

НАРУШЕНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ И ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОК С ЭНДОМЕТРИОЗОМ И БЕСПЛОДИЕМ

© 2019 г. Ю. С. Анциферова*, А. И. Малышкина, Л. Х. Абдуллаева

*E-mail: niimid.immune@mail.ru

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В. Н. Городкова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново, Россия

Поступила: 19.09.2018. Принята: 25.08.2019

Предполагают, что развитие эндометриоза связано с аутоиммунными нарушениями, однако характер функционирования В-лимфоцитов при данном гинекологическом заболевании остается все еще практически не изученным. Целью работы было установить особенности дифференцировки периферических и перитонеальных В-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом и бесплодием. Было проведено обследование 59 женщин, поступивших в гинекологическую клинику на оперативное лечение по поводу бесплодия. У 35 женщин был диагностирован эндометриоз I–II стадии, у 24 женщин – III–IV стадии. Контрольную группу составили женщины, поступившие на хирургическую стерилизацию (n=31). Материалом для исследования служили периферическая кровь и перитонеальная жидкость. