

## ЭКСПРЕССИЯ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ТИПА А В ЭНДОМЕТРИИ ПРИ МАТОЧНОЙ ФОРМЕ БЕСПЛОДИЯ

Л. М. Чуприненко<sup>1,2,\*</sup>, А. А. Славинский<sup>1</sup>, Е. С. Севостьянова<sup>1,2</sup>, А. А. Вережкин<sup>1</sup>,  
В. Л. Друшевская<sup>1</sup>, В. С. Котов<sup>1</sup>, В. А. Крутова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063, Россия

<sup>2</sup> Клиника Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Зиповская, д. 4/1, г. Краснодар, 350010, Россия

### Аннотация

**Цель:** определение уровня экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста типа А в оценке функционального состояния эндометрия при хроническом эндометрите у пациенток, страдающих бесплодием.

**Материалы и методы.** Исследованы биопсии эндометрия, полученные от 41 пациентки с хроническим эндометритом, который был диагностирован в качестве маточного фактора развития бесплодия. Группой сравнения стали 39 женщин с мужским фактором в развитии бесплодия и отсутствием воспалительных процессов в органах репродуктивной системы. Биопсию эндометрия брали в обе фазы менструального цикла: на 8–10-й день фолликулярной фазы и на 21–24-й день лютеиновой фазы. Иммуногистохимическое исследование эндометрия проводили с применением моноклональных антител к рецепторам сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-A. Количественную оценку результатов иммуногистохимической реакции осуществляли с помощью программного обеспечения с открытым кодом Image J. Критерием интенсивности экспрессии VEGF-A в тканях служил предложенный нами коэффициент площади окрашивания (КПО) — отношение суммарной площади продукта иммуногистохимической реакции к площади биоптата.

**Результаты.** У женщин с хроническим эндометритом интенсивность экспрессии VEGF-A в фазу пролиферации в 1,4 раза выше, чем в группе сравнения ( $p < 0,001$ ). Фаза секреции характеризуется превышением значений показателя в 1,9 раза по сравнению с женщинами без хронического эндометрита ( $p < 0,001$ ).

**Заключение.** При хроническом эндометрите наблюдается гиперэкспрессия VEGF-A различными клеточными компонентами эндометрия. Оценка результатов иммуногистохимического исследования, проведенная с помощью компьютерной морфометрии, позволила получить количественные показатели, характеризующие интенсивность экспрессии маркеров ангиогенеза в эндометрии на протяжении менструального цикла. Определение уровня экспрессии VEGF-A может быть использовано как дополнительный метод, повышающий качество биопсийной диагностики у пациенток с бесплодием.

**Ключевые слова:** хронический эндометрит, бесплодие, сосудистый эндотелиальный фактор роста А, иммуногистохимия, компьютерная морфометрия

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Чуприненко Л.М., Славинский А.А., Севостьянова Е.С., Вережкин А.А., Друшевская В.Л., Котов В.С., Крутова В.А. Экспрессия сосудистого эндотелиального

фактора роста типа А в эндометрии при маточной форме бесплодия. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2020; 27(1): 85–95. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-1-85-95>

Поступила 11.10.2019

Принята после доработки 15.12.2019

Опубликована 20.02.2020

## EXPRESSION OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR A IN THE ENDOMETRIUM IN UTERINE FACTOR INFERTILITY

Liudmila M. Chuprinenko<sup>1,2</sup>, Aleksandr A. Slavinsky<sup>1</sup>, Ekaterina S. Sevostyanova<sup>1,2</sup>, Aleksandr A. Verevkin<sup>1</sup>, Vicroria L. Drushevskaya<sup>1</sup>, Vadim S. Kotov<sup>1</sup>, Victoria A. Krutova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Kuban State Medical University,  
Mitrofana Sedina str., 4, Krasnodar, 350063, Russia

<sup>2</sup>Clinic of the Kuban state medical university,  
Zipovskaya str., 4/1, Krasnodar, 350010, Russia

### Abstract

**Aim.** To assess the expression of vascular endothelial growth factor A for evaluating the functional state of the endometrium in women suffering from infertility and chronic endometritis.

**Materials and methods.** Endometrium biopsy specimens obtained from 41 patients with uterine factor infertility (experimental group) were examined. A comparison group was composed of 39 women diagnosed with the “male factor” infertility exhibiting no inflammatory processes of the reproductive organs. An endometrial biopsy was performed in both phases of the menstrual cycle: on days 8–10 of the follicular phase and on days 21–24 of the luteal phase. The expression of vascular endothelial growth factor receptors was evaluated on the basis of immunohistochemical staining of the biopsy specimens using monoclonal antibodies. The results of the immunohistochemical reaction were quantified using the ImageJ software. A quantitative criterion — a stained area coefficient (per cent) representing the ratio of the immunohistochemical staining area to that of a biopsy specimen — was proposed for assessing the level of VEGF-A expression.

