

А.А. ВАСЮХИНА, Л.С. ЦЕЛКОВИЧ

Самарский государственный медицинский университет

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ БЕСПЛОДИЕМ

В работе рассматриваются результаты исследования гистологического и иммуногистохимического состояния эндометрия у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием. Согласно данным исследований, основное число женщин с трубно-перитонеальным бесплодием страдали той или иной формой хронического эндометрита. Только комплексное обследование женщин, страдающих трубно-перитонеальным бесплодием, включающее проведение иммуногистохимического и гистологического исследований эндометрия, необходимо для успешности проведения ЭКО.

Ключевые слова: хронический эндометрит, трубно-перитонеальное бесплодие, иммуногистохимия, менструальный цикл, эндометрий

Васюхина Анна Александровна, ординатор второго года обучения кафедры акушерства и гинекологии №2, E-mail: annavasyubina@bk.ru

Целкович Людмила Савельевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии №2, E-mail: samaraobsgyn2@yandex.ru

A.A. VASYUHINA, L.S. TSELKOVICH

Samara State Medical University

IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF THE ENDOMETRIUM IN WOMEN WITH TUBAL-PERITONEAL INFERTILITY

The paper deals with the results of histological and immunohistochemical study of the endometrium in women with tubal-peritoneal infertility. According to studies the majority of women with tubal-peritoneal infertility suffered from some form of chronic endometritis. Only complete examination of women with tubal-peritoneal infertility including immunocytochemical and histological study of the endometrium is necessary for successful IVF.

Keywords: chronic endometritis, tubal-peritoneal infertility, immunohistochemistry, menstrual cycle, endometrium.

Anna Vasyubina - Second-year resident of the Obstetrics and Gynecology Chair №2, E-mail: annavasyubina@bk.ru

Ludmila Tselkovich - Doctor of Medicine, Professor, Head of the Obstetrics and Gynecology Chair №2, E-mail: samaraobsgyn2@yandex.ru

Одной из проблем современного акушерства и гинекологии продолжает оставаться бесплодие, обусловленное развитием хронического эндометрита. Несмотря на значительные успехи в диагностике патологических процессов репродуктивной системы, хронический эндометрит продолжает оставаться terra incognita, особенно те его формы, которые не имеют манифестных клинических проявлений или четких гистологических признаков [1, 2, 8].

Отметим, что адекватное морфофункциональное состояние эндометрия является одним из определяющих моментов в благополучном исходе имплантации и развития эмбриона [5, 6, 7].

Так, исследования, проведенные «Международным центром репродуктивной медицины» (проф. Корсак В.С. и соавт, 2005), свидетельствовали о том,

что патология эндометрия выявляется у 73,7% больных, страдающих трубно-перитонеальной формой бесплодия [3].

По данным В.Е. Радзинского и соавт. (2009, 2012), хронический эндометрит является причиной невынашивания беременности в 70% случаев [7, 8].

В ряде работ, касающихся исследования иммуноморфологических изменений эндометрия, было подчеркнуто, что хронический эндометрит следует рассматривать как клинико-морфологический синдром. При этом оценка только клинических симптомов заболевания верифицирует его лишь в половине случаев [9]. В то же время морфологическое исследование подтверждает, что в основе хронического эндометрита лежит каскад патологических реакций, приводящий к нарушению не только цикличности транс-

формации ткани, но и её рецепции [4, 6]. Новым направлением в оценке функциональных возможностей эндометрия явилась иммуногистохимия, использование которой позволяет не только оценить имеющиеся воспалительные изменения структуры ткани, но и иммунологические особенности функционального слоя.

Цель исследования: определение иммуногистохимических изменений эндометрия у женщин, страдающих трубно-перитонеальным бесплодием и готовящихся к протоколу ЭКО.

Материалы и методы

Нами было исследовано 252 биоптата от 84 женщин, страдающих трубно-перитонеальным бесплодием. У всех женщин был сохранен овуляторный менструальный цикл, не было выявлено инфекций, способных повлиять на структуру эндометрия. Биопсия эндометрия проводилась в процессе проведения плановой гистероскопии. Исследования проводились на оборудовании «Karl Storz» с оптической системой «Hopkins» (углы обзора: 30°, 70° и 90°) на 21-23 дни менструального цикла.

