

М.В. Медведєв¹
І.С. Шпонька¹
О.М. Алтанець²
В.Р. Скорик¹

¹ ДЗ «Дніпропетровська
медична академія МОЗ
України»

² Міський пологовий бу-
динок № 1 м. Дніпро

Надійшла: 19.05.2018

Прийнята: 06.06.2018

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.46-54>

УДК 618.1-007.415-06:618.177]-074/-078

ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУНОФЕНОТИПІВ НОРМАЛЬНОГО ЕНДОМЕТРІЮ, ЕУТО- ПІЧНОГО ТА ЕКТОПІЧНОГО ЕНДОМЕТ- РІЮ ЖІНОК ІЗ ЕНДОМЕТРІОЗОМ І БЕЗ- ПЛІДДЯМ

© Morphologia. – 2018. – Т. 12, № 2. – С. 46-54.

© М.В. Медведєв (ORCID 0000-0002-0443-0572), І.С. Шпонька, О.М. Алтанець,
В.Р. Скорик, 2018

✉ medvedev.mv@gmail.com; olena.m.alt@gmail.com.

Medvedev M.V., Altanets O.M., Spon'ka I.S., Skoryk V.R. Characteristic of immunophenotypes of normal endometrial, eutopic and ectopic endometrial tissue in women with endometriosis and infertility.

ABSTRACT. Background. Endometriosis is considered as one of the most common causes of infertility in women. Despite the numerous published data on this subject, early stage diagnosis remains very low. Histologically normal endometriosis does not differ from the eutopic endometrium, so the search for features is transferred to the molecular level. **Objective.** Assess immunohistochemical markers ER, PGR, Ki-67, BCL-2, MMP-9 in normal endometrial, eutopic and ectopic endometrial tissue in women with endometriosis and infertility. **Methods.** 3 groups were divided according to expression of investigated marker in glands (ER, PGR, Ki-67, BCL-2, MMP-9) and stroma (ER, PGR, Ki-67). The strict included/excluded options (clinical and/or morphological) were used for organizing these groups. Rating staining immunohistochemical markers was conducted in at least 10 fields of view. Statistical processing of the data included nonparametric tests. **Results.** The statistical difference between normal endometrium and both eutopic and ectopic endometrium was established for markers ER, PGR, MMP-9; between normal and eutopic endometrium was set for markers BCL-2, Ki-67 ($p < 0.05$ on all of characteristics). No case was there with statistical difference between eutopic and ectopic endometrium. **Conclusion.** For the diagnosis of endometriosis with women with infertility the complex of immunohistochemical markers ER, PGR, MMP-9 can be useful and also BCL-2, Ki-67 could be added as ability for improving an accuracy of suggested method.

Key words: Eutopic and ectopic endometrium, endometriosis, infertility, immunohistochemical studies, ER, PGR, Ki-67, BCL-2, MMP-9.

Citation:

Medvedev MV, Altanets OM, Spon'ka IS, Skoryk VR. [Characteristic of immunophenotypes of normal endometrial, eutopic and ectopic endometrial tissue in women with endometriosis and infertility]. Morphologia. 2018;12(2):46-54. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.46-54>.

Вступ

Ендометріоз вважається однією з найпоширеніших та загадкових хвороб серед жінок репродуктивного віку. Незважаючи на вдосконалення діагностичних підходів, верифікація даного діагнозу відбувається із суттєвим запізненням [1]. Особливої уваги потребує ендометріоз у жінок із безпліддям, через відсутність впливу лікування на настання вагітності як на ранніх стадіях ендометріозу, та і на пізніх клінічно виражених [2].

Останнім часом набирає актуальності питання різниці нормального ендометрію (НЕ) та еутопічного ендометрію (ЕуЕ) у хворих на ендометріоз, через менш сприятливі характеристики останнього до імплантації ембріона, що призво-

дить до безпліддя у таких жінок [3]. Вже опубліковані численні дані про відмінності профілю ЕуЕ (серед яких регуляція молекул адгезії, зростання ангиогенезу, збільшення активності ароматази) [4, 5], не зважаючи на що досі залишається неможливою точна верифікація даного діагнозу за умови малоінвазивного втручання, особливо, на доклінічних стадіях захворювання.

Мета

Оцінити наявність та надати характеристику морфологічній різниці НЕ, ЕуЕ жінок із ендометріозом й безпліддям та ектопічних вогнищ ендометріозу (ЕВЕ) у цих же пацієнток.

