/cip1, p16ink4a and ki-67 proteins in epithelial cells of patients with glandular and atypical endometrial hyperplasia glandular and atypical endometrial hyperplasia]. *Oncology*, 8 (2), 192-195
216. Chatzipantelis, P., Koukourakis, M., Balaska, K., & Giatromanolaki, A. (2022). Endometrial Stromal Expression of ER, PR, and B-Catenin Toward Differentiating Hyperplasia Diagnoses. *International journal of surgical pathology*, 30(5), 492–498. <https://doi.org/10.1177/10668969211065110>
217. Avramenko, N. V., Gridina, I. B., & Lomeyko, H. A. (2015). Khronicheskyy endometrit kak faktor narusheniya reproduktivnogo zdorov'ya zhenshchin [Chronic endometritis as a factor in women's reproductive health disorders]. *Zaporiz'kiy medichniy zhurnal*, (6). Retrieved from <http://zmj.zsmu.edu.ua/article/download/56307/54642> [in Ukrainian]
218. Pyrohova, V. I., & Kozlovs'kyy, I. V. (2015). Reabilitatsiya reproduktyvnoyi funktsiyi u zhinok z khronichnym endometrytom [Rehabilitation of reproductive function in women with chronic endometritis]. *Zdorov'e zhenshchyny*, (2), 94-96. [in Ukrainian]
219. Abdullayev, V. E. O. (2023). Kliniko-patohenetychni aspekty hiperproliferatyvnykh protsesiv endometriya asotsiyovanykh z khronichnym endometrytom [Clinical and pathogenetic aspects of endometrial hyperproliferative processes associated with chronic endometritis]. *KHIASM. Abstracts of VI International Scientific and Practical Conference*, 118-119. [in Ukrainian]

220. Nevhadovs'ka, P. M., & Chechuha, S. B. (2023). Diahnastyka khronichnoho endometrytu u zhinok iz zvychnym nevnoshuvanniam khvoroby [Diagnosis of chronic endometritis in women with recurrent miscarriage]. *Naukovyy visnyk Uzhhorods'koho universytetu. Seriya «Medytsyna»*, (1 (67)), 57-60. [in Ukrainian]
221. Inhorn MC., Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum. Reprod. Update*. 2015; 4: 411–426. DOI: 10.1093/humupd/dmv016.
222. Susidko, O. (2023). Morfolohichni osoblyvosti endometriya u zhinok z reproduktyvnymy vtratamy na tli khronichnoho endometrytu [Morphological features of the endometrium in women with reproductive losses against the background of chronic endometritis]. *Perinatology and reproductology: from research to practice*, 3(3), 92-98. [in Ukrainian]
223. Li Y, Xu S, Yu S, et al. Diagnosis of chronic endometritis: How many CD138+ cells/HPF in endometrial stroma affect pregnancy outcome of infertile women?. *American journal of reproductive immunology*. 2021; 85(5). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aji.13369>. DOI:10.1111/aji.13369
224. Kovalenko, S. V. (2014). Vplyv persystu val'noho zapalennya pry khronichnomu obstruktyvnomu zakhvoryuvanni lehen' na stan slyzovykh bar'yeriv bronkhiv i kyshechnyku (ohlyad literatury) [The effect of persistent inflammation in chronic obstructive pulmonary disease on the condition of the mucous barriers of the bronchi and intestines (literature review).]. *Bukovyns'kyy medychnyy visnyk*, 18(4), 200-204.
225. Vdovychenko, YU. P., Holyanovs'kyy, O. V., & Lopushyn, I. V. (2012). Leyomioma matky: etiopatohenez, profilaktyka, diahnostyka ta likuvannya (ohlyad literatury) [Leiomyoma of the uterus:

etiopathogenesis, prevention, diagnosis and treatment (literature review).].
Zdorov'e zhenshchyny, (3), 52-61. [in Ukrainian]

226. Parvanov, D., Ganeva, R., Vidolova, N., & Stamenov, G. (2021). Decreased number of p16-positive senescent cells in human endometrium as a marker of miscarriage. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 38(8), 2087–2095. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02182-5>

227. Gibson, O. O., & Makarchuk, O. M. (2021). Peculiarities of treatment and prevention of recurrences in women with intrauterine pathologies. *Journal of Education, Health and Sport*, 11(1), 269-276.

228. Aleksyeyeva, O. S., & Harkavenko, K. V. (2023). Morfofunktsional'na kharakterystyka endometriyi u zhinok z anomal'nymy matkovymy krovotechamy na tli ekstrahenital'noyi patolohiyi. *Visnyk mors'koyi medytsyny*, 1(98), 100-106. [in Ukrainian]

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор комунального
некомерційного підприємства
«МІСЬКИЙ ПЕРИНАТАЛЬНИЙ
ЦЕНТР» Харківської міської ради
Світлана КОРОВАЙ

«25» 04 2023 р.



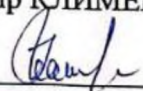
АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб оцінки успішності проведеної терапії хронічного ендометриу у жінок з безпліддям».
2. Ким і коли запропонований: асп. Кірія Д.Г. (61037, м. Харків, пр-т. Героїв Харкова, 195).
Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Кірія Д.Г. (2023). Assessment of the receptivity of the endometrium to steroid hormones in women with chronic endometritis. Periodyk naukowy Akademii Polonijnej, 56(1),419-24.
3. Де і коли введено: патологоанатомічне відділення.
4. Форма впровадження: імуногістохімічне дослідження з вивченням імунологічних особливостей ендометрію у жінок з хронічним ендометритом.
7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): оптимізація алгоритмів контролю лікування хронічного ендометриу.
8. Зауваження, пропозиції: немає.

Відповідальний(і) за впровадження
завідувач патологоанатомічним
відділенням

25.04.2023 р.
(дата)

Володимир КЛИМЕНТЬЄВ


(підпис)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор з науково -
педагогічної роботи

Полтавського державного медичного

університету

Валентин ДВОРНИК



17 травня 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб оцінки успішності проведеної терапії хронічного ендометриту у жінок з безпліддям».

2. **Ким і коли запропонований:** Харківський державний медичний університет, кафедра патологічної анатомії та судово-медичної експертизи аспірант Кірія Д.Г. (61037, м. Харків, пр-т. Героїв Харкова, 195).

3. **Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Кірія Д.Г. (2023). Assessment of the receptivity of the endometrium to steroid hormones in women with chronic endometritis. *Periodyk naukowy Akademii Polonijnej*, 56(1), 419-24.

4. **Де і коли введено:** кафедра патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету.

5. **Результати застосування методу за період з лютого 2022 р. по травень 2023 р.:** Впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі здобувачами вищої освіти, лікарями-інтернами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.

7. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** Поглиблення знань здобувачів вищої освіти, лікарів-інтернів з питань клініко морфологічних та імуногістохімічних критеріїв оцінки ефективності лікування хронічного ендометриту.

8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Пропозиція обговорена та затверджена на кафедральному засіданні (протокол №1 9 від 07 червня 2023 року).

Відповідальний(і) за впровадження
завідувач кафедри
патологічної анатомії та судової медицини
Полтавського державного медичного університету
д. мед. н., професор

Іван СТАРЧЕНКО

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор ТОВ
«ПРИВАТ КЛІНІК»
Кирил МЯСОСЛОВ



_____ 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб оцінки успішності проведеної терапії хронічного ендометриу у жінок з безпліддям».
- 2. Ким і коли запропонований:** асп. Кірія Д.Г. (61037, м. Харків, пр-т. Героїв Харкова, 195).
Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Кірія Д.Г. (2023). Прогностична роль експресії маркерів ki-67 та bcl-2 при хронічному ендометриті у жінок з безпліддям. Integration of scientific solutions and methods into practice. Abstracts of XVI International Scientific and Practical Conference. (м. Париж, Франція, 24-26 квітня 2023 р.), Париж, 2023 р. С. 193-195
- 3. Де і коли введено:** відділення гінекології медичного центру «Da Vinci»
- 4. Форма впровадження:** імуногістохімічне дослідження з вивченням імунологічних особливостей ендометрію у жінок з хронічним ендометритом.
- 7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації** (п.3): оптимізація алгоритмів контролю лікування хронічного ендометриу.
- 8. Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний(і) за впровадження
Лікар
акушер-гінеколог

