

РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ПРОЦЕССОВ АПОПТОЗА ПРИ НАРУЖНОМ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

Аванесова Т.Г.¹, Левкович М.А.², Ермолова Н.В.², Крукиер И.И.²,
Дударева М.В.²

¹ ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Ростов-на-Дону», г. Ростов-на-Дону, Россия

² ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. В настоящее время наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) признан одной из самых частых патологий у женщин репродуктивного возраста. Наружный генитальный эндометриоз является хроническим заболеванием, поражающем около 10% женщин репродуктивного возраста, приводя к функциональным и структурным изменениям в репродуктивной системе, бесплодию, тазовой боли, снижая качество жизни пациенток. Кроме того, пациентки с эндометриозом нередко страдают депрессией, частота которой особенно высока при наличии боли. При эндометриозе наблюдается дисрегуляция ответа Т-клеточного звена иммунитета, которая заключается в нарушении взаимодействий Т-клеток, макрофагов, НК (натуральных киллеров), В-клеток, позволяющая клеткам эндометрия имплантироваться в экстрагенитальных местах. Выраженное негативное влияние НГЭ на качество жизни больных, их репродуктивную функцию, нарушение адаптации больных в обществе, растущие затраты на лечение определяют социальное значение заболевания и важность его изучения. На сегодняшний день очевидно, что в формировании НГЭ значительную роль играют нарушения иммунной системы, однако несмотря на обширные исследования в этой области, недостаточно изучены процессы апоптоза при НГЭ.

В этой связи целью исследования явилось изучение характера нарушений процессов апоптоза у женщин с I-II и III-IV стадиями наружного генитального эндометриоза.

Было обследовано 71 пациентка с НГЭ, которые были подразделены на 2 группы: 1-я группа – пациентки с I-II стадией НГЭ (n = 31) и 2-я группа – пациентки с III-IV стадией НГЭ (n = 40), в контрольную группу вошли 24 пациентки без НГЭ.

Определение популяционного состава лимфоцитов периферической крови проводили методом лазерной проточной цитометрии, используя реагенты фирмы Immunotex, FITC меченые CD8⁺, CD16⁺ и PE-меченые CD95⁺. Количество лимфоцитов, вступивших в апоптоз, выявляли с использованием диагностического набора, включающего AnnexinV⁺ (FITC) и PI⁺ фирмы Caltag. Результаты учитывали на проточном цитометре BECKMAN COULTER EPICS XL-II, используя стандартные протоколы.

Значимыми причинами НГЭ является дисбаланс процессов активации и апоптоза иммунокомпетентных клеток. Индукция апоптоза по пути Fas-FasL у пациенток с наружным генитальным эндометриозом приводит к снижению цитотоксичности, опосредованной Т-лимфоцитами и НК-клетками. Статистически значимое снижение содержания AnnexinV⁺ презентующих лимфоцитов свидетель-

Адрес для переписки:

Аванесова Татевик Григорьевна
ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина»,
г. Ростов-на-Дону»
344011, Россия, г. Ростов-на-Дону,
ул. Варфоломеева, 92а.
Тел.: 8 (905) 453-59-58.
E-mail: tata_avanosova@mail.ru

Address for correspondence:

Avanesova Tatevik G.
Clinical Hospital of Russian Railways-Medicine of the city of
Rostov-on-Don
344011, Russian Federation, Rostov-on-Don,
Varfolomeev str., 92a.
Phone: 7 (905) 453-59-58.
E-mail: tata_avanosova@mail.ru

Образец цитирования:

Т.Г. Аванесова, М.А. Левкович, Н.В. Ермолова,
И.И. Крукиер, М.В. Дударева «Роль нарушений
процессов апоптоза при наружном генитальном
эндометриозе» // Российский иммунологический
журнал, 2021. Т. 24, № 3. С. 409-412.
doi: 10.46235/1028-7221-1038-ROA

© Аванесова Т.Г. и соавт., 2021

For citation:

T.G. Avanesova, M.A. Levkovich, N.V. Ermolova,
I.I. Krukier, M.V. Dudareva "Role of apoptosis disturbances
in external genital endometriosis", Russian Journal of
Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021,
Vol. 24, no. 3, pp. 409-412.
doi: 10.46235/1028-7221-1038-ROA

DOI: 10.46235/1028-7221-1038-ROA

ствует о нарушении реализации их рецептор-зависимого апоптоза. Нарушение процессов апоптоза может быть ответственным за развитие НГЭ, способствуя пролиферации и росту эндометриoidных имплантатов.