Матеріали та методи

Загальна кількість випадків, що підлягали дослідженню, становила 63, із яких: 18 випадків

(контрольна група)— фрагменти НЕ та 45 випадків (досліджувана група)— фрагменти ендометріальної тканини жінок із клінічними проявами ендометріозу та безпліддям (де 24 випадки — ЕуЕ та 21 випадок —ЕВЕ). Матеріал було отримано під час Ripell-біопсії ендометрію жінкам репродуктивного віку у проліферативній фазі менструального циклу та лапароскопії із біопсією вогнищ ендометріозу з наступною гістологічною верифікацією зовнішнього генітального ендометріозу. Набір матеріалу проводився на клінічній базі кафедри акушерства і гінекології ДЗ «ДМА МОЗ України» - гінекологічному відділенні Обласної клінічної лікарні ім. Мечникова, м. Дніпро у період з 2014 по 2016рр.. Середній вік пацієнок у контрольній та досліджуваній групі становив 32,14±1,57р. та 33,79±2,04р від-

повідно.

Морфологічне дослідження передбачало два етапи:

1. гістологічне підтвердження проліферативної фази НЕ та ЕуЕ, наявності ЕВЕ, достатнього об'єму та якості матеріалу для наступного імуногістохімічного дослідження. Оцінювались мікропрепарати, забарвлені за стандартною методикою гематоксиліном і еозином.

2. імуногістохімічне дослідження мікропрепаратів, забарвлених непрямым імунопероксидазним методом, відповідно до протоколів компанії-виробника TermoScientific (TS) (США) із використанням системи візуалізації Quanto, DAB Chromogen та панелі первинних моноклональних антитіл, що їх характеристики наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

Характеристика первинних антитіл

Первинне антитіло	Клон	Виробник	Розведення	Локалізація специфічної реакції
ER Ab-1	sp-1	TS	1:200	ядро
PRG	YR85	TS	1:200	ядро
Ki-67	sp6	TS	1:250	ядро
BCL-2 alpha Ab-1	100/D5	TS	1:50	цитоплазма
MMP-9 Ab-1	GE-213	TS	1:200	цитоплазма

Для оцінювання гістологічної будови та одержаних імуногістохімічних реакцій використовувався мікроскоп LeicaDM 2000, збільшення 100x, 200x, 400x. Обчислювання отриманих реакцій проводилось напівкількісним методом незалежно двома патоморфологами у залозистому епітелії та стромі ендометріальної тканини (для ER, PRG, Ki-67) та тільки у залозистому епітелії (для BCL-2, MMP-9).

Маркери ER, PRG: визначався відсоток позитивних клітин (ПК) та ступінь інтенсивності їх забарвлення (слабкий (коефіцієнт (k)=1), помірний (k=2), виражений (k=3)), спираючись на ці дані, розраховувався індекс H-score за формулою $[1 \times (\% \text{ клітин із } k=1) + 2 \times (\% \text{ клітин із } k=2) + 3 \times (\% \text{ клітин із } k=3)]$ [6]. Маркер Ki-67: визначався відсоток ПК із 100 клітин у не менш, ніж 10 полях зору, при збільшенні 400x [7; 8]. Маркери BCL-2, MMP-9: відсоток ПК і ступінь інтенсивності їх забарвлення інтерпретувались у якісний показник: 0 — відсутня та/чи неспецифічна реакція, 1+ — слабка інтенсивність забарвлення (від 0% до 25% ПК), 2+ — помірна (26-50% ПК), 3+ — виражена (>51% ПК) [9; 10].

Статистична обробка даних включала показники варіаційного ряду (середня арифметична, стандартна похибка середньої арифметичної,

медіана), екстенсивні показники (відсоткова частка, %), непараметричні Хі-квадрат критерій для шкал із якісних даних та U-критерій Манна-Уїтні для кількісних, які обчислювались за допомогою програми Statistica 17.0 (серійний номер AGAR909E4158 22FA).

Результати та їх обговорення

Гістологічно серед випадків НЕ в 11 (61,1%) було визначено ранню проліферативну фазу та у 7 (38,9%) - пізню. В 10 випадках (41,7%) ЕуЕ зазначено секреторні зміни. У всіх ЕВЕ були присутні характеристики проліферативного ендометрію.

Панель імуногістохімічного профілю досліджуваних типів ендометрію включала визначення стероїдних рецепторів ER, PRG (як показників результату впливу естрадіолу, прогестину на клітинний цикл (проліферацію та диференціацію клітин), апоптоз, децидуацію ендометрію), характеристику проліферативної активності залозистого епітелію та стромі за експресією Ki-67, аналіз продукції білків BCL-2 (маркеру апоптозу) та MMP-9 (що має ключову роль у ремоделінгу структур позаклітинного матриксу та ангіогенезу) [2; 11; 12].

Результати отриманих реакцій із маркером ER наведено у таблиці 2.