22.05.2023р.
(дата)

Діана КІРІЯ
(підпис)

ЗАТВЕРДЖУЮ
В.о. директора КП «Полтавське
обласне патологоанатомічне бюро
Полтавської обласної ради»
Вадим КРАВЕЦЬ
 Ідент. код
 13962601
 14 вересня 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ


1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб оцінки успішності проведеної терапії хронічного ендометриу у жінок з безпліддям».
2. **Ким і коли запропонований**: асп. Кірія Д.Г. (61037, м. Харків, пр-т. Героїв Харкова, 195).
Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Kiriya D. & Yakovtsova I.I. (2023). Dynamics of VEGF expression in the endometrium in patients with CE before and after therapy. Sectoral research XXI: characteristics and features. Abstracts of VI International Scientific and Theoretical Conference. (м. Чикаго, США, 8 вересня 2023 р.), Чикаго, 2023 р. С. 144-146
3. **Де і коли введено**: патологоанатомічне відділення.
4. **Форма впровадження**: імуногістохімічне дослідження з вивченням імунологічних особливостей ендометрію у жінок з хронічним ендометритом.
5. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації** (п.3): оптимізація алгоритмів контролю лікування хронічного ендометриу.
6. **Зауваження, пропозиції**: немає.

Відповідальний(і) за впровадження
В.о. директора КП «ПОПАБ»

14 вересня 2023
 (дата)

ОКРУГОНІ ЗДОРОВ'Я ПОЛТАВСЬКОЇ ОБЛАСНОЇ РАДИ
 КОМУНАЛЬНЕ ПІДПРИЄМСТВО
 «ПОЛТАВСЬКЕ ОБЛАСНЕ ПАТОЛОГОАНАТОМІЧНЕ БЮРО»
Вадим КРАВЕЦЬ
 ПОЛТАВСЬКЕ ОБЛАСНЕ ПАТОЛОГОАНАТОМІЧНЕ БЮРО
 Ідент. код
 13962601
 (підпис)

ЗАТВЕРДЖУЮ


Пропонується з наукової роботи
Харківського національного медичного університету
проф. Валерій М'ЯСОЄДОВ
«02» 10 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: «Оцінка імуногістохімічного профілю ендометрію з використанням маркерів E-kadherin та Vimentin у жінок з безпліддям для контролю якості лікування».
2. Ким і коли запропонований: аспірантка кафедри патологічної анатомії та судово-медичної експертизи Харківського національного медичного університету Д.Г. Кірія (61000, м. Харків, проспект Науки, 4).
3. Джерело інформації: Кірія Д.Г. (2023). Роль епітеліально-мезенхімальної трансформації у безплідді, викликаному хронічним ендометритом. Вісник проблем біології і медицини, 1 (168), 343-351. doi: 10.29254/2077-4214-2023-1-168-343-351.
4. Де і коли впроваджено: кафедра патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, 2023 р.
5. Результати застосування методу за період з жовтня 2023 по грудень 2023 р.: Впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): Використання результатів роботи в навчальному процесі та науково-дослідній роботі дозволяє поглибити знання студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів і аспірантів, а також удосконалити діагностику, прогноз перебігу і оцінку ефективності проведеного лікування хронічного ендометриу в пацієнток з безпліддям.
7. Зауваження, пропозиції: немає.