Материал, полученный в результате биопсии, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Полученные образцы промывали проточной водой и проводили дегидратацию, используя спирты с возрастающей концентрацией, после чего заливали в парафин. Далее на ротаторном микротоме проводили срезы. Полученные микропрепараты окрашивали согласно общепринятым стандартам диагностики, затем производили морфометрию полученных препаратов.

Микроскопический анализ окрашенных препаратов проводился на световом микроскопе DigiMicro Mini+WiFi при увеличении в 200 и 800 раз. Фотофиксация микропрепаратов осуществлялась камерой-окуляром DCM510 (5,1Мрх, USB 2.0), морфометрия оцифрованных изображений срезов проводилась в 50 полях зрения в каждом микропреparate, результаты обрабатывались с помощью программы TourView 3.2 на персональном компьютере.

Определение CD56+, CD16+ и маркера активации HLA-DR(II)+ в лимфоцитах ткани эндометрия проводили реактивами LSAB+kit (DAKO, Дания) с использованием вторичных антител, конъюгированных со щелочной фосфатазой. Имеющийся материал фиксировали в 10%-ном забуференном формалине (рН 7,2), затем обрабатывали соответственно стандартному протоколу, затем парафинировали. После этого готовили серийные парафиновые срезы, толщиной 3-5 мкм и помещали их на стекла с поли-L-лизинным покрытием. Затем

препараты обрабатывали согласно протоколу иммуногистохимической реакции, предлагаемому компанией Dako.

Нами было отмечено, что гистероскопическая картина в большинстве случаев была типичной и в основном отражала нормальное состояние слизистой матки в лютеиновую фазу менструального цикла.

У подавляющего большинства женщин эндометрий характеризовался значительной толщиной, сочностью, присутствовал богатый сосудистый рисунок, цвет эндометрия колебался от желто-розового до сочного красного, иногда складки эндометрия имели полиповидную форму. Устья маточных труб были видны не при каждом исследовании. Эндометрий был отечным, отчетливо просматривались протоки желез в виде прозрачных точек.

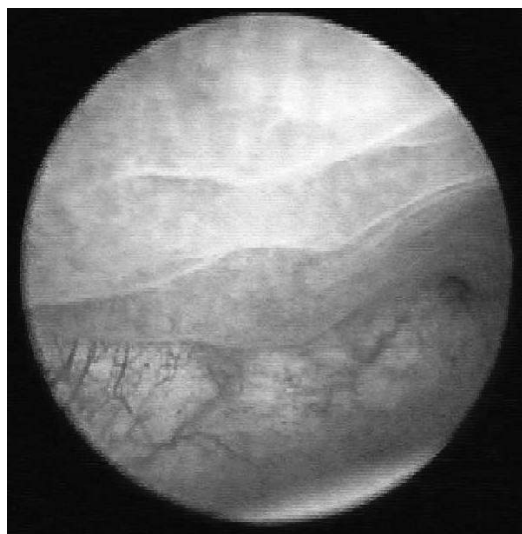


Рис. 1. Эндометрий в лютеиновую фазу менструального цикла (собственное наблюдение, пациентка Д., 1981 г.р.)

Анализ полученных гистологических протоколов биопсии эндометрия свидетельствовал о том, что в лютеиновую фазу менструального цикла у большинства пациенток фиксировалась следующая картина эндометрия: толщина его в среднем составляла $10,1 \pm 0,2$ мм, строма базального слоя состояла преимущественно из соединительной ткани, в которой располагалось большое количество аргирофильных и тонких коллагеновых волокон. Железы эндометрия были узкими, эпителий цилиндрический и однорядный, расположен с равными промежутками друг от друга, апикальный край был преимущественно ровным, ядра клеток занимали треть эндометрия, в цитоплазме содержалось много вакуолей. Среди клеток цилиндрического эпителия встречались крупные «пузырьковидные» клетки, располо-

женные вплотную к базальной мембране, и лимфоциты. У 15 (17,9%) женщин в базальном слое обнаруживались лимфатические фолликулы с очаговыми перигландулярными или периваскулярными инфильтратами, что указывало на наличие воспалительного процесса. Толщина функционального слоя в среднем составляла $6,8 \pm 0,3$ мм, в нём также фиксировались тесно расположенные вокруг сосудов и желез аргирофильные волокна. Обозначался спонгиозный и компактный слои – в последнем преобладала отечная цитогенная строма. К 23 дню цикла были четко видны децидуальные изменения. Имелись зернистые клетки, единичные лимфоциты и тучные клетки. Сосуды в большинстве препаратов были спиралевидными, в отдельных местах образовывали синусоиды и клубки (рис. 2 и 3).