Експресія ER у досліджуваних типах ендометріальної тканини

	ER							
	залозистий епітелій				строма			
	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+
Контрольна група (1) (n=18)	-	1 (5,5%)	5 (27,8%)	12 (66,7%)	-	2 (11,1%)	7 (38,9%)	9 (50,0%)
Еутопічний ендометрій (2) (n=24)	1 (4,2%)	6 (25,0%)	11 (45,8%)	6 (25,0%)	1 (4,2%)	4 (16,6%)	10 (41,7%)	9 (37,5%)
Ектопічний ендометрій (3) (n=21)	3 (14,3%)	5 (23,8%)	7 (33,3%)	6 (28,6%)	5 (23,8%)	3 (14,3%)	6 (28,6%)	7 (33,3%)
p	1-2 0,044 / 2-3 0,394 / 1-3 0,050				1-2 0,714 / 2-3 0,276 / 1-3 0,150			

У групі HE всі спостереження мали специфічне забарвлення залозистого епітелію. Переважну більшість склали випадки із вираженою експресією у залозистому епітелії (H-score>200) (12 із 18, 66,7%) та лише в одному випадку (5,5%) спостерігалась слабка реакція.

У групі ЕуЕ екстремумом стала кількість спостережень із помірно вираженою реакцією (100<H-score<200): 45,8% (11 із 24 випадків). Також, значно менша і більша кількість спостережень із вираженою та слабкою реакцією відповідно (по 25,0%, 6 із 24 випадків) спостерігалась порівняно із групою HE. Щодо групи ЕВЕ, отримані результати відображають здебільшого рівномірний розподіл випадків за категоріями, проте найбільша кількість спостережень, як і у ЕуЕ групі, характеризувалась помірно вираженою реакцією (33,3%, 7 із 21 випадку). Також, для ЕВЕ у 14,3% була характерна відсутність експресії ER у залозистому епітелії. Таким чином, ми можемо говорити про різницю між характером забарвлення на ER у HE і ЕуЕ та у HE і ЕВЕ, що підтверджено статистично (p>0,05 за всіма показниками). В той самий час, різниця між результатами у групах ЕуЕ та ЕВЕ статистично не підтвердилась (p<0,05).

Експресія ER у стромі принципово не відрізнялась поміж досліджуваних груп. Хоча, мала місце тенденція зменшення кількості випадків із реакцією 3+ від групи HE (50,0%, 9 із 18 випадків) до ЕВЕ (33,3%, 7 із 21 випадку). Та, навпаки, збільшення відсотку спостережень із негативною реакцією від групи HE (жодного випадку) до групи ЕВЕ (23,8%, 5 із 21 випадку). Не зважаючи на очевидні розбіжності результатів, статистично достовірної різниці між даними не встановлено (p>0,05 за всіма показниками).

Дані щодо експресії маркера PGR представлені у таблиці 3.

Експресія PGR у залозистому епітелії у гру-

пі HE співвідносилась із даними щодо реакції із ER у тій же локалізації: найбільша кількість випадків із вираженим забарвленням (55,6%, 10 із 18 випадків). Ця тенденція зберігалась і у групі ЕуЕ, але відсоток був менший, порівняно із групою HE: 37,5%, 9 із 24 випадків. Також збільшилась питома вага спостережень із негативною (12,5%, 3 із 24 випадків) та слабкою (20,8%, 5 із 24 випадків) реакціями. У групі ЕВЕ помічено схожий із групою ЕуЕ розподіл спостережень, хоча, потрібно відмітити приналежність екстремуму до категорії H-score від 100 до 200: 38,1%, 8 із 21 випадку, та збільшення відсотку негативних спостережень: 19,0%, 4 із 21 випадку. Не дивлячись на відмінність тенденцій у досліджуваних групах, статистично значуща різниця була виявлена лише між групами HE та ЕВЕ (p<0,05), а отже не може вважатися імуноморфологічною особливістю ЕуЕ.

Забарвлення на PGR у стромі мало очевидну розбіжність між групами. Якщо для переважної більшості спостережень HE були характерні реакції 2+ та 3+ (83,3%, 15 із 18 випадків), то для груп ЕуЕ та ЕВЕ таку більшість склали спостереження із реакцією 1+ та 2+ (75,0%, 18 із 24 випадків та 67,7%, 14 із 21 випадку відповідно). Зазначена різниця результатів між групами HE та ЕуЕ й HE та ЕВЕ у відсотковому еквіваленті є статистично достовірною (p<0,05 за всіма показниками).

Таким чином, ми можемо говорити про значущу різницю для маркера ER у епітелії залоз та PGR у стромі. Такі результати мають частковий збіг із даними інших досліджень, де достовірну різницю вказали у епітелії та стромі ендометрію [13]. На наш погляд розбіжність, можливо, пов'язана із різними критеріями включення пацієнтів: прерогативою нашого дослідження були морфологічні особливості фолікулярної фази, та включені випадки із лютеїною фазою.

Експресія PGR у досліджуваних типах ендометріальної тканини

	PGR							
	залозистий епітелій				строма			
	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+
Контрольна група (1) (n=18)	-	2 (11,1%)	6 (33,3%)	10 (55,6%)	-	3 (16,7%)	7 (38,9%)	8 (44,4%)
Еутопічний Ендометрій (2) (n=24)	3 (12,5%)	5 (20,8%)	7 (29,2%)	9 (37,5%)	3 (12,5%)	10 (41,7%)	8 (33,3%)	3 (12,5%)
Ектопічний ендометрій (3) (n=21)	4 (19,0%)	5 (23,9%)	8 (38,1%)	4 (19,0%)	3 (14,3%)	10 (47,7%)	4 (19,0%)	4 (19,0%)
p	1-2 0,305 / 2-3 0,585 / 1-3 0,047				1-2 0,039 / 2-3 0,930 / 1-3 0,033			

Оцінювання експресії маркера BCL-2 проводилось лише у залозистому епітелії, через неможливість достовірного виключення хибнопо-

зитивної реакції у стромі із лимфоцитами. Отримані дані наведені у таблиці 4.

Таблиця 4

Експресія BCL-2 у досліджуваних типах ендометріальної тканини

	BCL-2			
	0	1+	2+	3+
Контрольна група (1) (n=18)	1 (5,5%)	4 (22,3%)	8 (44,4%)	5 (27,8%)
Еутопічний ендометрій (2) (n=24)	6 (25,0%)	11 (45,8%)	4 (16,7%)	3 (12,5%)
Ектопічний ендометрій (3) (n=21)	4 (19,0%)	9 (42,9%)	5 (23,8%)	3 (14,3%)
p	1-2 0,047 / 2-3 0,916 / 1-3 0,195			

Група HE характеризувалась тенденцією збільшення кількості спостережень по мірі збільшення ступеню інтенсивності забарвлення: із двома екстремумами — max 44,4%, (8 із 18 випадків) та min 5,5% (1 із 18 випадків), що, можливо, пояснюється збільшенням інтенсивності забарвлення від ранньої проліферативної фази до пізньої, та перевагою у нашому дослідженні спостережень із першою (61,1%, 11 із 18 випадків). Група ЕуЕ демонструвала частково протилежний розподіл питомої ваги спостережень, де найчастіше зустрічалась слабка реакція (1+) (45,8%, 11 із 24 випадків), та чверть спостережень становили випадки із негативною реакцією (25,0%, 6 із 24 випадків). Щодо групи ЕВЕ головною особливістю можна вважати, як і у ЕуЕ групі, регресію експресії BCL-2 порівняно із групою ЕуЕ: найбільша кількість спостережень приходилась на категорії 1+ та 2+ (66,7%, 14 із 21 випадку). Не зважаючи, що відмінності забарвлення на

BCL-2 за даними таблиці досить очевидні, статистичне підтвердження дістала лише різниця між HE та ЕуЕ ($p < 0,05$).

Отримані результати співпадають із опублікованими даними щодо зменшення експресії BCL-2 у ЕВЕ та збільшення — протягом фолікулярної фази [14; 15]. Тоді, як збереження відносно великої кількості BCL-2 у клітинах залозистого епітелію може пояснити їх виживаність за межами ендометрію [16].

Визначення проліферативної активності за експресією Ki-67, переважно, використовується для оцінювання прогнозу, вірогідності рецидиву та тактики лікування ендометріозу [17]. Нас цікавила прогностична валідність даного маркера. Враховуючи той факт, що у науковій спільноті представлено ряд методик оцінювання експресії Ki-67 та, водночас, не наведено чітких критеріїв його оцінки для непухлинних процесів ендометрію, нами була обрана методика ВООЗ для оці-

нювання пухлин із невизначеним злоякісним потенціалом, що також використовується [2].

Отримані дані наведені у таблиці 5.

Таблиця 5

Експресія Ki-67 у досліджуваних типах ендометріальної тканини

	Ki-67			
	залозистий епітелій		строма	
	СА±СПС*	Ме**	СА±СПС	Ме
Контрольна група (1) (n=18)	28,9±4,11	23,0	9,86±1,48	9,0
Еутопічний ендометрій (2) (n=24)	44,60±3,12	42,0	10,25±1,03	10,0
Ектопічний ендометрій (3) (n=21)	35,67±4,03	31,5	9,56±1,23	8,5

Примітка: * СА±СПС – середня арифметична±стандартна похибка середньої арифметичної, **Ме-медіана.

