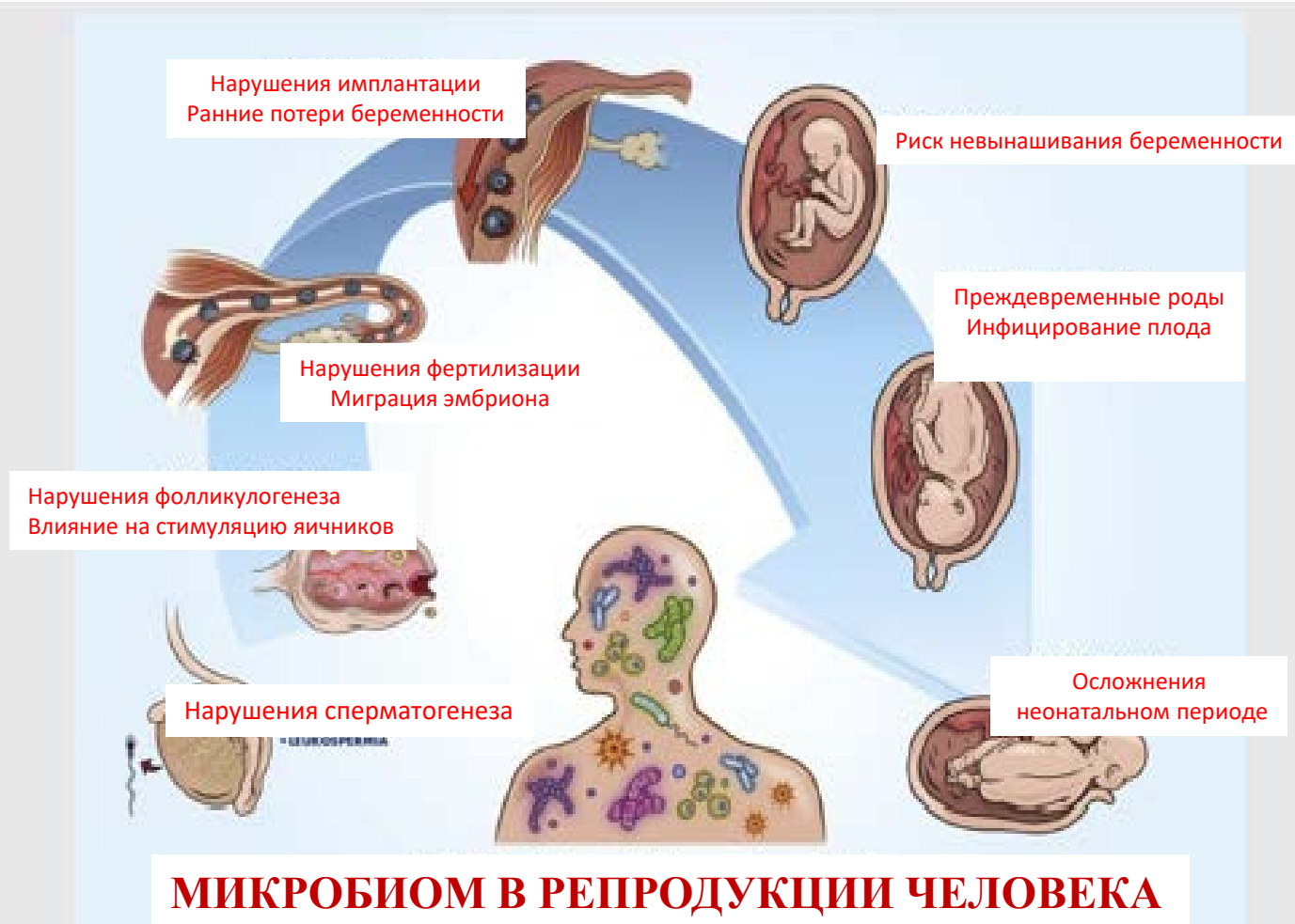


Коган И.Ю., Савичева А.М., Цыпурдеева Н.Д.
НИИ АГиР им.Д.О.Отта, Санкт-Петербург

МИКРОБИОТА ЭНДОМЕТРИЯ: РОЛЬ В ГЕНЕЗЕ В ИНФЕРТИЛЬНОСТИ



Начало XXI века – период интенсивного изучения микробиома человека

«Эндометрий» – «микробиота» – «рецептивность»

- 1. Нарушение морфо-функциональных свойств («рецептивности») эндометрия - детерминанта нарушения фертильности женщины
- 2. ВЗОМТ, в том числе хронический эндометрит - одна из причин нарушения рецептивных свойств эндометрия
- 3. Консенсусных решений по вопросам этиологии, патогенеза, диагностики и терапии хронического эндометрита нет
- 4. Сегодня хронический эндометрит - тема для частых и острых научно-практических дискуссий
- 5. Вопрос роли микробиоты эндометрия в генезе хронического воспаления и ассоциированной с ним инфертильности находится в контенте общей теории хронического воспаления и его последствий для функциональной системы репродукции

«Очень важным в теоретическом и особенно в практическом отношении вопрос о дальнейшей судьбе этиологического фактора после того, как болезнь началась. Речь идет о том, сохраняет ли причина болезни свое значение на всем её протяжении или, как говорят некоторые исследователи, «запустив» патологический процесс, она уже больше не играет роли в его прогрессировании и рецидивировании, отходит на второй план или вовсе исчезает, уступив место другим факторам?...»

академик Саркисов Д.С.

«Очерки истории общей патологии», 1988

- *Viniker (1999), Romero et al. (2004)* для определения роли микроорганизмов эндометрия в генезе нарушений имплантации эмбриона использовали гипотезу «*субклинической эндометриальной инфекции*»
-

- Полость матки не стерильна
-

- Получены данные о составе микробиоты эндометрия:
 - *в эндометрии гистерэктомизированной матки (Mitchell et al., 2015)*
 - *ВЗОМТ, хроническом эндометрите (Haggerty et al., 2014, 2016; Cicinelli et al., 2008)*
 - *бесплодии (Polisseni F et al., 2004)*
 - *повторных неудачах имплантации (Cicinelli et al., 2015)*
 - *неразвивающейся беременности (Краснопольский В.И. и соавт., 2004)*
 - *у условно здоровых пациенток (Cicinelli et al., 2008, 2009, 2014; Horner et al., 2014, Moreno et al., 2017)*
-

- разные методы получения материала для исследования
- риск контаминации материала содержимым влагалища и цервикального канала
- различные методы микробиологического анализа

Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies

Ettore Cicinelli, M.D.,^a Dominique De Ziegler, M.D.,^d Roberto Nicoletti, M.D.,^a
Giuseppe Colafiglio, M.D.,^a Nicola Saliani, M.D.,^a Leonardo Resta, M.D.,^b Donatella Rizzi, Ph.D.,^c
and Danila De Vito, M.D.^c

^a Department of Obstetrics and Gynaecology, ^b Department of Pathology, and ^c Department of Odontostomatology and Surgery, Faculty of Medicine, University of Bari, Bari, Italy; and ^d Division of Reproductive Medicine, University Hospital of Geneva and Lausanne, Switzerland

Objective: To evaluate the type and etiopathogenic role of infectious agents detected in endometrial cultures obtained from women with chronic endometritis (CE).

Design: Prospective controlled study.

Setting: University hospital.

Patient(s): 2190 women undergoing hysteroscopy for different indications.

Intervention(s): Vaginal and endometrial samples were collected from 438 women with a CE diagnosis at hysteroscopy and 100 women with no signs of CE (controls).

Main Outcome Measure(s): Histology and cultures for common bacteria, *Neisseria gonorrhoeae* and *Mycoplasma*, and molecular biology testing for *Chlamydia* were performed.

Result(s): We compared results of vaginal and intrauterine cultures obtained from women with and without CE. Histologic results were positive in 388 of these cases (88.6%), and at least one microorganism was found in 320 endometrial samples (73.1%). In the control group, histologic results and endometrial culture were positive in only 6% and 5% of cases, respectively. The most frequent infectious agents detected at the endometrial level were common bacteria (58% of cases). *Ureaplasma urealyticum* was detected in 10% and *Chlamydia* in only 2.7% of positive endometrial cultures. In only 143 (32.6%) cases were the same infectious agent isolated in endometrial and vaginal cultures.

Conclusion(s): More than 70% of CE cases resulted from nongonococcal, nonchlamydial infections. Common bacteria and *Mycoplasma* were the most frequent etiologic agents. Vaginal cultures have low concordance with endometrial cultures. (Fertil Steril® 2008;89:677–84. ©2008 by American Society for Reproductive Medicine.)

Key Words: Infectious agents, chronic endometritis, infertility, bacteria, Ur

TABLE 3

Number of cases positive for specific etiologic agents at vaginal and endometrial investigations in women with and without evidence of chronic endometritis at hysteroscopy.

Infectious agent	Chronic endometritis at hysteroscopy (n = 438)		Control group (n = 100)	
	Vagina	Endometrium ^a	Vagina	Endometrium
<i>Escherichia coli</i>	38	50 (20)	15	1
Streptococci	80	122 (60)	16	2
Staphylococci	0	20 (17)	1	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	22	62 (26)	7	1
<i>Chlamydia</i>	2	12 (11)	0	0
<i>Ureaplasma</i>	86	44 (26)	5	1
Yeast	26	10 (3)	10	0
Total	254	320	54	5

^a The number in parenthesis indicates the cases in which infertility was the indication for the hysteroscopy for each infectious agent detected at the endometrial level in women with chronic endometritis.

Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy

Ettore Cicinelli^{1,*}, Maria Matteo², Raffaele Tinelli³, Achiropita Lepera¹,
Raffaello Alfonso¹, Ugo Indraccolo⁴, Sonia Marrocchella²,
Pantaleo Greco², and Leonardo Resta⁵

PARTICIPATE N = 12

CRITERIA (N = 138)
for RIF (n = 24)

ility (n = 37)

3)

endometriosis (n = 20)

- diagnosis of endometrioma at TVS (n = 15)

ANALYZED (n = 106)

Excluded from analysis (n = 36)

No CE at hysteroscopy

Analyzed (n = 70)

Presence of CE at hysteroscopy

Excluded from analysis (n = 9)

No CE at histology

Analyzed (n = 61)

Presence of CE at hysteroscopy
and histology

Culture negative (n = 13)

Culture positive (n = 48)

Persistent CE
(n = 7)

Normal after
treatment (n = 6)

Persistent CE
(n = 8)

Normal after
treatment (n = 40)

techniques. Repeated implantation failure (RIF) is defined as failure to conceive following two or three embryo transfer cycles, or cumulative transfer of > 10 good quality embryos (El-Toukhy and Taranissi, 2006).

Figure 1 Diagram of the study and distribution of the population investigated. CE means chronic endometritis.

Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy

Ettore Cicinelli^{1,*}, Maria Matteo², Raffaele Tinelli³, Achiropita Lepera¹, Raffaello Alfonso¹, Ugo Indraccolo⁴, Sonia Marrocchella², Pantaleo Greco², and Leonardo Resta⁵

Table 1 Infectious agents found in endometrial cultures from 48 women with RIF.

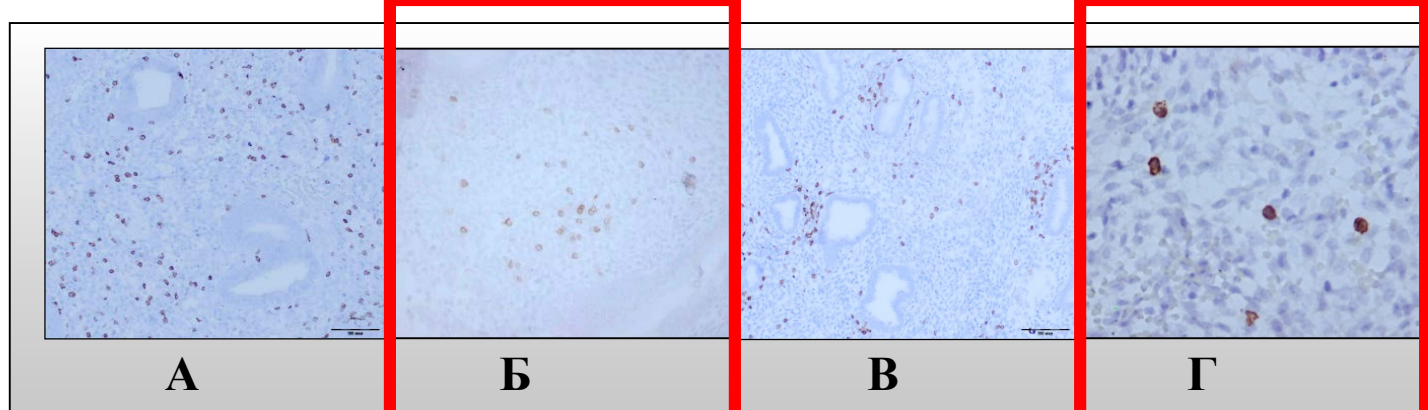
	No-(%)
* <i>Enterococcus faecalis</i>	16–(33)
<i>Mycoplasma/Ureaplasma</i>	14–(30)
* <i>Escherichia coli</i>	11–(23)
* <i>Streptococcus agalactiae</i>	5–(10)
<i>Chlamydia</i>	4–(8)
<i>Streptococcus bovis</i>	2–(4)
<i>Candida</i>	1–(2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1–(2)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1–(2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1–(2)
<i>Streptococcus milleri</i>	1–(2)

Forty patients tested positive for a single agent and had multiple positivity. In three cases ureaplasma and common bacteria coexisted.

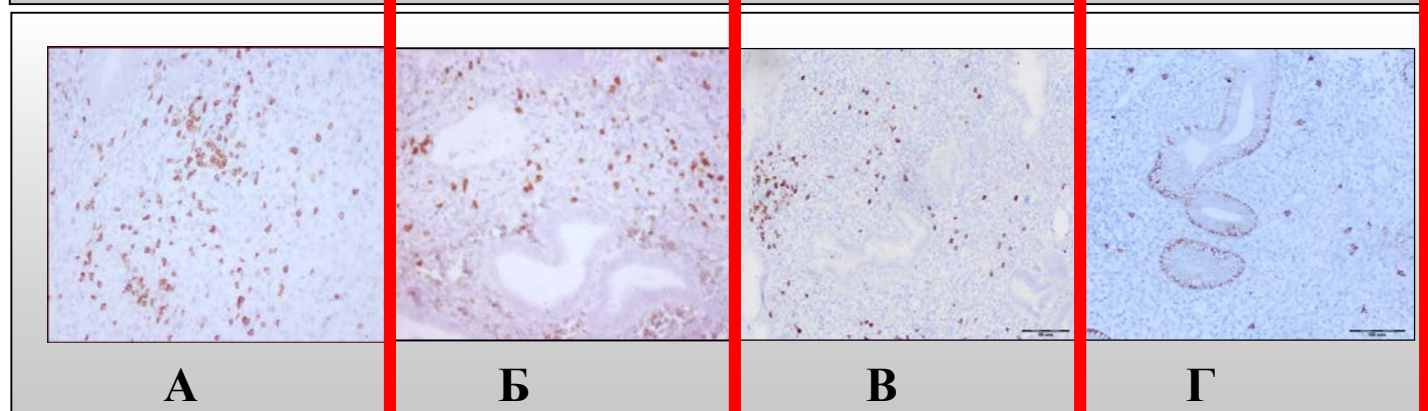
*Infectious agents with persistent positivity.

Микробиота эндометрия

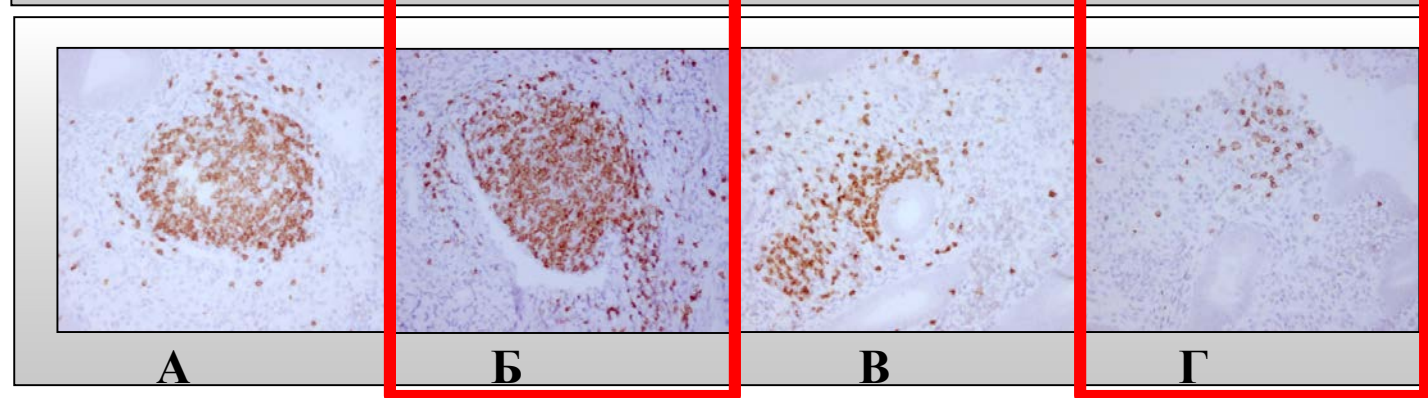
- Источник
- Состав
- Факторы, определяющие таксонометрический профиль
- Механизм негативного влияния на имплантацию
- Возможные способы коррекции нарушений



**«Слабо
выраженный»
хронический
эндометрит**



**«Умеренно
выраженный»
хронический
эндометрит**



**«Выраженный»
хронический
эндометрит**

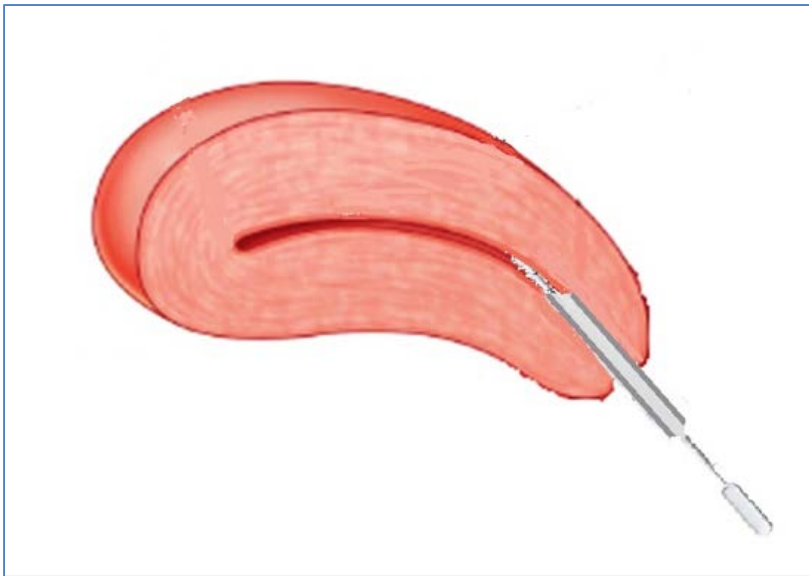
CD8+
×200

CD20+
×200

CD 4+
×200

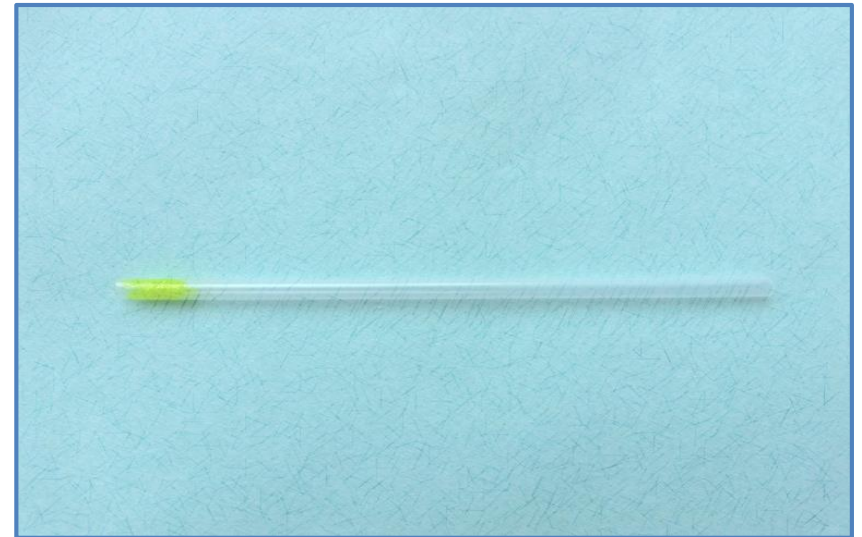
CD138+
×400

Способ получения материала для микробиологического исследования эндометрия



Пайпель-биопсия (Pipelle de Cornier)