**Results.** In the chronic endometritis group, the intensity of VEGF-A expression was found to be 1.4 times higher than that in the comparison group during the proliferation phase ( $p < 0.001$ ). Expression values of the secretion phase were 1.9 times higher than those in the comparison group ( $p < 0.01$ ).

**Conclusion.** Chronic endometritis is characterized by an overexpression of VEGF-A by various endometrium cellular components. Interpretation of immunohistochemical stains using the method of computer morphometry allows quantitative indicators characterizing the intensity of angiogenesis marker expression in the endometrium during the menstrual cycle to be obtained. The level of VEGF-A expression can be used as an additional marker improving the quality of biopsy diagnostics in patients with infertility.

**Keywords:** chronic endometritis; infertility; vascular endothelial growth factor A; immunohistochemistry; computer morphometry

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Chuprinenko L.M., Slavinsky A.A., Sevostyanova E.S., Verevkin A.A., Drushevskaya V.L., Kotov V.S., Krutova V.A. Expression of vascular endothelial growth factor A in the endometrium in uterine factor infertility. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2020; 27(1): 85–95. (In Russ., English abstract). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-1-85-95>

Submitted 11.10.2019

Revised 15.12.2019

Published 20.02.2020

## Введение

Семейство сосудистых эндотелиальных факторов роста (VEGF) принято считать основным среди всех медиаторов ангиогенеза. Это гликопротеины, стимулирующие формирование новых кровеносных и лимфатических сосудов. В ряде клинических исследований показана эффективность использования факторов роста в качестве индукторов неоангиогенеза у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей или облитерирующими поражениями коронарных артерий [1]. Семейство включает в себя 6 факторов: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E и плацентарный фактор роста (PLGF). Рецепторы VEGF экспрессируются гемопозитивскими стволовыми клетками, моноцитами, макрофагами, эндотелиальными клетками кровеносных и лимфатических сосудов [2].

Ведущую роль в ангиогенезе играет сосудистый эндотелиальный фактор роста типа А (VEGF-A). VEGF-A экспрессируется гладкомышечными клетками сосудов, макрофагами, участвует в механизмах опухолевого роста и физиологического обновления ткани [3]. Циклическое обновление эндометрия в физиологических условиях невозможно без активного участия эндотелиальных факторов роста. Являясь мощным модулятором роста и трансформации кровеносных сосудов, VEGF принимает участие в обеспечении адекватной васкуляризации эндометрия в период имплантации и полноценной плацентации хориона в конце первого триместра беременности [4].

Наличие хронического воспалительного процесса в эндометрии влечет за собой разрушение экстрацеллюлярного матрикса, изменение гистоморфологии и последующую ишемию ткани, обусловленную склерозом стенок сосудов, что создает предпосылки к нарушению механизмов имплантации плодного яйца и развитию бесплодия [5–7]. Установлено, что полиморфизм рецепторных генов VEGF-A наиболее часто встречается у пациенток с идиопатическими формами привычного невынашивания беременности на ранних сроках [8].

Патоморфологическая оценка функционального состояния эндометрия представляется актуальной в связи с высокой распространенностью бесплодных браков и использования процедуры ЭКО. В литературе имеются единичные оценочные морфологические данные и отсутствуют количественные критерии, характеризующие экспрессию сосудистых эндотелиальных факторов роста в эндометрии [10].

**Цель исследования** — определение уровня экспрессии сосудистого эндотелиального фак-

тора роста типа А в оценке функционального состояния эндометрия при хроническом эндометрите у пациенток, страдающих бесплодием.

## Материалы и методы исследования

Исследованы биопсии эндометрия, полученные от 41 пациентки с хроническим эндометритом, который был диагностирован в качестве маточного фактора развития бесплодия. Все женщины проходили обследование перед проведением процедуры ЭКО в Клинике ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России в 2018 году.

Критерии участия в исследовании: овуляторный менструальный цикл, диагноз хронического эндометрита, подтвержденный гистологическим исследованием, в качестве маточного фактора в развитии бесплодия. Пациенток исключали из исследования при наличии эндометриоза, аутоиммунных и эндокринных заболеваний. Всем женщинам проведено комплексное обследование, включающее анамнестические данные, клинико-лабораторные исследования, УЗИ органов малого таза. Средний возраст обследуемых составил  $32,3 \pm 2,6$  года. У 30 женщин бесплодие было вторичным (73,2%), а у 11 женщин имело первичный характер. Длительность периода бесплодия составляла от 1,5 до 6 лет.