Експресія Ki-67 характеризувалась гетерогенністю у залозистому епітелії у HE, ЕуЕ та, переважно, монотонністю - у ЕВЕ. Реакція у стромі мала відносно рівномірне розподілення у залозах і стромі у всіх групах. Найбільше значення Ki-67 у залозистому епітелії визначалось у групі ЕуЕ (44,60±3,12%), що було достовірно більше ніж загальний результат у групі HE (28,9±4,11%) (Укритерій=109,5, коли $p < 0,05$ при Укритерій=130,0) та не достовірно більше середнього значення по групі ЕВЕ (35,67±4,03%) (Укритерій=130,5). Також відмінність статистично не підтвердилась між результатами у групах HE та ЕВЕ (Укритерій=139,5). У стромі досліджуваної ендометріальної тканини кінцевий по-

казник експресії Ki-67 мав значення близькі до 10% у всіх трьох групах, що свідчить на користь відсутності показової різниці та підтверджено статистично (Укритерій>130, $p > 0,05$).

Отримані результати також підтверджуються запропонованою теорією розвитку ендометріозу, а саме одночасне збільшення відсотку Ki-67 ПК та зменшення VCL-2 ПК є однією з ланок базису для виходу ендометріальних клітин за межі ендометрію, та опублікованими даними щодо збільшення експресії Ki-67 у жінок із ендометріозом, які не проходили лікування [18; 19].

Результати аналізу експресії маркеру MMP-9 надані у таблиці 6.

Таблиця 6

Експресія MMP-9 у досліджуваних типах ендометріальної тканини

	MMP-9			
	0	1+	2+	3+
Контрольна група (1) (n=18)	3 (16,7%)	10 (55,5%)	3 (16,7%)	2 (11,1%)
Еутопічний ендометрій (2) (n=24)	1 (4,2%)	4 (16,6%)	6 (25,0%)	13 (54,2%)
Ектопічний ендометрій (3) (n=21)	1 (4,8%)	4 (19,0%)	7 (33,3%)	9 (42,9%)
p	1-2 0,042 / 2-3 0,895 / 1-3 0,048			

Для HE у 55,5% було характерним слабке забарвлення (10 із 18 випадків), тоді як реакції 2+ та 3+ загалом зустрічались у 2 рази рідше (27,6%, 5 із 18 випадків). Спираючись на контрольну групу, ми можемо наголосити на наступних тенденціях. По-перше, у обох ЕуЕ та ЕВЕ переважали виражені (54,2%, 13 із 24 випадків та 42,9%, 9 із 21 випадку відповідно) та помірно виражені (25,0%, 6 із 24 випадків та 33,3%, 7 із 21 випадку

відповідно) реакції. Що свідчило про відсутність відмінностей у цих вибірках за даним критерієм ($p > 0,05$ за всіма показниками). По-друге, розподіл спостережень у групах ЕуЕ та ЕВЕ суттєво відрізнявся від такого у групі HE, що підтверджено статистично ($p < 0,05$ за всіма показниками).

Сьогодні є актуальною теорія, за якою ген MMP-9 є ланкою у виникненні ендометріозу [20;

21]. Отримані дані, що у еутопічному ендометрії показники експресії MMP-9 статистично достовірно вищі таких у нормальному ендометрії, надають підтвердження зазначеній теорії.

Таким чином, наявність достовірної різниці у результатах експресії досліджуваних маркерів між НЕ й обома ЕуЕ і ЕВЕ, а також відсутність

значущої різниці даних між характеристиками ЕуЕ та ЕВЕ дозволяють створити комплекс діагностичних критеріїв (рис. 1), що їх метою є визначення ЕВЕ у жінок із безпліддям та без клінічної маніфестації ендометріозу за допомогою імуногістохімічного дослідження.