Відповідальний(і) за впровадження:

В.о. завідувача кафедри
патологічної анатомії ХНМУ,
доктор медичних наук, професор

Ірина СОРОКІНА

(підпис)

01.10.2023 р.
(дата)

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА
ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ**

*Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати
дисертації*

1. Kiriya D. (2023). Assessment of the receptivity of the endometrium to steroid hormones in women with chronic endometritis. *Periodyk naukowy Akademii Polonijnej*, 56 (1), 419-424. doi: <https://doi.org/10.23856/5657>

2. Кірія Д.Г. (2023). Роль епітеліально-мезенхімальної трансформації у безплідді, викликаному хронічним ендометритом. *Вісник проблем біології і медицини*, 1 (168), 343-351. doi: 10.29254/2077-4214-2023-1-168-343-351

3. Кірія Д.Г. (2023). Структурний аналіз причин жіночого безпліддя у лікувальних закладах м. Харків. *Східноєвропейський журнал внутрішньої та сімейної медицини*, 1, 97-101. doi: 10.15407/internalmed2023.01.097

*Публікації, які додатково відображають наукові результати
дисертації:*

4. Данилюк С.В., Кірія Д.Г., Долгая О.В. & Олійник А.Є. (2020). Патогістологічні та імуногістохімічні особливості ендометрія при хронічному ендометриті у жінок з безпліддям (огляд літератури). *Вісник проблем біології і медицини*, 4 (158), 13-17. doi: 10.29254/2077-4214-2020-4-158-13-17

*Друковані роботи, які засвідчують апробацію матеріалів
дисертаційної роботи:*

5. Кірія Д.Г. (2023). Прогностична роль експресії маркерів кі-67 та bcl-2 при хронічному ендометриті у жінок з безпліддям. *Integration of scientific solutions and methods into practice. Abstracts of XVI International Scientific*

- and Practical Conference. (м. Париж, Франція, 24-26 квітня 2023 р.), Париж, 2023 р. С. 193-195
6. Kiriya D. (2023). Prognostic role of apoptosis markers in chronic endometritis in women with infertility. Scientists and modern theoretical ideas. Abstracts of XXXV International Scientific and Practical Conference. (м. Хайфа, Ізраїль, 4-6 вересня 2023 р.), Хайфа, 2023 р. С. 114-117
7. Kiriya D. & Yakovtsova I.I. (2023). Dynamics of VEGF expression in the endometrium in patients with CE before and after therapy. Sectoral research XXI: characteristics and features. Abstracts of VI International Scientific and Theoretical Conference. (м. Чікаго, США, 8 вересня 2023 р.), Чікаго, 2023 р. С. 144-146
8. Кірія Д. (2023). Зниження експресії маркера p16 як предиктор повторюваних викиднів у жінок з хронічним ендометритом. Modern problems and the latest theories of development. Матеріали XXXVI міжнародної науково-практичної конференції. (м. Мюнхен, Німеччина, 11-13 вересня 2023 р.), Мюнхен, 2023 р. С. 170-173
9. Hryhorenko, V. & Kiriya, D. (2024). Assessment of clinical features of endometrium in chronic endometritis. Problems of integration of education, science and business in globalization. Abstracts of VI International Scientific and Practical Conference. (м. Софія, Болгарія, 5-7 лютого 2024 р.), Софія, 2024 р. С. 182-184
10. Григоренко, В.Р. & Кірія, Д.Г. (2024). Морфологічні особливості ендометрію при хронічному ендометриті. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Наука, освіта і технології: світові тенденції та регіональний аспект» (м. Тампере, Фінляндія, 3 лютого 2024 р.), Тампере, 2024 р., . С. 30-32

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 20:40:57 17.03.2024

Назва файлу з підписом: Дисертація Кірія 11.03.2024.pdf

Розмір файлу з підписом: 5.9 МБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Дисертація Кірія 11.03.2024.pdf

Розмір файлу без підпису: 5.9 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Кірія Діана Гогіївна

П.І.Б.: Кірія Діана Гогіївна

Країна: Україна

РНОКПП: 2819522668

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 20:40:50 17.03.2024

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг

Серійний номер: 382367105294AF9704000000E7CD6A0044B51D02

Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Кваліфікований

Тип контейнера: Підписаний PDF-файл (PAdES)

Формат підпису: З повними даними для перевірки (PAdES-B-LT)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2023.12.21 13:00