Биопсию эндометрия проводили в обе фазы менструального цикла: на 8–10-й день фолликулярной фазы и на 21–24-й день лютеиновой фазы. Фиксацию и проводку биопсийных образцов осуществляли общепринятыми методами. Из парафиновых блоков изготавливали срезы ткани толщиной 5 мкм, окрашивали гематоксилином Майера и 1%-ным водно-спиртовым раствором эозина. Диагноз хронического эндометрита ставили при обнаружении в эндометрии лимфо-макрофагальной инфильтрации стромы с периваскулярным и/или перигландулярным расположением клеточного инфильтрата, с наличием плазматических клеток и нейтрофильных лейкоцитов в сочетании со склерозом стенок спиральных артерий и фиброзом стромы. Группу сравнения составили 39 женщин (средний возраст  $30,7 \pm 4,4$  года) с мужским фактором развития бесплодия и морфологически верифицированным отсутствием воспалительного процесса в эндометрии.

Иммуногистохимическое исследование проводили с помощью двойных антител с предварительной депарафинизацией и демаскировкой антигенов. Использовали разведенные готовые к применению моноклональные антитела к рецепторам сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-A (Diagnostic Bio Systems, USA). Для визуализации антигена использовали

мультимерную безбиотиновую систему детекции REVEAL с 3,3-диаминобензидином в качестве хромогена (Spring Bio Science, USA). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Гарриса. Количественную оценку результатов иммуногистохимического исследования осуществляли с помощью программного обеспечения с открытым кодом ImageJ [9]. Критерием интенсивности экспрессии фактора роста VEGF-A в тканях служил предложенный нами коэффициент площади окрашивания (КПО) — отношение суммарной площади продукта иммуногистохимической реакции к площади биоптата, выраженный в процентах.

При статистической обработке результатов исследования использовали программу MedCalc Statistical Software version 19.1.3 (MedCalc Software bv, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2019). Проверку характера распределения вариационных рядов производили с помощью критериев Колмогорова — Смирнова и Шапиро — Уилка. Для определения достоверности различий между средними значениями групп применяли критерий Крамера — Уэлча. Нулевую гипотезу отвергали при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

У пациенток с хроническим эндометритом фаза пролиферации характеризовалась интенсивной иммуногистохимической реакцией с антителами к VEGF-A в эпителиальном и стромальном компонентах эндометрия. Эпителий желез и люминального слоя имел диффузную мембранную и цитоплазматическую реакцию. Также диффузную экспрессию рецепторов к VEGF-A наблюдали во всех клетках стромы эндометрия и в эндотелиальной выстилке сосудов (рис. 1 А).

В фазу секреции при хроническом эндометрите отмечено выраженное иммуногистохимическое окрашивание эпителиального компонента с тенденцией к формированию гранулярности продукта реакции в цитоплазме эпителия желез (рис. 1 Б). Экспрессия фактора роста эндотелием артериальных и венозных сосудов стромы носила умеренный характер. В 38 % случаев отмечена гиперэкспрессия фактора роста в эпителии отдельных желез.

У пациенток группы сравнения без хронического эндометрита фаза пролиферации характеризовалась диффузной мембранной и цитоплазматической экспрессией сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-A эпителием желез и люминального слоя, а также клетками стромы эндометрия. В функциональном слое эндометрия продукт реакции распределялся равномерно в эпителиальном и стромальном компонентах (рис. 2 А).

Базальный слой характеризовался меньшим уровнем экспрессии фактора роста по сравнению с функциональной зоной эндометрия.

В секреторную фазу менструального цикла интенсивность иммуногистохимической реакции была несколько ниже как в эпителии желез, так и в клетках стромы эндометрия по сравнению с фазой пролиферации (рис. 2 Б). Продукт реакции хорошо выявлялся в эндотелии формирующихся «клубков» спиральных сосудов функционального слоя слизистой оболочки.

Таким образом, в эндометрии пациенток без воспалительного процесса рецепторы к VEGF-A экспрессируют не только эндотелиоциты сосудов, но и фибробластоподобные клетки стромы, эпителий желез и люминального слоя эндометрия. При хроническом эндометрите экспрессия рецепторов к VEGF-A наблюдается в тех же структурных компонентах слизистой оболочки, однако распределение продукта иммуногистохимической реакции изменяется.

Для количественной оценки результатов иммуногистохимических реакций проведена компьютерная морфометрия изображений с определением суммарной площади продукта реакции и площади биоптата. Статистический анализ показал, что все вариационные ряды результатов исследования в сравниваемых группах имеют нормальное распределение. Поэтому количественные признаки представлены величиной среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). При статистической проверке однородности групп по возрастному показателю подтверждена нулевая гипотеза.