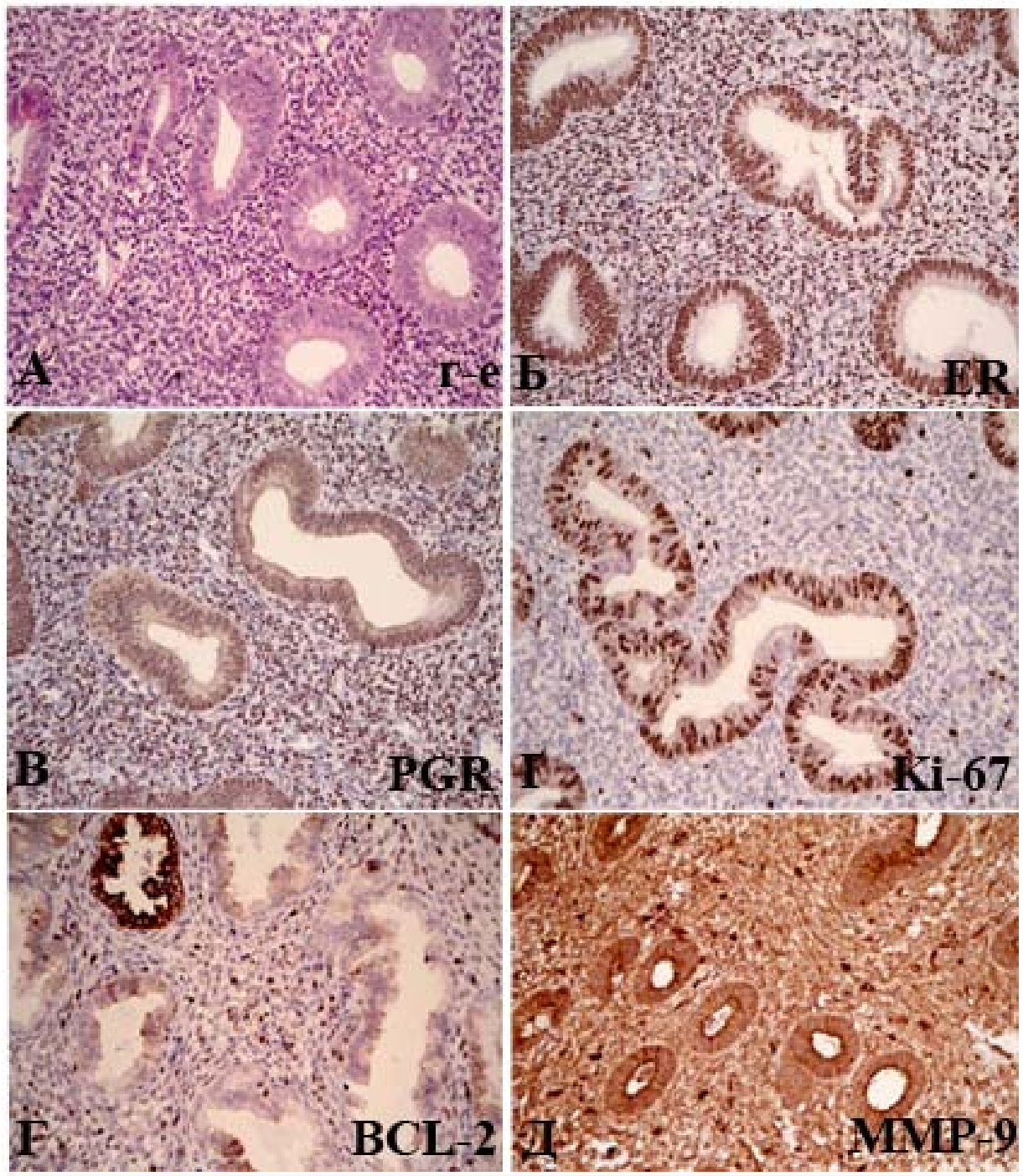


Рис. 1. Імунофенотип еутопічного ендометрію. А. Проліферативна фаза, забарвлення гематоксиліном та еозином. Б. Помірно виражена експресія (2+) ER у залозах. В. Слабка експресія (1+) PGR у стромі. Г. Значення Ki-67 у залозистому епітелії в межах 40%. Д. Переважно негативна (0) експресія BCL-2 у залозистому епітелії, одиничні залози із вираженим забарвленням (3+). Д. Виражена експресія (3+) MMP-9 у залозистому епітелії. Б-Д. Забарвлення імуногістохімічним методом, додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра. $\times 400$.

Висновки

Аналіз імуногістохімічних особливостей нормального ендометрію, еутопічного ендометрію та ектопічних його осередків пацієнток із ендометріозом та безпліддям дозволив зробити наступні висновки:

1. Встановлені достовірні відмінні імуногістохімічні характеристики одночасно еутопічного ендометрію та ектопічних осередків від нормального ендометрію ($p < 0,05$ за всіма показниками): ER – у залозистому епітелії, переважно, 2+ чи 3+(70,8%), PGR – у стромі: 1+ чи 2+(75,0%), MMP-9 – 3+ чи 2+(79,2%).
2. Встановлені достовірні відмінні імуногі-

стохімічні характеристики еутопічного ендометрію від нормального ендометрію ($p < 0,05$ за всіма показниками): BCL-2 – переважно, 1+ чи негативна (70,8%), Ki-67 – у залозистому епітелії $44,60 \pm 3,12$, які можна додатково включити до діагностичного комплексу з метою підвищення його точності.

Перспективи подальших розробок

Отримані дані аргументують необхідність подальшого пошуку статистично достовірних диференційних характеристик еутопічного та/чи ектопічного ендометрію, що зможуть підвищити якість діагностування ранніх стадій ендометріозу.