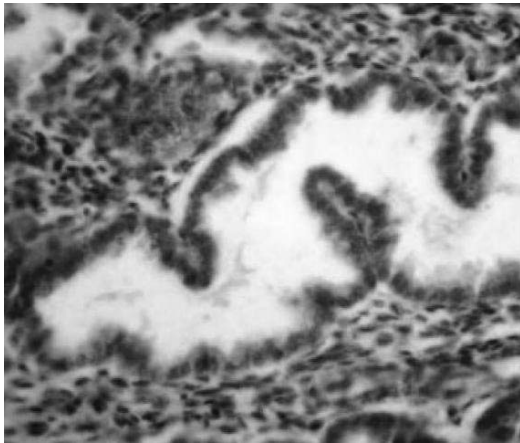


Рис. 2. Эндометрий в лютеиновую фазу менструального цикла (собственное наблюдение, пациентка Л., 1984 г.р.; окр. гематоксилином и эозином, Ч100)

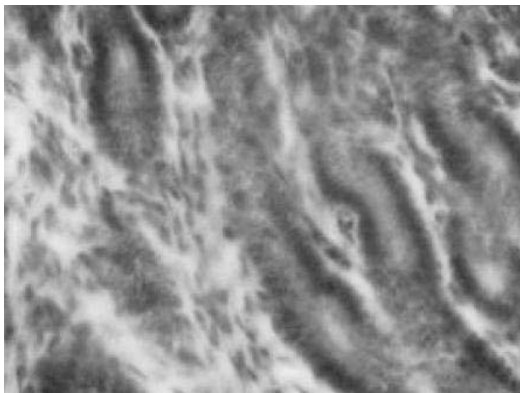


Рис. 3. Эндометрий в лютеиновую фазу менструального цикла (собственное наблюдение, пациентка А., 1983г.р.; окр. гематоксилином и эозином, Ч100)

Иммуноцитохимическими методами нами была определена экспрессия эстро-

геновых и прогестероновых рецепторов в тканях эндометрия, а также экспрессия маркеров CD56+, CD16+ и маркера активации HLA-DR(II)+.

Исследования свидетельствовали о том, что по содержанию выявленных показателей имелись определенные различия. Так, у тех женщин, у которых гистологически были выявлены признаки воспаления (15 чел. — 17,9%), средняя экспрессия эстрогеновых рецепторов (ЭР) составила в железах 7,5%, в строме 22,4%. В то же время при нормальной гистологической картине среднее содержание ЭР в железах составило 38,6%, в строме 34,6%.

Что касается прогестероновых рецепторов (ПР), их число было несколько выше. Повторимся, что исследование проводилось нами на 21-23 день овуляторного менструального цикла, соответственно содержание ПР в железах составило 45,4%, в строме 70,1%. Примеры типичного распределения эстрогеновых и прогестероновых рецепторов отражены нами на рисунках 4 и 5.

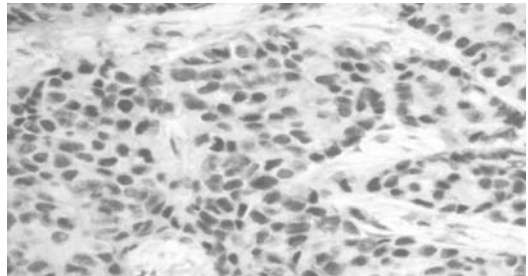


Рис. 4. Распределение ЭР в эндометрии в лютеиновую фазу менструального цикла (собственное наблюдение, пациентка Н., 1983г.р.; ув. Ч 100).

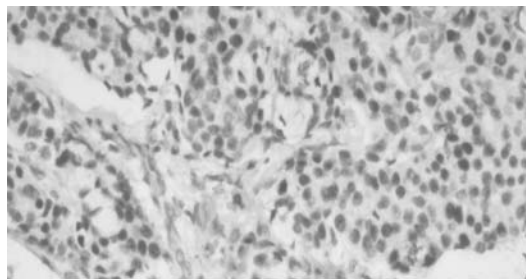


Рис. 5. Распределение ПР в эндометрии в лютеиновую фазу менструального цикла (Собственное наблюдение, пациентка Н., 1983 г.р.; ув. Ч 200).