n=107

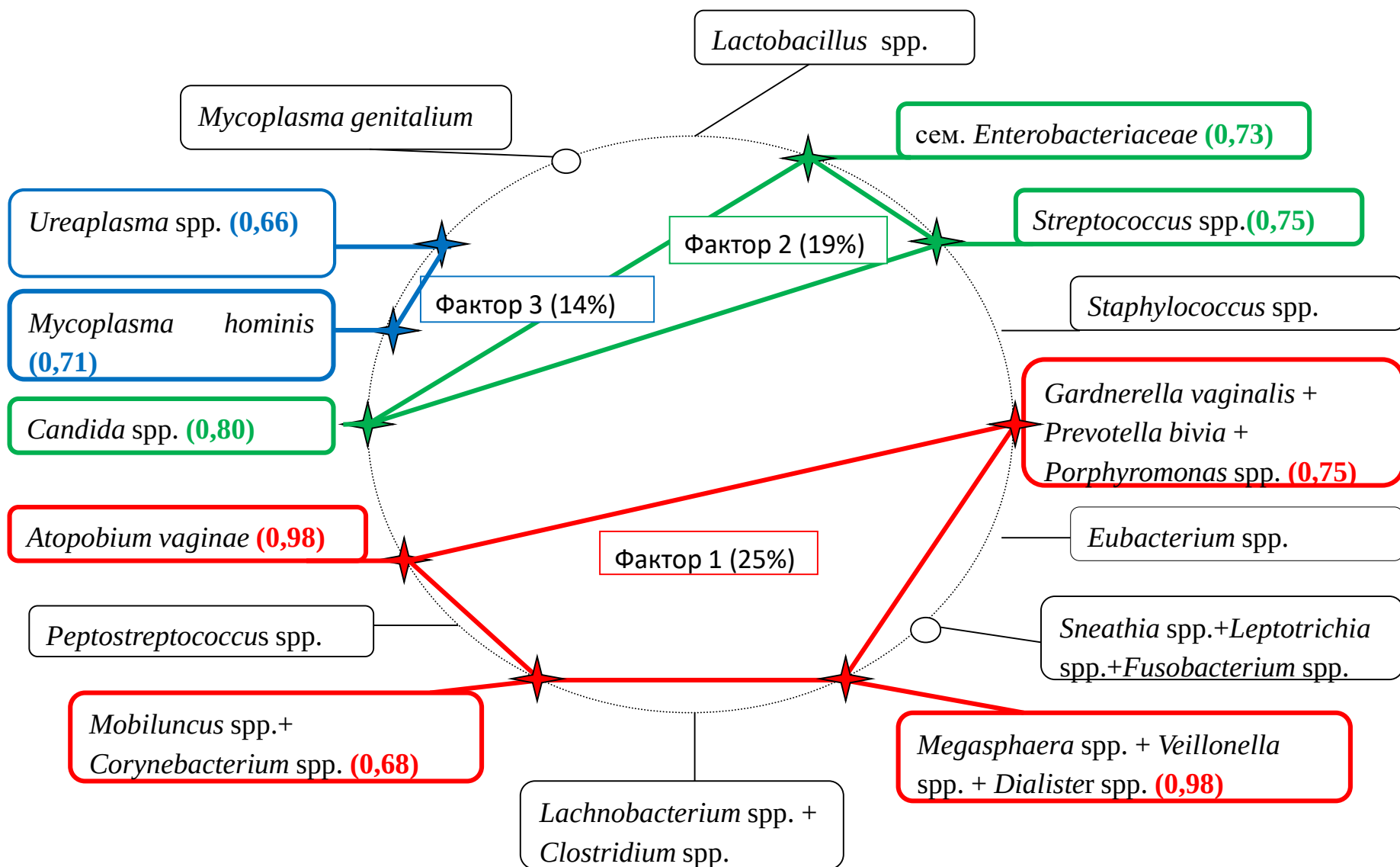


**Проводник из поливинилхлоридного
материала (диаметр 3мм)**

**Рейтинг частоты выделения микроорганизмов (PCR)
в группе пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе (107)
(нет морфологических признаков ХЭ)**

Микроорганизм	Частота	
<i>Lactobacillus spp.</i>	12 (85,7%)	>50%
<i>Eubacterium spp.</i>	11 (78,6%)	
<i>Staphylococcus spp.</i>	7 (50%)	
<i>Ureaplasma (urealyticum+parvum)</i>	6 (42,9%)	25-50%
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	5 (35,7%)	
<i>Candida spp.</i>	4 (28,6%)	
<i>Mycoplasma hominis</i>	4 (28,6%)	
<i>Lachnobacterium spp.</i> + <i>Clostridium spp.</i>	4 (28,6%)	
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas spp.</i>	3 (21,4%)	10-25%
<i>Mobiluncus spp.</i> + <i>Corynebacterium spp.</i>	3 (21,4%)	
<i>Streptococcus spp.</i>	1 (7,1%)	<10%
<i>Megasphaera spp.</i> + <i>Veillonella spp.</i> + <i>Dialister spp.</i>	1 (7,1%)	
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	1 (7,1%)	
<i>Atopobium vaginae</i>	1 (7,1%)	
<i>Sneathia spp.</i> + <i>Leptotrichia spp.</i> + <i>Fusobacterium spp.</i>	0 (0%)	
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0 (0%)	

Структура взаимосвязей микроорганизмов в эндометрии пациенток I группы



Процентом (%) обозначена доля объясняемой фактором дисперсии, цифровое значение в скобках – факторная нагрузка.

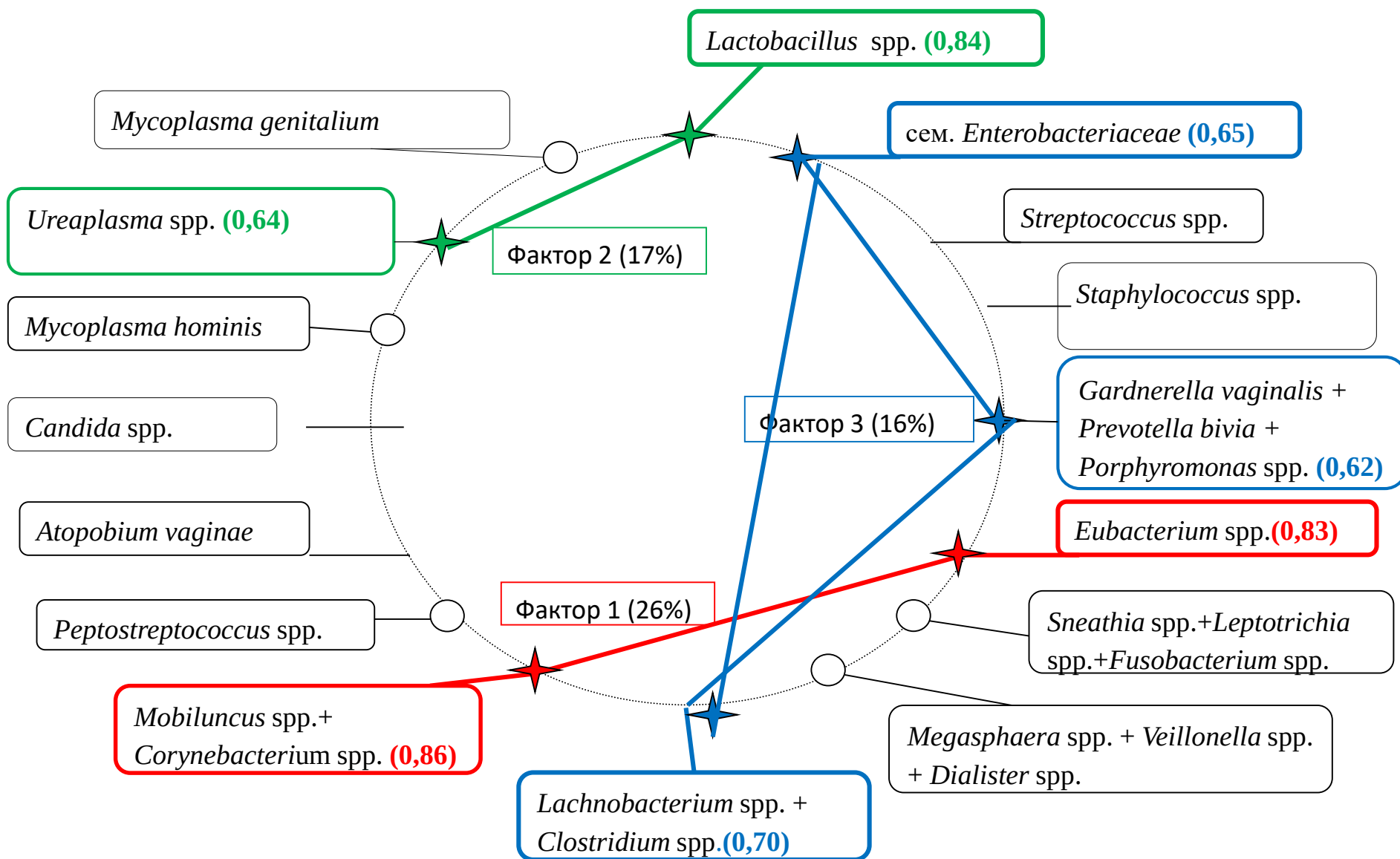
Особенности таксонометрического профиля микробиотопа эндометрия при отсутствии признаков хронического воспаления

- преобладание *Lactobacillus spp.* (86%)
- формирование ассоциации облигатно-анаэробных микроорганизмов
 - *Atopobium vaginae*
 - *Mobiluncus spp.*
 - *Corynebacterium sp.*
 - *Megasphaera spp.*
 - *Veillonella spp.*
 - *Dialister sp.*
 - *Gardnerella vaginalis*
 - *Prevotella bivia*
 - *Porphyromonas spp.*

Рейтинг частоты выделения микроорганизмов (PCR)
группе пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе
 (CD 138+ (плазмоциты) – единичные клетки)

Микроорганизм	Частота	
<i>Staphylococcus spp.</i>	16 (80%)	>50%
<i>Streptococcus spp.</i>	11 (55%)	
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 (50%)	
<i>сем. Enterobacteriaceae</i>	10 (50%)	
<i>Eubacterium spp.</i>	5 (25%)	25-50%
<i>Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.</i>	4 (20%)	10-25%
<i>Ureaplasma (urealyticum+parvum)</i>	4 (20%)	
<i>Atopobium vaginae</i>	3 (15%)	
<i>Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.</i>	3 (15%)	
<i>Mobiluncus spp.+ Corynebacterium spp.</i>	3 (15%)	
<i>Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.</i>	0 (0%)	<10%
<i>Candida spp.</i>	2 (10%)	
<i>Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp.</i>	0 (0%)	
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	0 (0%)	
<i>Mycoplasma hominis</i>	0 (0%)	
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0 (0%)	

Структура взаимосвязей микроорганизмов в эндометрии

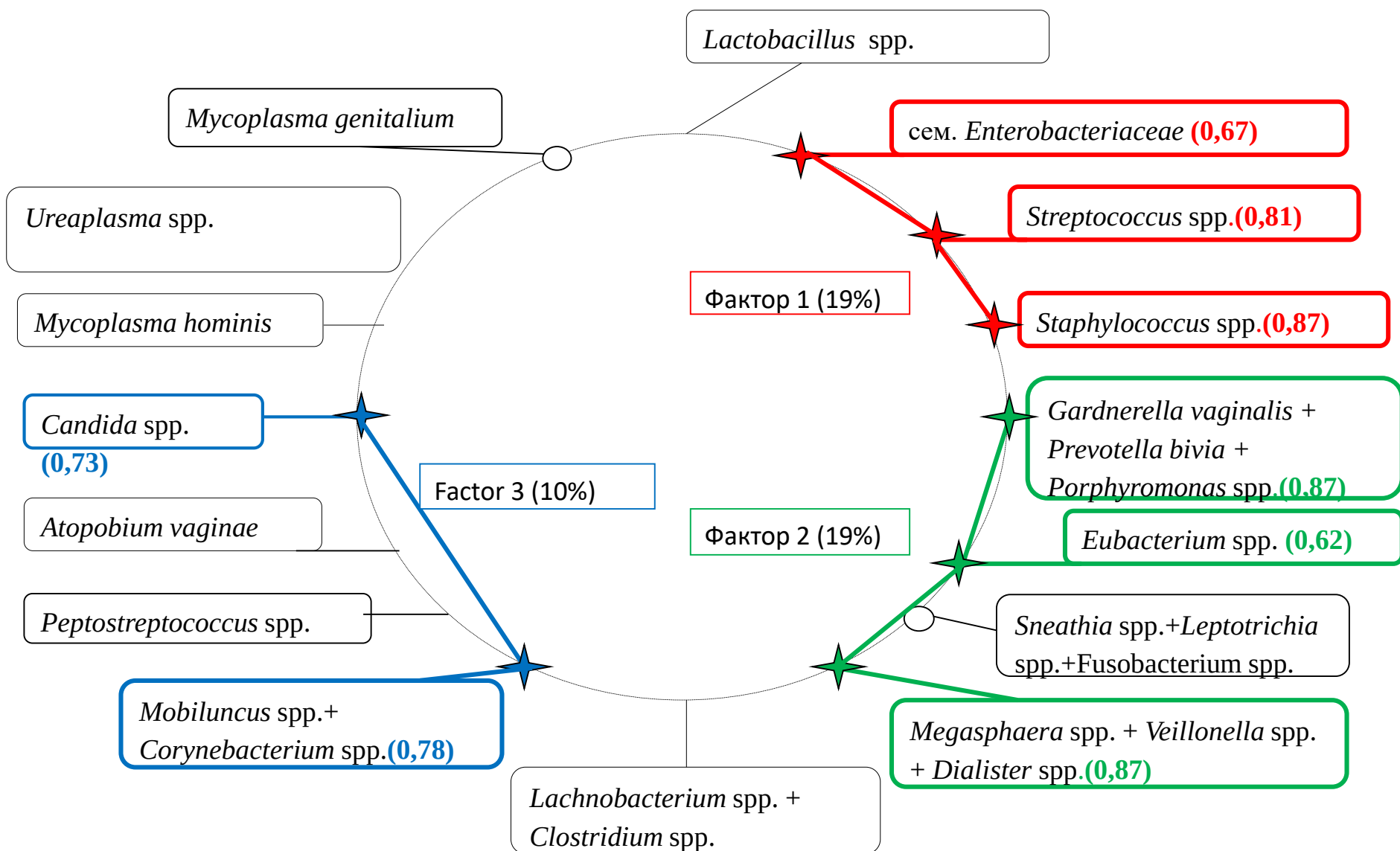


Процентом (%) обозначена доля объясняемой фактором дисперсии, цифровое значение в скобках – факторная нагрузка.

Рейтинг частоты выделения микроорганизмов (PCR)
в группе пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе
 (CD 138+ (плазмоциты) – значительное увеличение содержания, >5 раз)

Микроорганизм	n=73	
<i>Staphylococcus spp.</i>	49 (67,1%)	>50%
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	47 (64,4%)	
<i>Streptococcus spp.</i>	41 (56,2%)	
<i>Lactobacillus spp.</i>	34 (46,6%)	25-50%
<i>Eubacterium spp.</i>	26 (35,6%)	
<i>Atopobium vaginae</i>	20 (27,4%)	
<i>Candida spp.</i>	18 (24,6%)	10-25%
<i>Ureaplasma (urealyticum+parvum)</i>	15 (20,5%)	
<i>Lachnobacterium spp.</i> + <i>Clostridium spp.</i>	13 (17,8%)	
<i>Mycoplasma hominis</i>	13 (17,8%)	
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas spp.</i>	8 (10,9%)	
<i>Mobiluncus spp.</i> + <i>Corynebacterium spp.</i>	8 (10,9%)	
<i>Megasphaera spp.</i> + <i>Veillonella spp.</i> + <i>Dialister spp.</i>	3 (4,1%)	<10%
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	2 (2,7%)	
<i>Sneathia spp.</i> + <i>Leptotrichia spp.</i> + <i>Fusobacterium spp.</i>	0 (0%)	
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0 (0%)	

Структура взаимосвязей микроорганизмов в эндометрии пациенток III группы



Процентом (%) обозначена доля объясняемой фактором дисперсии, цифровое значение в скобках – факторная нагрузка.

Особенности трансформации таксонометрического профиля микробиоты эндометрия при прогрессировании локальных иммунопатологических реакций в эндометрии

I. Увеличение частоты детекции:

- *Streptococcus spp.* (в 8 раз; до 56%)
- *Staphylococcus spp.* (в 1,5 раза; до 80%)
- бактерий *сем. Enterobacteriaceae* (в 1,5 раза; до 60%)
 - *Atopobium vaginae* (в 3,5 раза; до 27%)

II. Снижение частоты детекции:

- *Lactobacillus spp.* (до 50%)

III. Наличие ассоциаций облигатно-анаэробных микроорганизмов

Микроорганизмы
(условно-патогенные Г «-» бактерии и
кокки)



Бактериальный эндотоксин



TLR-2-рецепторы
TLR-4-рецепторы
клетки трофобласта



Усиление экспрессии
селектина Е,
хемокинов (CXCL13)
в эндотелии сосудов



Активация ИКК,
продукция
провоспалительных
цитокинов (TNF α , ИЛ1 β)