Ключевые слова: наружный генитальный эндометриоз, апоптоз, Т-лимфоциты, NK-клетки, иммунитет

ROLE OF APOPTOSIS DISTURBANCES IN EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS

Avanesova T.G.^a, Levkovich M.A.^b, Ermolova N.V.^b, Krukier I.I.^b,
Dudareva M.V.^b

^a Private Clinical Hospital of Russian Railways-Medicine, Rostov-on-Don, Russian Federation

^b Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. External genital endometriosis (EGE) is currently considered one of the most common disorders in women at their reproductive age. EGE is a chronic disease that affects about 10% of women of reproductive age, leading to functional and structural changes in reproductive system, infertility, pelvic pain, and affects their quality of life. Moreover, the patients with endometriosis often suffer from depression, especially, due to pain syndrome. Endometriosis is associated with dysregulation of T-cell immune response, which presents as altered interactions between T-cells, macrophages, NK (natural killer cells), B-cells, thus allowing ectopic implantation of endometrial cells. The pronounced negative effect of EGE on the quality of life of patients, their reproductive function, impaired adaptation of the patients in community, and growing costs of treatment determine social significance of the disease and importance of appropriate studies. It is obvious that disorders of the immune system play a significant role in IGE development. However, despite extensive research in this area, the processes of apoptosis in IGE have not been sufficiently studied. Therefore, the aim of our study was to assess the origin of apoptosis disorders in women with stage I-II and III-IV of external genital endometriosis.

We examined 71 patients with EGE which were divided into 2 groups: group 1 included the patients with EGE stage I-II (n = 31), and group 2, the patients with stage III-IV EGE (n = 40). The control group included 24 patients without EGE. The population profile of peripheral blood lymphocytes was determined by laser flow cytometry using Immunotex reagents, i.e., FITC-labeled CD8⁺, CD16⁺, and PE-labeled CD95⁺ antibodies. The number of lymphocytes entering apoptosis was detected using a diagnostic kit for AnnexinV⁺ (FITC) and PI⁺ from Caltag. The results were read on a BECKMAN COULTER EPICS XL-II flow cytometer using standard protocols.

An imbalance between activation and apoptosis of immunocompetent cells may be a significant cause of EGE. Induction of apoptosis by the Fas-FasL pathway in patients with external genital endometriosis leads to decreased cytotoxicity mediated by T-lymphocytes and NK-cells. A statistically significant decrease in the content of AnnexinV⁺ presenting lymphocytes suggests impairment of their receptor-dependent apoptosis. Altered apoptosis processes may be responsible for the development of IGE by promotion of proliferation and growth of endometrioid implants.

Keywords: external genital endometriosis, apoptosis, T-lymphocytes, NK-cells, immunity

Введение

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) — одна из ведущих проблем современной гинекологии, он стоит на третьем месте в структуре болезней органов репродуктивной системы у женщин после воспалительных заболеваний придатков матки и миомы матки [1, 2]. НГЭ поражает большую часть женщин репродуктивного возраста и, отрицательно влияя на их физическое, психологическое и социальное состояние, значительно

снижает качество жизни данной категории пациенток [3].

Одна из ведущих теорий развития НГЭ — имплантационная, согласно которой эндометриoidные гетеротопии формируются при ретроградном забросе эутопического эндометрия в малый таз во время менструации. Однако не ясно, почему клетки эндометрия сохраняют жизнеспособность в перитонеуме, имплантируются на органах малого таза и приобретают способность инвазивного роста. В настоящее время эндометриоз рас-

считается как многофакторное заболевание, в развитии которого играют роль генетические, иммунологические, гормональные нарушения, а также стресс, неблагоприятная экологическая обстановка.

Многочисленные исследования доказывают, что при НГЭ происходит нарушение функций иммунной системы, сопровождающееся неконтролируемой пролиферацией клеток эндометрия, что в конечном счете приводит к формированию эндометриоидных гетеротопий [4, 5].

Большой интерес представляет изучение взаимосвязи между нарушением регуляции процесса апоптоза и развитием эндометриоза, сопровождающегося снижением эффективности иммунного надзора.

Целью исследования явилось изучение характера нарушений процессов апоптоза у женщин с I-II и III-IV стадиями наружного генитального эндометриоза.