Далее нами было рассмотрено содержание CD56+, CD16+ и маркера активации HLA-DR(II)+ в эндометрии. Для удобства подачи полученной информации мы разделили все полученные результаты на

3 группы. Нормальным состоянием эндометрия мы считали содержание клеток, экспрессирующих CD56+, CD16+, и маркера активации HLA-DR(II)+ от 0 до 10. Согласно принятому нами за основу методу А.В. Кузнецовой (2001), при повышении числа клеток, экспрессирующих CD56+ более 10, нами выставлялся диагноз аутоиммунного хронического эндометрита. При числе клеток, экспрессирующих CD16+, CD56+ выше 10, и при числе клеток, экспрессирующих HLA-DR(II)+ от 0

до 10 в поле зрения, нами диагностировался «хронический эндометрит с аутоиммунным компонентом без активации процесса». И, наконец, при числе клеток, экспрессирующих CD16+ и HLA-DR(II)+ выше 10, и при числе клеток, экспрессирующих CD56+ от 0 до 10 в поле зрения, выставлялся диагноз «хронический эндометрит с обострением». Полученные результаты распределения пациенток обеих групп представлены нами в таблице 1.

Таблица 1

Распределение женщин по иммуногистохимическому состоянию эндометрия (% к общему числу обследованных)

Совокупное содержание CD56+, CD16+ и маркера активации HLA-DR(II)	Группа женщин (n=84)	
	абс. число	%
Нормальный эндометрий	8	9,5
Аутоиммунный хронический эндометрит	43	51,1
Хронический эндометрит с аутоиммунным компонентом без активации процесса	18	21,4
Хронический эндометрит с обострением	15	17,9

Результаты и их обсуждение

Как видно из данных, приведенных в таблице, основное число женщин с трубно-перитонеальным бесплодием страдали той или иной формой хронического эндометрита. При этом 43 женщины в группе (51,1%) имели аутоиммунный хронический эндометрит, который мог быть реальным препятствием в реализации репродуктивной функции.

Несколько реже встречался хронический эндометрит с аутоиммунным компонентом без активации процесса – у 18 (21,4%) женщин. Явного эндометрита, который, помимо иммуногистохимических методов, подтверждался и гистологическим исследованием биоптатов, было 15 (17,9%) случаев.

Выводы

Таким образом, обобщая полученные нами результаты, можно сделать вывод о том, что при планировании протокола ЭКО проведение иммуногистохимического исследования эндометрия необходимо, поскольку ни гормональное, ни сонографическое, ни даже гистологическое исследования не дают полного представления о патологических процессах, происходящих в эндометрии. Только комплексное обследование женщин, страдающих трубно-перитонеальным бесплодием, с учетом всех компонентов диагностического процесса позволит определить тактику её последующего ведения.

Список литературы

1. Айламазян Э.К. Акушерство: учебник для медицинских вузов / 4-е изд., доп. – СПб.: СпецЛит, 2003. – 528 с.
2. Гузов И.И. Введение в медицину репродукции. Зачатие у человека. Стероидные гормоны и другие медиаторы имплантации. Введение в рецепторологию. [Электронный ресурс]. – М., 1999. Режим доступа: <http://mama.ru/club/hr/253/314>
3. Корсак В.С., Забелкина О.В., Исакова Э.В., Кирсанов А.А., Попов Э.Н., Савичева А.М. Исследование эндометрия у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием на этапе подготовки к ЭКО // Проблемы репродукции. – 2005. №2. – С. 39-43.
4. Кулаков В.И. Бесплодный брак. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.
5. Кулаков В.И., Лопатина Т.В. Репродуктивное здоровье населения России // В кн.: Бесплодный брак (руководство для врачей) / Под ред. В.И. Кулакова. – М: ГЭОТАР-Медиа. – 2006. – С.10-18.
6. Маклюк А.М. Патогенетические аспекты невынашивания беременности ранних сроков: автореф. дис. ...канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2010. – 26 с.
7. Радзинский В.Е., Димитрова В.И., Майскова И.Ю. Неразвивающаяся беременность // Библиотека практического врача. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 200 с.
8. Радзинский В.Е., Петров Ю.А., Полина М.Л. Хронический эндометрит в современной перспективе // Казанский медицинский журнал. – 2012. Т. 93. №1. – С.178-181.
9. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 72 с.