Компьютерная морфометрия показала, что у женщин без хронического эндометрита интенсивность экспрессии VEGF-A, определенная по коэффициенту площади окрашивания, в фазу пролиферации составила в среднем  $23,39 \pm 0,28\%$  (рис. 3). В секреторном эндометрии установлено снижение показателя в 1,8 раза ( $p < 0,001$ ). При хроническом эндометрите в фазе пролиферации интенсивность экспрессии VEGF-A в 1,4 раза выше, чем в группе сравнения ( $p < 0,001$ ) и составляет  $31,18 \pm 0,68\%$ . В фазе секреции коэффициент площади окрашивания в 1,9 раза превышает аналогичный показатель группы сравнения ( $p < 0,001$ ).

Значения коэффициента площади окрашивания у пациенток с хроническим эндометритом и у женщин без воспалительного процесса в эндометрии в фазу пролиферации выше, чем в фазу секреции. Это указывает на более интенсивную экспрессию рецепторов фактора роста сосудов структурными компонентами пролиферативного эндометрия,

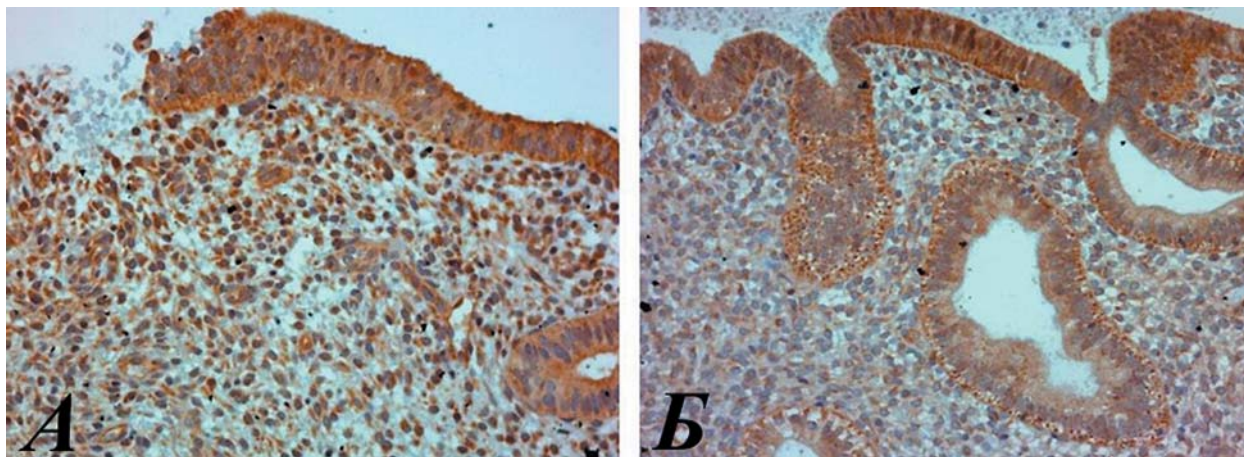


Рис. 1. Экспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста клетками пролиферативного (А) и секреторного (Б) эндометрия при хроническом эндометрите. Иммуногистохимическая реакция с антителами к VEGF-А Безбиотиновый метод детекции, ув. об.  $\times 20$ , докраска ядер гематоксилином.

Fig. 1. Expression of vascular endothelial growth factor in the proliferative (A) and secretory (B) endometrium in patients with chronic endometritis. Immunohistochemistry with VEGF-A antibodies. Non-biotin detection. Magn.  $\times 20$ . Additional hematoxylin staining.