Активация апоптоза клеток
трофобласта



Обеспечение проникновения В-
лимфоцитов через сосудистую
стенку в строму и эпителий
эндометрия



Нарушение имплантации
Самопроизвольный выкидыш

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ

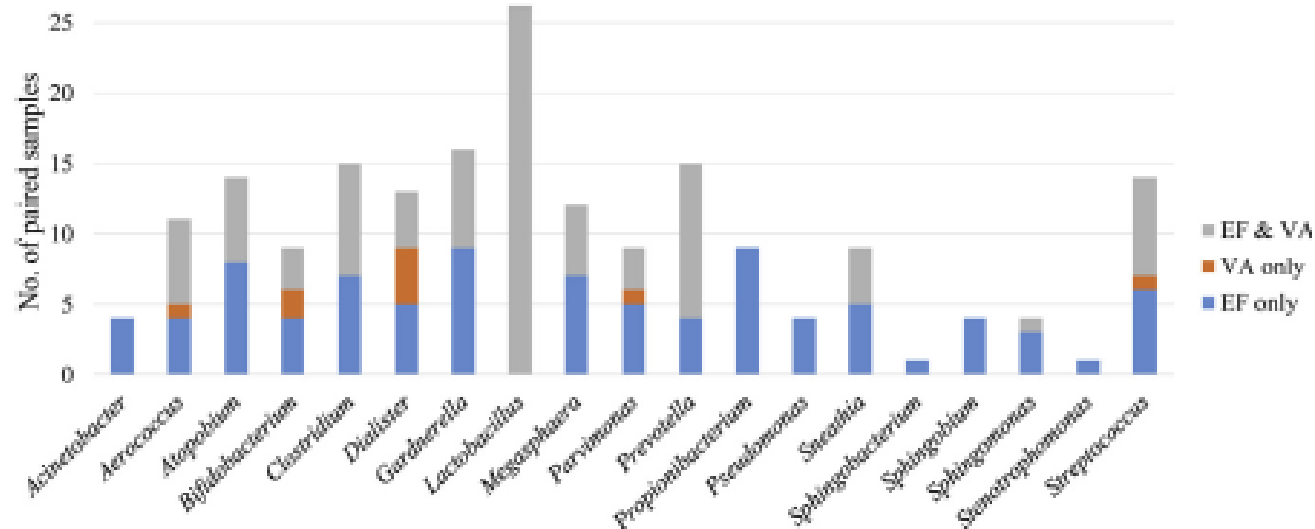
Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure



Inmaculada Moreno, PhD¹; Francisco M. Codoñer, PhD¹; Felipe Vilella, PhD¹; Diana Valbuena, MD, PhD;
Juan F. Martínez-Blanch, PhD; Jorge Jiménez-Almazán, PhD; Roberto Alonso; Pilar Alamá, MD, PhD;
Jose Remohí, MD, PhD; Antonio Pellicer, MD, PhD; Daniel Ramon, PhD²; Carlos Simon, MD, PhD²

FIGURE 4

Distribution of endometrial and vaginal microbiota in paired samples



Number of pair samples with detection of most abundant operational taxonomic units in vagina aspirate alone (VA), endometrial fluid (EF) alone, and in both VA and EF.

Moreno et al. Endometrial microbiota impacts reproductive potential. Am J Obstet Gynecol 2016.

Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure



Inmaculada Moreno, PhD¹; Francisco M. Codoñer, PhD¹; Felipe Vilella, PhD¹; Diana Valbuena, MD, PhD;
Juan F. Martínez-Blanch, PhD; Jorge Jiménez-Almazán, PhD; Roberto Alonso; Pilar Alamá, MD, PhD;
Jose Remohí, MD, PhD; Antonio Pellicer, MD, PhD; Daniel Ramon, PhD²; Carlos Simon, MD, PhD²

TABLE 2
Descriptive characteristics of subjects, cycles, transfers, and outcome results

Characteristics and outcomes	LDM, n = 17	NLDM, n = 15	P value
Age, y	40.06 ± 3.47	39.00 ± 5.09	.49
BMI, kg/m ²	24.18 ± 5.18	22.45 ± 4.02	.30
Previous pregnancies	1.71 ± 2.44	1.53 ± 2.32	.84
Previous miscarriages	1.53 ± 2.21	1.14 ± 1.56	.58
Metaphase II oocytes/cycle	11.94 ± 4.27	10.20 ± 4.81	.28
Fertilization rate/cycle	157/203 (77.34%)	118/153 (77.12%)	.62
Transferred embryos/cycle	1.65 ± 0.49	1.73 ± 0.59	.65
Time between EF and transfer, mo	2.82 ± 2.55	1.80 ± 1.08	.16
Pregnancy rate/transfer	12/17 (70.6%)	5/15 (33.3%)	.03 ^{a,b}
Implantation rate/transfer	17/28 (60.7%)	6/26 (23.1%)	.02 ^{a,b}
Ongoing pregnancy/transfer	10/17 (58.8%)	2/15 (13.3%)	.02 ^{a,b}
Miscarriage rates	2/12 (16.7%)	3/5 (60%)	.07
Live birth rate/transfer	10/17 (58.8%)	1 ^c /15 (6.7%)	.002 ^{a,b}

Values are mean ± SD unless otherwise noted.

BMI, body mass index; EF, endometrial fluid; LDM, *Lactobacillus*-dominated microbiota; NLDM, non-*Lactobacillus*-dominated microbiota.

^a χ^2 test and Student *t* test were performed; ^b *P* value < .05; ^c Voluntary termination of pregnancy.

Moreno et al. Endometrial microbiota impacts reproductive potential. Am J Obstet Gynecol 2016.