Літературні джерела References

1. Adamyan LV, Aznurova YaB [Molecular aspects of the pathogenesis of endometriosis]. *Reproduction problems*. 2015;5:66-77. Russian. DOI:10.17116/repro201521266-77.
2. Adamyan LV, Farhat KN, Makiyan ZN, Savilova AM [Molecular and biological characteristics of the eutopic endometrium]. *Reproduction problems*. 2015;5:8-16. Russian. DOI:10.17116/repro20152158-16.
3. Gupta S, Goldberg JM, Aziz N, Goldberg E, Krajcir N, Agarwal A Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril*. 2008;90:247-57. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.02.093.
4. Bourlev V, Volkov N, Pavlovitch S, Lets N, Larsson A, Olovsson M The relationship between microvessel density, proliferative activity and expression of vascular endothelial growth factor-A and its receptors in eutopic endometrium and endometriotic lesions. *Reproduction*. 2006;132:501-9. PMID: 16940291.
5. Sharpe-Timms KL Endometrial anomalies in women with endometriosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;943:131-47. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb03797.
6. McCarty KS, Jr Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty KSSr Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med*. 1985;109(8):716-21. PMID:3893381.
7. Saraiva AL, Payan-Carreira R, Gärtner F, Marta RFC, Rêma A, Faria F, Lígia ML, Pires MA An immunohistochemical study on the expression of sex steroid receptors, Ki-67 and cytokeratins 7 and 20 in feline endometrial adenocarcinomas. *BMC veterinary research*. 2015;11(1):204. doi: 10.1186/s12917-015-0530-6.
8. Gompel A, Sabourin JC, Martin A, Yaneva H, Audouin J, Decroix Y, Poitout P Bcl-2 expression in normal endometrium during the menstrual cycle. *The American journal of pathology*, 1994;144(6):11-5. PMID: 8203460, PMCID: PMC1887458.
9. Yi KW, Kim SH, Ihm HJ, Oh YS, Chae HD, Kim CH, Kang BM Increased expression of p21-activated kinase 4 in adenomyosis and its regulation of matrix metalloproteinase-2 and-9 in endometrial cells. *Fertility and sterility*. 2015;103(4):1089-97. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.124.
10. Kaya HS, Hantak AM, Stubbs LJ, Taylor RN, Bagchi IC, Bagchi MK. Roles of progesterone receptor A and B isoforms during human endometrial decidualization. *Molecular Endocrinology*. 2015;29(6):882-95. doi: 10.1210/me.2014-1363.
11. Liu H, Wang J, Wang H, Tang N, Li Y, Zhang Y, Hao T Correlation between matrix metalloproteinase-9 and endometriosis. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(10):133-9. PMID: 26722547, PMCID: PMC4680492.
12. Shevra CR, Ghosh A, Kumar M Cyclin D1 and Ki-67 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *Journal of postgraduate medicine*. 2015;61(1):15. doi: 10.4103/0022-3859.147025, PMID: 25511212, PMCID: PMC4944360.
13. Burlev VA, Ilyasova NA [Sex hormone levels and the nucleons isoforms expression of estrogen and progesterone receptors in eutopic endometrium of patients with peritoneal form endometriosis and infertility]. *Reproduction problems*. 2016;22(4):66-75. Russian.
14. Korkmaz D, Bastu E, Dural O, Yasa C, Yavuz E, Buyru F Apoptosis through regulation of Bcl-2, Bax and Mcl-1 expressions in endometriotic cyst lesions and the endometrium of women with moderate to severe endometriosis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2013;33(7):725-728.

doi: 10.3109/01443615.2013.824416.

15. Reis FM, Petraglia F, Taylor RN Endometriosis: hormone regulation and clinical consequences of chemotaxis and apoptosis. Human reproduction update. 2013;19(4):406-418. doi: 10.1093/humupd/dmt010.

16. Proestling K, Birner P, Gamperl S, Nirtl N, Marton E, Yerlikaya G, Husslein, H. Enhanced epithelial to mesenchymal transition (EMT) and upregulated MYC in ectopic lesions contribute independently to endometriosis. Reproductive Biology and Endocrinology. 2015;13(1):75. doi: 10.1186/s12958-015-0063-7.

17. Yalcin SE, Ocal I, Yalcin Y, Selim HS, Caltekin MD, Aydogmus H, Kelekci S Evaluation of the Ki-67 Proliferation Index and Urocortin Expression in Women with Ovarian Endometriomas. The Eurasian journal of medicine. 2017;49(2):107-12. doi: 10.5152/eurasianjmed.2017.17070.

18. Park JS, Lee JH, Kim M, Chang HJ, Hwang KJ, Chang KH Endometrium from women with endometriosis shows increased proliferation activity. Fertility and sterility. 2009;92(4):1246-9. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.04.025.

19. Brătîlă EL, Brătîlă CP, Comandaşu DE,

Bauşic V, Vlădescu CT, Mehedinţu C, Berceanu C, Cîrstoiu MM, Mitroi G, Stănculescu R. The assessment of immunohistochemical profile of endometriosis implants, a practical method to appreciate the aggressiveness and recurrence risk of endometriosis. Rom J Morphol Embryol. 2015;56(4):1301-7. PMID: 26743275.