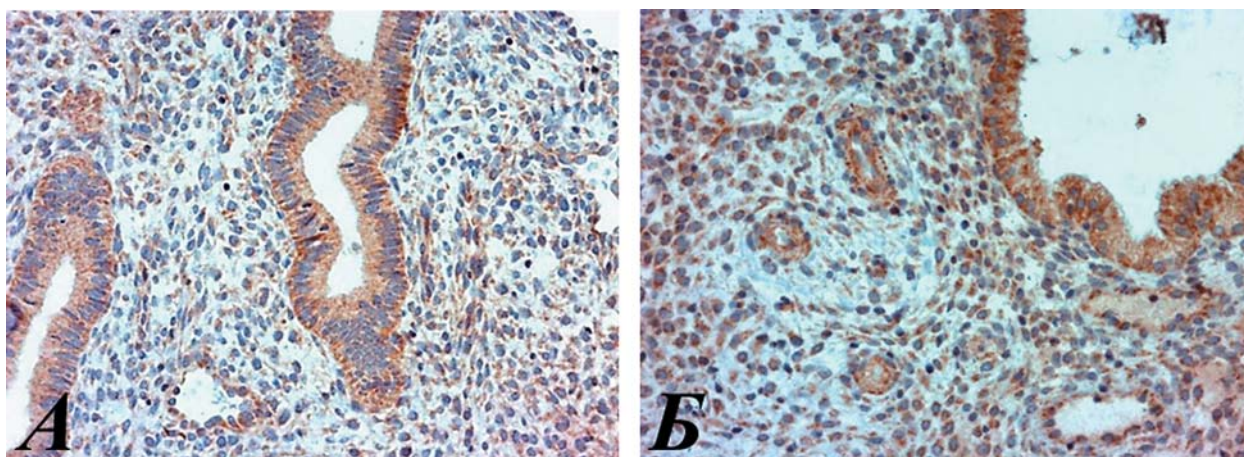


Рис. 2. Экспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста клетками пролиферативного (А) и секреторного (Б) эндометрия у пациенток группы сравнения. Иммуногистохимическая реакция с антителами к VEGF-А Безбиотиновый метод детекции, ув. об.  $\times 20$ , докраска ядер гематоксилином.

Fig. 2. Expression of vascular endothelial growth factor in the proliferative (A) and secretory (B) endometrium in the control group. Immunohistochemistry with VEGF-A antibodies. Non-biotin detection. Magn.  $\times 20$ . Additional hematoxylin staining.

что определяет повышение скорости ангиогенеза, необходимого для адекватного кровоснабжения ткани. Последующее ремоделирование слизистой оболочки в фазу секреции и децидуоподобные изменения стромального компонента напрямую зависят от полноценного завершения пролиферативной трансформации и определяют «восприимчивость» слизистой оболочки к предстоящей имплантации бластоцисты [10, 11].

Компьютерный анализ показал, что экспрессия VEGF-А при хроническом воспалении в эндометрии на протяжении фаз менструального цикла снижается в меньшей степени, чем в группе

сравнения. Предложен расчетный критерий — коэффициент ангиогенеза (КА), который представляет собой частное от деления коэффициента площади окрашивания в пролиферативном эндометрии (Sp) на аналогичный показатель в секреторном эндометрии (Sc):  $KA = Sp (\%) / Sc (\%)$ . Коэффициент ангиогенеза при хроническом эндометрите составил 1,39, в группе сравнения 1,89.

Установлено, что уровень экспрессии VEGF-А при хроническом эндометрите превышает значения группы сравнения как в фазу пролиферации, так и в фазу секреции. При длительно

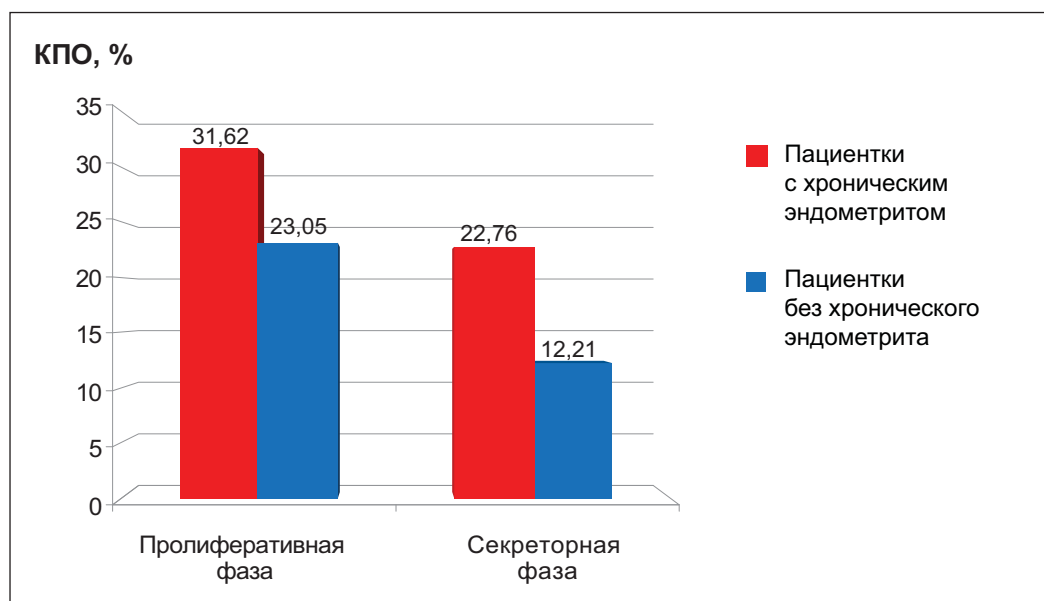


Рис. 3. Экспрессия VEGF-A в эндометрии. Компьютерная морфометрия, среднее значение коэффициента площади окрашивания (КПО, %).

Fig. 3. Endometrial VEGF-A expression. Computer morphometry, average stained area coefficient (SAC, %).