Материалы и методы

На базе гинекологического отделения ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, НИИАП обследована 71 женщина с НГЭ, которые были распределены на две группы: 1-я группа – пациентки с I-II стадиями НГЭ ($n = 31$); 2-я группа – пациентки с III-IV стадиями НГЭ ($n = 40$). Контрольную группу составили 24 женщин без эндометриоза.

Определение популяционного состава лимфоцитов периферической крови проводили методом лазерной проточной цитометрии, используя реагенты фирмы Immunotex. FITC, меченые $CD8^+$, $CD16^+$ и PE-меченые $CD95^+$. Количество лимфоцитов, вступивших в апоптоз, выявляли с использованием диагностического набора, включающего AnnexinV+ (FITC) и PI+ фирмы Caltag. Результаты учитывали на проточном цитометре BECKMAN COULTER EPICS XL-II, используя стандартные протоколы.

Результаты и обсуждение

Проведенный анализ показал, что формирование НГЭ сопровождалось выраженными изменениями показателей иммунитета. В 1-й и 2-й группе по сравнению с контрольной группой выявлено статистически значимое снижение $CD8$ лимфоцитов, (17,1 (16,3-23,4) % и 15,05 (13,6-20,2) %, против 25,8 (24,1-26,7) % соответственно ($p = 0,02$), наиболее выраженные изменения отмечены во 2 группе, показатели были ниже, чем в контрольной в 1,7 раза ($p = 0,02$).

В 1-й и 2-й группе выявлено статистически значимое снижение относительного числа $CD16^+$

по сравнению с контрольной группой (в 2,9 и 1,3 раза соответственно ($p = 0,03$)). Кроме того, показатели во 2-й группе были значимо ниже, чем в 1-й ($p = 0,03$).

Известно, что молекула $CD95^+$ участвует в процессе контроля над обновлением нормальных клеток через индукцию апоптоза. Этот тип клеточной гибели является одним из компонентов механизма поддержания гомеостаза в обновляющихся клеточных популяциях. Fas-зависимый апоптоз является одним из основных механизмов регуляции эффекторной функции цитотоксических лимфоцитов и NK-клеток при киллинге клеток-мишеней.

При анализе содержания цитотоксических T-лимфоцитов и NK-клеток, экспрессирующих Fas-рецептор $CD95^+$, как маркер поздней активации, характеризующий готовность к апоптозу, было обнаружено его повышение на $CD16^+$ при различных стадиях эндометриоза, показатели превышали контрольные в 2,5 раза в обеих клинических группах (0,5 (0,4-0,6) % против 0,2 (0,1-0,3) %) ($p = 0,03$). Аналогичные данные получены и для $CD8^+CD95^+$, их уровень в 1-й группе был выше, чем в контрольной группе в 1,2 раза, во 2-й группе – в 1,46 раза (2,56 (2,45-2,85) % и 3,15 (2,7-3,35) % против 2,15 (2,05-2,3) % соответственно) ($p = 0,02$).

Абберантные иммунные реакции $CD8^+$ и NK-клеток могут представлять факторы риска развития эндометриоза, способствуя дисфункции врожденного и адаптивного иммунитета, развитию и прогрессированию заболевания.

Кроме оценки уровня экспрессии $CD8^+$ и NK-клетками $CD95^+$ нами определялось количество клеток, вступивших в апоптоз, на основании их способности фиксировать на своей поверхности AnnexinV+ (FITC) и PI+. Полученные результаты свидетельствуют о том, в периферической крови женщин во 2-й группе по сравнению с контрольной группой выявлено статистически значимое снижение как ранних AnnexinV+ (2,85 (2,2-3,6) % против 5,5 (4,45-5,85) %, так и поздних AnnexinV+ PI+ маркеров апоптоза (0,1 (0,1-0,1) % против 0,2 (0,1-0,3) %) соответственно ($p = 0,03$).

Несмотря на количественное увеличение содержания $CD95^+$ -лимфоцитов в субпопуляциях $CD8^+$ и NK-клеток, при НГЭ нами не было обнаружено усиления апоптоза лимфоцитарных клеток. Однако у пациенток 2-й группы при проведении аннексинового теста было зарегистрировано статистически значимое снижение содержания AnnexinV+ презентующих лимфоцитов, что свидетельствует о нарушении реализации их рецептор-зависимого апоптоза.