20. Szymanowski K, Mikołajczyk M, Wirstlein P, Dera-Szymanowska A Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMP-1) and transforming growth factor-β2 (TGF-β2) expression in eutopic endometrium of women with peritoneal endometriosis. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2016;23(4):649-53. PMID: 28030938, DOI: 10.5604/12321966.1226861.

21. Ma Y, Shen A, Li C, Xu S, Guo H, Zou S. Targeted interruption of COX-2 gene by siRNA inhibits the expression of VEGF, MMP-9, the activity of COX-2 and stimulates the apoptosis in eutopic, ectopic endometrial stromal cells of women with endometriosis. Zhonghua fu chan ke za zhi. 2015;50(10):770-6. PMID: 26675577.

Медведєв М.В., Шпонька І.С., Алтанець О.М., Скорик В.Р. Характеристика імунотипів нормального ендометрію, еутопічного та ектопічного ендометрію жінок із ендометріозом і безпліддям.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Сьогодні є актуальним питання діагностики ендометріозу, як однієї з головних ланок боротьби із безпліддям. Незважаючи на вдосконалення діагностики, ендометріоз діагностують з великим запізненням. Особливого занепокоєння викликає субклінічний ендометріоз у жінок з безпліддям. Несвоєчасне лапароскопічне лікування пацієнок без клінічної маніфестації призводить до відстрочення настання вагітності, прогресування хвороби та значного зниження фертильності. **Мета** - проаналізувати експресію маркерів ER, PGR, Ki-67, BCL-2, MMP-9 у нормальному, еутопічному та ектопічному ендометрії і визначити характерні особливості передостаннього. **Методи.** Вивчено 24 зразки еутопічного і 21 зразок гетеротопічного ендометрію у жінок із клінічними проявами зовнішнього генітального ендометріозу (досліджувана група), та порівняно з 18 фрагментами нормального еутопічного ендометрію (контрольна група). Використано чіткі клінічні та/чи морфологічні критерії відбору у групи. **Результати.** Статистично достовірна різниця між двома частинами контрольної групи та досліджуваною групою встановлена для маркерів ER, PGR та MMP-9 ($p < 0,05$ за всіма показниками). Статистично вірогідні відмінності мали місце між контрольною групою та лише групою еутопічного ендометрію для маркерів Ki-67 та BCL-2 ($p < 0,05$ за всіма показниками). **Підсумок.** Виявлені тенденції та статистично значущі залежності ($p < 0,05$) дозволили сформуванню характерний імунотип еутопічного ендометрію для жінок із зовнішнім генітальним ендометріозом та безпліддям.

Ключові слова: еутопічний та ектопічний ендометрій, зовнішній генітальний ендометріоз, безпліддя, імуногістохімічне дослідження, ER, PGR, Ki-67, BCL-2, MMP-9.

Медведєв М.В., Шпонька І.С., Алтанець Е.М., Скорик В.Р. Характеристика иммунофенотипов нормального эндометрия, эутопического и эктопического эндометрия женщин с эндометриозом и бесплодием.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Сегодня актуален вопрос диагностики эндометриоза, как одной из главных звеньев борьбы с бесплодием. Несмотря на совершенствование диагностики, эндометриоз диагностируют с большим опозданием. Особое беспокойство вызывает субклинический эндометриоз у женщин с бесплодием. Несвоевременное лапароскопическое лечение женщин с бессимптомными формами эндометриоза приводит к отсрочке наступления беременности, прогрессированию болезни и значительному снижению фертильности. **Цель** - проанализировать экспрессию маркеров ER, PGR, Ki-67, BCL-2, MMP-9 в нормальном, эутопическом и эктопическом эндометрии и определить характерные особенности пред-

последнего. **Методы.** Изучено 24 образца еутопического и 21 образец гетеротопического эндометрия у женщин с клиническими проявлениями наружного генитального эндометриоза (исследуемая группа), и сопоставлено с 18 фрагментами нормального еутопического эндометрия (контрольная группа). Используются четкие клинические и / или морфологические критерии отбора в вышеуказанные группы. **Результаты.** Статистически достоверная разница между двумя частями контрольной группы и исследуемой группой установлена для маркеров ER, PGR и MMP-9 ($p < 0,05$ по всем показателям). Статистически достоверные различия имели место между контрольной группой и только группой еутопического эндометрия для маркеров Ki-67 и VCL-2 ($p < 0,05$ по всем показателям). **Заключение.** Выявленные тенденции и статистически значимые зависимости ($p < 0,05$) позволили сформировать характерный иммунофенотип еутопического эндометрия для женщин с наружным генитальным эндометриозом и бесплодием.

Ключевые слова. еутопический и эктопический эндометий, наружный генитальный эндометриоз, бесплодие, иммуногистохимическое исследование, ER, PGR, Ki-67, VCL-2, MMP-9.