протекающей воспалительной реакции неизбежно нарушаются процессы циклической трансформации и ремоделирования эндометрия, что неизбежно приводит к нарушению фертильности и увеличению числа репродуктивных потерь [12, 13]. Важным регулятором экспрессии VEGF-A является содержание кислорода в ткани. Персистирующее течение воспалительной реакции сопряжено с усилением процесса коллагеногенеза в тканях. Периваскулярное накопление фибрилл коллагена приводит к утолщению стенок сосудов, ухудшению обменно-метаболических процессов и усиливает гипоксические изменения в тканях. Фиброз стромы, сопровождающийся структурной перестройкой сосудистого русла, часто наблюдается у пациенток с хроническим эндометритом [14]. Можно предположить, что изменение характера экспрессии ключевого фактора ангиогенеза клетками стромы и эпителием желез при эндометрите является механизмом компенсации, который направлен на стимуляцию регенеративных процессов при хроническом воспалительном процессе и прогрессирующем повреждении ткани.

### Заключение

Таким образом, при хроническом эндометрите наблюдается гиперэкспрессия VEGF-A различными клеточными компонентами эндометрия. Высокий уровень экспрессии VEGF-A сохраняется на протяжении фолликулярной и лютеиновой фаз менструального цикла, что указывает на высокую интенсивность процессов ангиогенеза при хроническом воспалении в эндометрии.

Оценка результатов иммуногистохимического исследования, проведенная с помощью компьютерной морфометрии, позволяет получать количественные показатели, характеризующие интенсивность экспрессии маркеров ангиогенеза в эндометрии на протяжении менструального цикла. Определение уровня экспрессии VEGF-A может быть использовано как дополнительный метод, повышающий качество биопсийной диагностики у пациенток с маточным фактором в развитии бесплодия.

### Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.

### Funding

The authors declare that no funding from sponsors was received during the research.

### Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации (Declaration Helsinki). От всех обследованных получено письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

### Compliance with the principles of ethics

The study was conducted in compliance with the standards of the Declaration of Helsinki. All patients gave free written informed consent to participate in the study.

## Литература

1. Uccelli A., Wolff T., Valente P., Di Maggio N., Pellegrino M., Gürke L., Banfi A., Gianni-Barrera R. Vascular endothelial growth factor biology for regenerative angiogenesis. *Swiss. Med. Wkly.* 2019; 149: w20011. DOI: 10.4414/smw.2019.20011
2. Bergantino F., Guariniello S., Raucci R., Colonna G., De Luca A., Normanno N., Costantini S. Structure-fluctuation-function relationships of seven pro-angiogenic isoforms of VEGFA, important mediators of tumorigenesis. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015; 1854(5): 410–425. DOI: 10.1016/j.bbapap.2015.01.005
3. Нефедова Н.А., Харлова О.А., Данилова Н.В., Мальков П.Г., Гайфуллин Н.М. Маркеры ангиогенеза при опухолевом росте. *Архив патологии.* 2016; 2: 55–62. DOI: 10.17116/patol201678255-62
4. Келлэт Е.П., Шуршалина А.В., Корнеева Е.И. Роль эндометрия в неудачах реализации репродуктивной функции (обзор литературы). *Проблемы репродукции.* 2010; 16(2): 16–20.
5. Козырева Е.В., Давидян Л.Ю., Кометова В.В. Хронический эндометрит в аспекте бесплодия и невынашивания беременности. *Ульяновский медицинко-биологический журнал.* 2017; 2: 56–62. DOI: 10.23648/UMBJ.2017.26.6218
6. Cicinelli E., Matteo M., Trojano G., Mitola P.C., Tinelli R., Vitagliano A., Crupano F.M., Lepera A., Miragliotta G., Resta L. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2018; 79(1). DOI: 10.1111/aji.12782
7. Крутова В.А., Чулкова А.М., Ванян Д.Л., Чуприненко Л.М., Каспарян Р.А., Копытко Е.Е. Неoadъювантная диагностика и лечение хронического эндометрита. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2018; 25(1): 23–29. DOI: 10.25207/1608-6228-2018-25-1-23-29
8. Su M.T., Lin S.H., Chen Y.C., Kuo P.L. Gene-gene interactions and gene polymorphisms of VEGF-A and EG-VEGF gene systems in recurrent pregnancy loss. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014; 31(6): 699–705. DOI: 10.1007/s10815-014-0223-2
9. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods.* 2012; 9(7): 671–675.
10. Коган Е.А., Демура Т.А., Водяной В.Я., Шуршалина А.В. Молекулярно-морфологические аспекты нарушений восприимчивости эндометрия при хроническом эндометрите. *Архив патологии.* 2012; 74(3): 15–27.
11. Wu D., Kimura F., Zheng L., Ishida M., Niwa Y., Hirata K., Takebayashi A., Takashima A., Takahashi K., Kushima R., Zhang G., Murakami T. Chronic endometritis modifies decidualization in human endometrial stromal cells. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2017; 15(1): 16–18. DOI 10.1186/s12958-017-0233-x
12. Лихачева В.В., Зорина В.Н., Третьякова Я.Н., Баженова Л.Г., Третьякова Т.В., Ренге Л.В. Современные представления о патогенезе хронического эндометрита. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2017; 4: 25–32.
13. 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. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2019; 45(5): 951–960. DOI: 10.1111/jog.13937
14. Коваленко Я.А., Крутова В.А., Наумова Н.В., Чуприненко Л.М. Эффективность программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов у женщин с хроническим неспецифическим эндометритом. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2017; (6): 59–64. DOI: 10.25207/1608-6228-2017-24-6-59-64