Заключение

Таким образом, индукция апоптоза по пути Fas-FasL у пациенток с наружным генитальным эндометриозом приводит к снижению цитотоксичности, опосредованной Т-лимфоцитами и НК-клетками. Статистически значимое снижение содержания AnnexinV⁺ презентующих

лимфоцитов свидетельствует о нарушении реализации их рецептор-зависимого апоптоза. Нарушение процессов апоптоза может быть ответственным за развитие эндометриоза, способствуя снижению эффективности иммунного надзора, способствуя пролиферации и росту эндометриодных имплантатов.

Список литературы / References

1. Адамян Л.В., Фархат К.Н., Макиян З.Н., Савилова А.М. Молекулярно-биологическая характеристика эутопического эндометрия // Проблемы репродукции, 2015. Т. 21, № 5. С. 8-16. [Adamyany L.V., Farhat K.N., Makiyan Z.N., Savilova A.M. Molecular biological characteristics of the eutopic endometrium. *Problemy reproduksii = Problems of Reproduction*, 2015, Vol. 21, no. 5, pp. 8-16. (In Russ.)]
2. Красильникова А.К., Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С. Клиника «малых» форм эндометриоза // Вестник Ивановской медицинской академии, 2018. Т. 23, № 3. С. 18-21. [Krasilnikova A.K., Malysheva A.I., Sotnikova N.Yu., Antsiferova Yu.S. Clinic of "small" forms of endometriosis. *Vestnik Ivanovskoy meditsinskoy akademii = Bulletin of the Ivanovo Medical Academy*, 2018, Vol. 23, no. 3, pp. 18-21. (In Russ.)]
3. Левкович М.А., Ермолова Н.В., Аванесова Т.Г., Маркарян И.В. Современные взгляды на патогенез генитального эндометриоза: роль гормональных, иммунологических, генетических факторов // Таврический медико-биологический вестник, 2017. Т. 20, № 2. С. 185-189. [Levkovich M.A., Ermolova N.V., Avanesova T.G., Markaryan I.V. Modern views on the pathogenesis of genital endometriosis: the role of hormonal, immunological, genetic factors. *Tavrisheskiy mediko-biologicheskii vestnik = Tavrisheskiy Medical and Biological Bulletin*, 2017, Vol. 20, no. 2, pp. 185-189. (In Russ.)]
4. Сельков С.А., Ярмолинская М.И. Эндометриоз как патология регуляторных механизмов // Журнал акушерства и женских болезней, 2017. Т. 66, № 2. С. 9-13. [Selkov S.A., Yarmolinskaya M.I. Endometriosis as a pathology of regulatory mechanisms. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney = Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, 2017, Vol. 66, no. 2, pp. 9-13. (In Russ.)]
5. Ermolova N.V., Petrov Y.A., Levkovich M.A., Kolesnikova L.V., Drukker N.A. Influence of cytokines production, nitrogen oxide metabolites and lipids exchange on the formation of external genital endometriosis stages in patients of reproductive age. *Periodico Tche Quimica*, 2020, Vol. 17, no. 35, pp. 813-824.

Авторы:

Аванесова Т.Г. — к.м.н., врач — акушер-гинеколог ЧУЗ «Клиническая больница "РЖД-Медицина" г. Ростов-на-Дону», г. Ростов-на-Дону, Россия

Левкович М.А. — д.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела аллергических и аутоиммунных заболеваний НИИ акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Ермолова Н.В. — д.м.н., доцент, начальник акушерско-гинекологического отдела НИИ акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Крукиер И.И. — д.б.н., ведущий научный сотрудник акушерско-гинекологического отдела НИИ акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Дударева М.В. — д.б.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией НИИ акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Authors:

Avanesova T.G., PhD (Medicine), Obstetrician-gynecologist, Private Clinical Hospital of Russian Railways-Medicine, Rostov-on-Don, Russian Federation

Levkovich M.A., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Leading Research Associate, Department of Allergic and Autoimmune Diseases, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Ermolova N.V., PhD, MD (Medicine), Head, Obstetric and Gynecological Department, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Krukier I.I., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Obstetric and Gynecological Department, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Dudareva M.V., PhD, MD (Biology), Head, Clinical Diagnostic Laboratory, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Поступила 29.06.2021
Принята к печати 20.07.2021

Received 29.06.2021
Accepted 20.07.2021