

УДК 616-091:618.14-002.28

К ВОПРОСУ О МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИКАХ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

Волкова Л.В.

Московский финансово-промышленный университет «Синергия», медицинский факультет, Москва, e-mail: volkova16@gmail.com

Морфологическая диагностика хронического неспецифического эндометрита является актуальной проблемой. Хронический эндометрит часто встречается в группе женщин репродуктивного возраста, ассоциирован с женским бесплодием, повторными неудачами ЭКО, невынашиванием беременности и нередко остается недиагностированным из-за возможности бессимптомного течения. Золотым стандартом для диагностики хронического эндометрита является гистологическое и иммуногистохимическое исследование эндометрия с использованием антител к CD138 для выявления плазматических клеток, однако в настоящее время общепринятые критерии иммуногистохимической диагностики ХЭ отсутствуют, проводится поиск новых биомаркеров данной патологии. Цель работы – изучение особенностей экспрессии иммуногистохимических маркеров CD3 и CD79-альфа, характерных для Т-клеток и популяции В-клеток и плазматических клеток соответственно, в различных структурных компонентах эндометрия для верификации хронического эндометрита. Проведено ретроспективное исследование 50 пайпель-биоптатов эндометрия женщин г. Калининграда по данным лаборатории иммуногистохимической и патологоанатомической диагностики БФУ им. И. Канта (2016–2021 гг.). У женщин в возрасте до 33 лет хронический эндометрит диагностировали в 50% случаев, эффективными критериями диагностики хронического эндометрита в ограниченном объеме материала пайпель-биоптатов были следующие: признаки фиброза, наличие лимфоидных инфильтратов в эндометрии, CD3-позитивных Т-клеток, CD79-альфа-позитивных В-лимфоцитов и плазматических клеток. Результаты указывают на возможность использования указанных иммуногистохимических маркеров для верификации клеточных инфильтратов и комплексной оценки степени тяжести хронического эндометрита инфильтратов в пайпель-биоптатах эндометрия.

Ключевые слова: хронический эндометрит, CD3+ Т-лимфоциты, CD79-альфа+ В-клетки и плазматические клетки, эндометрий.

ON THE QUESTION ABOUT MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHRONIC ENDOMETRITIS

Volkova L.V.

Moscow University for Industry and Finance «Synergy», Faculty of Medicine, Department of Biomedical Disciplines, Moscow, e-mail: volkova16@gmail.com

Morphological diagnosis of chronic nonspecific endometritis is an urgent problem. Chronic endometritis often occurs in a group of women of reproductive age, is associated with female infertility, repeated extracorporeal fertilization failures, miscarriage, and often remains undiagnosed due to the possibility of an asymptomatic duration. The «golden» standard for diagnosing chronic endometritis is histological and immunohistochemical examination of the endometrium using anti-CD138 antibodies to identify plasma cells, however, currently there are no generally accepted criteria for the immunohistochemical diagnosis of chronic endometritis, and new biomarkers of this pathology are being searched. The purpose of the work is to study the features of the expression of immunohistochemical markers CD3 and CD79-alpha, which are typical for T cells and the population of B cells and plasma cells, in various structural components of the endometrium to verify chronic endometritis. A retrospective study of 50 endometrial pipelle biopsies of women in Kaliningrad was carried out according to the laboratory of immunohistochemical and pathological diagnostics of the IKBFU (2016-2021). In women under the age of 33 years, chronic endometritis was diagnosed in 50% of cases; the effective diagnostic criteria for diagnosing chronic endometritis in a limited volume of pipelle biopsy material were the following: signs of fibrosis, the presence of lymphoid infiltrates in the endometrium, CD3-positive T cells and CD79 -alpha-positive B lymphocytes and plasma cells. The results indicate the possibility of using these immunohistochemical markers to verify cellular infiltrates and comprehensively assess the severity of chronic endometritis infiltrates in endometrial pipelle biopsies.

Keywords: chronic endometritis, CD3+ T lymphocytes, CD79-alpha+ B cells and plasma cells, endometrium.

Хронический эндометрит (ХЭ) – воспаление эндометрия, вызываемое различными группами микроорганизмов: Enterobacteriaceae, Enterococcus, Streptococcus, Staphylococcus, Mycoplasma и Ureaplasma, Chlamidia trachomatis, изредка – вирусом простого герпеса, цитомегаловирусом, вирусом папилломы человека, Actinomyces israelii – у женщин, длительно применяющих внутриматочные механические средства, в последнем случае возможно развитие изменений в эндометрии по типу необычной реакции на инородное тело [1, 2]. В эндометрии при ХЭ развивается комплекс морфофункциональных изменений, имеет место нарушение нормальной циклической трансформации ткани эндометрия и его рецептивности, что играет особенно важную роль в период «окна имплантации».

Морфологическая диагностика ХЭ в настоящее время остается актуальной проблемой, этот диагноз часто встречается в группе женщин репродуктивного возраста [1]. Распространенность ХЭ составляет 2,8–56,8% у женщин с бесплодием, 14–67,5% – при привычном невынашивании при имплантации, 9,3–67,6% – при привычном невынашивании беременности [3]. ХЭ нередко остается недиагностированным, а гистологическое и иммуногистохимическое исследования эндометрия служат надежными методами его выявления. В настоящее время золотым стандартом является иммуногистохимическое исследование эндометрия с верификацией CD138+ плазматических клеток (синдекана-1) [4, 5, 6]. К сожалению, этот метод не всегда является специфическим, поскольку CD138-позитивные плазматические клетки в эндометрии могут встречаться и в норме, при наличии подслизистой лейомиомы матки или полипов эндометрия, а мнения о количестве плазмоцитов в эндометрии, позволяющих верифицировать диагноз ХЭ, разделились [7, 8, 9]. Эффекты синдекана-1 у больных ХЭ недостаточно изучены, международные критерии для его диагностики отсутствуют, количество плазматических клеток, необходимое для постановки диагноза, до сих пор не определено, имеющиеся данные остаются ограниченными, а проблема диагностики ХЭ заслуживает дальнейшего изучения в большой когорте [5].

При типичной форме ХЭ выявляется ряд гистологических изменений в эндометрии: инфильтрация лимфоцитами, плазмоцитами и гранулоцитами, склеротические изменения сосудов, нарушение пролиферации железистого эпителия, появление лимфоидных фолликулов в поверхностном отделе эндометрия. В стромальном компартменте эндометрия выявляются отек и фибробластоподобные клетки, которые создают картину типа «водоворота» вокруг маточных желез [2].

Несмотря на имеющиеся противоречия в критериях диагностики, в настоящее время иммуногистохимическое исследование эндометрия при ХЭ является необходимым этапом диагностики [5]. Причинно-следственная связь между ХЭ и репродукцией человека в настоящее время остается неопределенной, а создание универсальных диагностических

критериев, объединяющих гистопатологию, гистероскопию, анализ микробиома, является актуальной задачей [6].

Цель исследования – изучение особенностей экспрессии иммуногистохимических маркеров CD3 и CD79-альфа, характерных для Т-клеток и популяции В-клеток и плазмоцитов, в различных структурных компонентах эндометрия пайпель-биоптатов для верификации ХЭ.

Материал и методы исследования. Изученная выборка включала образцы ткани эндометрия, полученные с помощью пайпель-биопсии у 50 пациентов женского пола Калининградской области за период 2016–2021 гг., направленные для диагностики медицинскими учреждениями г. Калининграда. Показания к пайпель-биопсии определялись врачами-гинекологами направивших учреждений, выполнявшими забор материала эндометрия для исследования. Ретроспективное исследование выполнено в лаборатории иммуногистохимической и патологоанатомической диагностики БФУ им. И. Канта.

Оценивали возрастную структуру исследованной выборки, данные акушерско-гинекологического анамнеза, наличие генитальных и экстрагенитальных патологий, присутствие гистологических признаков ХЭ, наличие клеточных инфильтратов в эндометрии, выявляемых с помощью гистологического и иммуногистохимического исследования.

Характеристики исследованной выборки: 1) средний возраст женщин – 33 года (max – 43 года, min – 23 года), продолжительность менструального цикла (МЦ) – $28,7 \pm 1,93$ дня (max – 34, min – 24), длительность менструации – 4,9 дня $\pm 1,02$ (max – 8 дней, min – 3 дня); 2) наличие гинекологических заболеваний – полипы эндометрия (10%), инфекционно-воспалительные заболевания – сальпингоофорит, уреаплазмоз (10%), эрозия шейки матки (6%), дермоидная киста яичника (6%), лейомиома матки (4%), синдром поликистозных яичников (2%); 3) экстрагенитальная патология: болезни щитовидной железы – тиреодит, зоб, узлы щитовидной железы (14%), молочных желез – фиброаденомы, фиброзно-кистозные изменения, кисты (12%), эндокринная патология – аденогенитальный синдром, гиперпролактинемия (8%), патология иммунной системы – системная красная волчанка, антифосфолипидный синдром (8%), другие заболевания – гастрит, гепатит С (10%).

Критерии включения в исследование: патологоанатомический диагноз – хронический эндометрит, клинические диагнозы при направлении на исследование – бесплодие, патология I триместра беременности – аборт, раннее невынашивание беременности, попытки ЭКО без эффекта. Критерии исключения из исследования: злокачественные новообразования и предопухолевая патология женской репродуктивной системы.

Пайпель-биоптаты были получены в направивших медицинских учреждениях преимущественно на 9–10-е дни МЦ, помещены в раствор забуференного нейтрального формалина и доставлены в лабораторию. После автоматической проводки с использованием

раствора для гистологической проводки на основе изопропилового спирта (Изопреп, Биовитрум) в гистопроцессоре Leica ASP200 (Leica Microsystems Nussloch GmbH, ФРГ) проводили заливку в парафин и изготавливали срезы толщиной 3–4 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое окрашивание выполнено с использованием автоматического аппарата для иммуногистохимии (ИГХ) «Бонд-макс» (Bond-MaX, Leica Mikrosystems Vertrieb GmbH, ФРГ) в соответствии с рекомендациями производителя антител к антигенам CD3(LN 10) и CD79-альфа(11E3) Bond RTU Primary производства Leica Biosystems. Согласно Nordic Quality immunohistochemical Control (NordiQC), белок CD3 – это пан-Т-клеточный маркер, который, за исключением слабой экспрессии в клетках Пуркинью и активированных NK-клетках, обнаруживается только в Т-клетках, преимущественно на их поверхности. Антиген CD79-альфа специфичен для В-клеток, появляется до стадии пре-В-клеток, присутствует и в плазматических клетках, в подавляющем большинстве В-клеточных новообразований. При ИГХ с антителами к CD79-альфа в клетках мантийной зоны, зародышевых центров лимфоидных узлов миндалин, толстой кишки выявляется мембранное окрашивание, а в плазмочитах и активированных В-клетках – и сильное цитоплазматическое окрашивание.

В материале пайпель-биоптатов оценивали состояние железистого и стромального компонентов эндометрия, наличие клеточных инфильтратов в люминальном эпителии, субэпителиально, в строме и перигландулярно с учетом их объема и клеточного состава – присутствие CD3-позитивных Т-клеток и CD79-альфа – положительных В-лимфоцитов и плазматических клеток, а также наличие признаков фиброза в ткани, формирование картины типа «водоворота» вокруг маточных желез, состояние сосудов эндометрия. Препараты исследовали с помощью микроскопа Leica DM 3000 с цифровой камерой (ув. x100, x200, x400). Результаты обрабатывали статистически с помощью программы IBM SPSS Statistics 23 с использованием описательных параметрических и непараметрических статистических методов.

Результаты исследования и их обсуждение. У большинства женщин исследованной группы имел место осложненный акушерско-гинекологический анамнез: невынашивание беременности, выкидыши, аборт, неразвивающиеся беременности, неудачные попытки ЭКО. 24 женщины (48%) принимали комбинированные пероральные контрацептивы и гормональные препараты, у 60% женщин в анамнезе имелись гинекологические заболевания и экстрагенитальная патология.

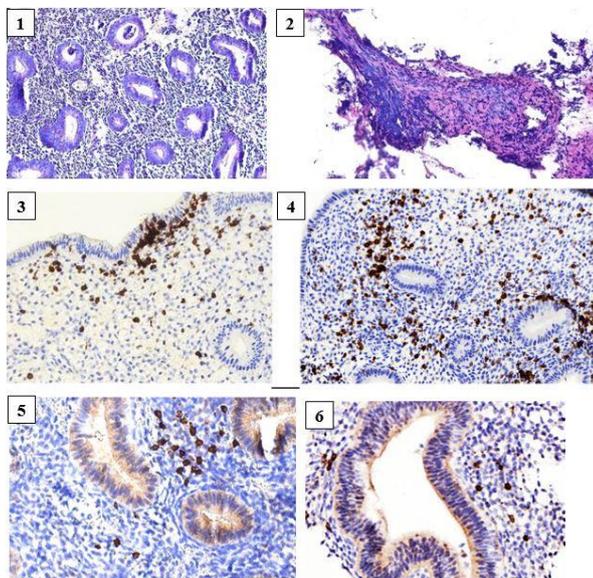
При гистологическом исследовании пайпель-биоптатов эндометрия, полученных в пролиферативную фазу МЦ, преимущественно на $9,8 \pm 2,35$ дни (max – 20, min – 5), выявили: 1) 37 (82%) из 50 образцов соответствовали средней стадии пролиферации (рис. 1), в 36

Добавлено примечание ([С1]): если это организация, то нужно взять в кавычки

случаях (72%) железы имели округлую форму, в 14 (28%) наблюдениях отдельные железы приобретали извитость; 2) фиброз стромы диагностирован в большинстве наблюдений (рис. 2) – в 45 случаях (90%); 3) в 46 случаях (92%) выявлен отек стромы; 4) в 31 наблюдении (62%) диагностированы различные виды кровоизлияний. При исследовании наличия лимфоидных клеточных инфильтратов в эндометрии с локализацией в люминальном эпителии, субэпителиально, в строме и перигландулярно диагностировали: 1) во всех наблюдениях (50 случаев, 100%) присутствовала стромальная лимфоидная инфильтрация; 2) интраэпителиальные лимфоцитарные инфильтраты выявлены в 16 наблюдениях (35,5%); 3) в 15 случаях (33,3%) присутствовала субэпителиальная инфильтрация; 4) в 7 наблюдениях (15,5%) выявлены перигландулярные инфильтраты.

При ИГХ-исследовании пайпель-биоптатов установили (рис. 3–6): 1) во всех 50 наблюдениях (100%) в эндометрии присутствовали CD3-позитивные Т-лимфоциты, тогда как CD79-альфа-положительная популяция В-клеток и плазматических клеток выявлена только у 24 пациенток (53,3%); 2) стромальная инфильтрация CD3-позитивными Т-лимфоцитами различной степени выраженности выявлена у всех 50 пациенток (в 100% случаев), интраэпителиальная – в 17 наблюдениях (34%), субэпителиальная – в 18 случаях (36%), перигландулярная – в 10 наблюдениях (20%); 3) CD3-положительные Т-лимфоциты встречались как в виде одиночных, рассеянных в эндометрии клеток, так и в виде мелких и средних групп клеток, а также в виде достаточно крупных лимфоидных скоплений; CD79-альфа-позитивные В-клетки и плазмоциты чаще всего были единичными, иногда встречались в виде малочисленных групп, редко – в виде относительно крупных скоплений.

Ранее для иммуногистохимической диагностики ХЭ применялись различные панели ИГХ-маркеров, включающие антитела к следующим субпопуляциям лимфоцитов и структурам эндометрия: CD4 (зрелым Т-лимфоцитам-хелперам), CD8 (зрелым Т-лимфоцитам-эффекторам), CD10 (фолликулярным Т-хелперам, В-



Гистологические и иммуногистохимические особенности эндометрия при хроническом эндометрите

- 1 – Пациент женского пола, 38 лет, хронический эндометрит, гистологическое строение эндометрия на 10-й день менструального цикла, окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100;
- 2 – Пациент женского пола, 40 лет, хронический эндометрит, фиброз стромы эндометрия; окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100;
- 3 – Пациент женского пола, 31 год, хронический эндометрит, интра- и субэпителиальная инфильтрация CD3-позитивными Т-лимфоцитами, увеличение x200;
- 4 – Пациент женского пола, 31 год, хронический эндометрит, стромальная и перигландулярная инфильтрация CD3-позитивными Т-лимфоцитами, увеличение x200;
- 5 – Пациент женского пола, 38 лет, хронический эндометрит, инфильтрация CD79-альфа-положительными В-лимфоцитами и плазматическими клетками, увеличение x400;
- 6 – Пациент женского пола, 39 лет, хронический эндометрит, инфильтрация CD79-альфа-положительными В-лимфоцитами и плазматическими клетками, увеличение x400

лимфоцитам герминативного центра, нейтрофильным гранулоцитам), CD20 (наивным неактивированным В-лимфоцитам), CD56 (NK-клеткам), CD68 (моноцитам, гистиоцитам, CD68 – пангистиоцитарный маркер), CD138 (плазматическим клеткам), LIF (LIF – лейкозингибирующий фактор, полифункциональный цитокин, необходимый для имплантации бластоцисты) и некоторые другие. В качестве многообещающего маркера для плазматических клеток эндометрия рассматривается онкоген множественной миеломы (MUM)-1, фактор транскрипции, экспрессируемый на поздних стадиях дифференцировки В-клеток [10]. Плазматические клетки накапливаются фокально в строме эндометрия, а не распределяются равномерно, и могут быть пропущены в небольших образцах биопсии эндометрия, тогда как комбинация CD138 и MUM-1 потенциально может компенсировать недостатки каждого

молекулярного маркера при обнаружении плазмочитов [11]. Результаты настоящего исследования указывают на возможность иммуногистохимической диагностики ХЭ с применением антител CD3(LN 10) и CD79-альфа(11E3) для выявления CD3, являющегося пан-Т-клеточным маркером, и CD79-альфа – наиболее универсального из В-клеточных маркеров, включающего и CD138-позитивные плазматические клетки. Полученные данные свидетельствуют об эффективности верификации CD3-позитивных Т-лимфоцитов в различных структурах эндометрия, в то время как CD79-альфа положительная популяция В-клеток и плазматических клеток выявляется значительно реже, чаще всего в виде единичных клеток или малочисленных групп.

Полученные данные и описанные в литературе факты указывают на справедливость утверждения K. Klimaszyk et al. (2023) о том, что многие аспекты этиопатогенеза хронического эндометрита до настоящего времени изучены недостаточно, а стандарты морфологической диагностики не в полной мере отвечают современным требованиям, в связи с этим «очень важно достичь консенсуса по диагностике ХЭ, необходимо расширение международного сотрудничества и создание хорошо продуманных мультицентровых исследований» для изучения ХЭ [12].

Заключение. Полученные результаты подчеркивают актуальность проблемы морфологической диагностики хронического эндометрита, об этом свидетельствует высокая частота данной патологии у женщин репродуктивного возраста, ассоциированной с развитием бесплодия, ранним невынашиванием беременности. В ограниченном объеме материала пайпель-биоптатов при ХЭ выявлены наиболее часто встречающиеся патологические изменения в эндометрии: фиброз стромы, лимфоидная инфильтрация CD3- позитивными Т-лимфоцитами; CD79-альфа-положительные инфильтраты, состоящие из В-клеток и плазмочитов, выявлялись значительно реже. При диагностике ХЭ можно рекомендовать учитывать выраженность и различную локализацию клеточных инфильтратов – стромальную, интраэпителиальную, субэпителиальную и перигландулярную. Иммуногистохимическое исследование с применением антител к антигенам CD3(LN 10) и CD79-альфа(11E3) является информативным методом для верификации в эндометрии Т-лимфоцитов, В-клеток и плазмочитов, соответственно, для оценки степени активности воспалительного процесса при ХЭ.

Список литературы

1. Moreno I., Cicinelli E., Garcia-Grau I., Gonzalez-Monfort M., Bau D., Vilella F., De Ziegler D., Resta L., Valbuena D., Simon C. The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic

women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2018. Vol. 218. Is. 6. P. 602.e1-602.e16. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.02.012.3.

2. Кондриков Н.И., Барина И.В. Патология матки. Руководство для врачей. 2-е изд. М.: Практическая медицина, 2019. 352 с.

3. 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. Vol. 45. Is. 5. P. 951-960. DOI: 10.1111/jog.13937.

4. Гончарова Е.А., Волкова Л.В., Пашов А.И., Рачковская В.В. Хронический эндометрит: актуальные проблемы диагностики // *Сибирское медицинское обозрение.* 2022. № 5. С. 5-11. DOI: 10.20333/25000136-2022-5-5-11.

5. Xu Y., Mei J., Diao L., Li Y., Ding L. Chronic endometritis and reproductive failure: role of syndecan-1 // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2020. Vol. 84. Is. 3. P. e13255. DOI: 10.1111/aji.13255.

6. Hirata K., Kimura F., Nakamura A., Kitazawa J., Morimune A., Hanada T., Takebayashi A., Takashima A., Amano T., Tsuji Sh., Kaku Sh., Kushima R., Murakami T. Histological diagnostic criterion for chronic endometritis based on the clinical outcome // *BMC Women's Health.* 2021. Vol. 2. P. 1-11. DOI: 10.118/s12905-021-01239-y.

7. Puente E., Alonso L., Laganà A.S., Ghezzi F., Casarin J., Carugno J. Chronic endometritis: old problem, novel insights and future challenges // *Int. J. Fertil. Steril.* 2020. Vol. 13. Is. 4. P. 250-256. DOI: 10.22074/ijfs.2020.5779.

8. McQueen D.B., Maniar K.P, M.D., Hutchinson A., Confino R., Bernardi L., Pavone M.E. Redefining chronic endometritis: the importance of endometrial stromal changes // *Fertility and Sterility.* 2021. Vol. 116. Is. 3. P. 855-860. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.04.036.

9. Zhang Q., Yang G., Xiong Yu., Tan J., Chen Ch., Gu F., Xu Ya. Impact of antibiotic cured chronic endometritis on perinatal outcomes: re-evaluation of a cohort study with a detailed follow-up // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2023. Vol.90. Is. e13751. P. 1-7. DOI: 10.1111/aji.13751

10. Mihara M., Yasuo T., Kitaya K. Precision Medicine for chronic endometritis: computer-aided diagnosis using deep learning model // *Diagnostics.* 2023. Vol. 13. Is. 936. P. 1-13. DOI: 10.3390/diagnostics13050936.

11. Yasuo T., Kitaya K. Challenges in clinical diagnosis and management of chronic endometritis // *Diagnostics.* 2022. Vol. 12. P. 2711. DOI: 10.3390/diagnostics12112711.

12. Klimaszyk K., Svarre Nielsen H., Wender-Ozegowska E., Kedzia M. Chronic endometritis - is it time to clarify diagnostic criteria? // *Ginekol. Pol.* 2023. Vol. 94. Is. 2. P. 152-157. DOI: 10.5603/GP. a2022.0147.