## References

1. Uccelli A., Wolff T., Valente P., Di Maggio N., Pellegrino M., Gürke L., Banfi A., Gianni-Barrera R. Vascular endothelial growth factor biology for regenerative angiogenesis. *Swiss. Med. Wkly.* 2019; 149: w20011. DOI: 10.4414/smw.2019.20011
2. Bergantino F., Guariniello S., Raucci R., Colonna G., De Luca A., Normanno N., Costantini S. Structure-fluctuation-function relationships of seven pro-angiogenic isoforms of VEGFA, important mediators of tumorigenesis. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015; 1854(5): 410–425. DOI: 10.1016/j.bbapap.2015.01.005
3. Nefedova N.A., Kharlova O.A., Danilova N.V., Malkov P.G., Gaifullin N.M. Markers of angiogenesis in tumor growth. *Arkhiv Patologii.* 2016; 2: 55–62 (In Russ., English abstract). DOI: 10.17116/patol201678255-62
4. Kellet E.P., Shurshalina A.V., Korneeva E.I. The role of endometrium in reproductive failures. *Problemy Reproduktsii.* 2010; 16(2): 16–20 (In Russ.).
5. Kozyreva E.V., Davidjan L.U., Kometova V.V. Chronic endometritis in the aspect of infertility and pregnancy loss. *Ulj'janovskij Mediko-Biologicheskij Zhurnal.* 2017; 2: 56–62 (In Russ, English abstract). DOI: 10.23648/UMBJ.2017.26.6218
6. Cicinelli E., Matteo M., Trojano G., Mitola P.C., Tinelli R., Vitagliano A., Crupano F.M., Lepera A., Miragliotta G., Resta L. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2018; 79(1): e12782. DOI: 10.1111/aji.12782

7. Krutova V.A., Chulkova A.M., Vanyan D.L., Chuprinenko L.M., Kasparyan R.A., Kopytko E.E., Dyakova T.G. Neoadjuvant diagnosis and management of chronic endometritis. *Kubanskij Nauchnyj Medicinskij Vestnik*. 2018; 25(1): 23–29 (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207/1608-6228-2018-25-1-23-29
8. Su M.T., Lin S.H., Chen Y.C., Kuo P.L. Gene-gene interactions and gene polymorphisms of VEGF-A and EG-VEGF gene systems in recurrent pregnancy loss. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014; 31(6): 699–705. DOI: 10.1007/s10815-014-0223-2
9. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods*. 2012; 9(7): 671–675.
10. Kogan E.A., Demura T.A., Vodyanoy V.Y., Shurshalina A.V. Molecular and morphological aspects of endometrium receptivity malfunction in chronic endometritis. *Arkhiv Patologii*. 2012; 74(3): 15–27 (In Russ., English abstract).
11. Wu D., Kimura F., Zheng L., Ishida M., Niwa Y., Hirata K., Takebayashi A., Takashima A., Takahashi K., Kushima R., Zhang G., Murakami T. Chronic endometritis modifies decidualization in human endometrial stromal cells. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2017; 15(1): 16–18. DOI 10.1186/s12958-017-0233-x
12. Likhacheva V.V., Zorina V.N., Tretyakova Y.N., Bazhenova L.G., Tretyakova T.V., Renge L.V. Current views on the chronic endometritis pathogenesis. *Rossiiskiy Vestnik Akushera-Ginekologa*. 2017; 4: 25–32 (In Russ., English abstract).
13. 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. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2019; 45(5): 951–960. DOI: 10.1111/jog.13937
14. Kovalenko Y.A., Krutova V.A., Naumova N.V., Chuprinenko L.M. The effectiveness of in vitro fertilization and embryo transfer in women suffering from non-specific chronic endometritis. *Kubanskij Nauchnyj Medicinskij Vestnik*. 2017; (6): 59–64 (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207/1608-6228-2017-24-6-59-64

## Вклад авторов

### Чуприненко Л.М.

Разработка концепции — формирование идеи; развитие ключевых целей и задач.

Разработка методологии — разработка и дизайн методологии.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление лабораторных образцов.

### Славинский А.А.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление измерительных приборов, вычислительных ресурсов для анализа.

Проведение статистического анализа — применение статистических методов для анализа и синтеза данных исследования.

### Севостьянова Е.С.

Проведение исследования — сбор и анализ полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — участие в научном дизайне; подготовка, создание опубликованной работы.

Проведение исследования — проведение исследований, в частности проведение анализа и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Проведение статистического анализа — применение статистических методов для анализа и синтеза данных исследования.

### Беревкин А.А.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, в частности сбор данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.



#### **Друшевская В.Л.**

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, в частности сбор данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

#### **Котов В.С.**

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, в частности сбор данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

#### **Крутова В.А.**

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, в частности сбор данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

## **Author contribution**

#### **Chuprinenko L.M.**

Conceptualisation — concept formation; formulation and development of key goals and objectives.

Methodology development — methodology development and design.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — compilation of a draft manuscript; its critical review with the introduction of valuable intellectual content; participation in scientific design.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

Resource support of the research — provision of laboratory samples.

#### **Slavinsky A.A.**

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

Resource support of the research — provision of measurement instruments, calculation resources for analysis.

Statistical processing — the application of statistical methods for the analysis and synthesis of the research data.

#### **Sevostyanova E.S.**

Conducting research — data collection and analysis.

Text preparation and editing — participation in scientific design; preparation and creation of a published work.

Conducting research — conducting research, in particular data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

Statistical processing — the application of statistical methods for the analysis and synthesis of the research data.

#### **Verevkin A.A.**

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, in particular data collection.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

#### **Drushevskaya V.L.**

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, in particular data collection. Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

**Kotov V.S.**

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, in particular data collection. Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

**Krutova V.A.**

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, in particular data collection. Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

**Сведения об авторах / Information about the authors**

**Чуприненко Людмила Михайловна\*** — кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры патологической анатомии; заведующая патологоанатомическим отделением клиники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ORCID iD 0000-0002-2770-3529

Контактная информация: e-mail: [lmchbox@mail.ru](mailto:lmchbox@mail.ru); тел.: +7 (960) 481-38-15;

ул. Симиренко, д. 71/1, кв. 55, г. Краснодар, 350062, Россия

**Славинский Александр Александрович** — доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ORCID iD 0000-0001-9824-9186

**Севостьянова Екатерина Сергеевна** — ассистент кафедры патологической анатомии; врач клинической лабораторной диагностики клинико-диагностической лаборатории клиники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ORCID iD 0000-0003-0128-5848

**Веревкин Александр Александрович** — ассистент кафедры патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ORCID iD 0000-0002-4159-2618

**Lyudmila M. Chuprinenko\*** — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of Pathological Anatomy, Kuban State Medical University; Head of the Pathology Department, Clinic of the Kuban State Medical University.

ORCID iD 0000-0002-2770-3529

Contact information: e-mail: [lmchbox@mail.ru](mailto:lmchbox@mail.ru); tel.: +7 (960) 481-38-15;

Simirenko str., 71/1, 55, Krasnodar, 350062, Russia

**Alexander A. Slavinsky** — Dr. Sci. (Biology), Prof., Head of the Department of Pathological Anatomy, Kuban State Medical University.

ORCID iD 0000-0001-9824-9186

**Ekaterina S. Sevostyanova** — Research Assistant, Department of Pathological Anatomy, Kuban State Medical University; Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical Diagnostic Laboratory, Clinic of the Kuban State Medical University.

ORCID iD 0000-0003-0128-5848

**Alexander A. Verevkin** — Research Assistant, Department of Pathological Anatomy, Kuban State Medical University.

ORCID iD 0000-0002-4159-2618

**Друшевская Виктория Леонидовна** — доцент кафедры патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ORCID iD 0000-0002-2845-566X

**Котов Вадим Сергеевич** — студент федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ORCID iD 0000-0001-5469-3218

**Крутова Виктория Александровна** — доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии; главный врач клиники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ORCID iD 0000-0002-9907-7491

**Victoria L. Drushevskaya** — Assoc. Prof., Department of Pathological Anatomy, Kuban State Medical University.

ORCID iD 0000-0002-2845-566X

**Vadim S. Kotov** — Student, Kuban State Medical University.

ORCID iD 0000-0001-5469-3218

**Victoria A. Krutova** — Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Kuban State Medical University; Chief Doctor, Clinic of the Kuban State Medical University.

ORCID iD 0000-0002-9907-7491

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author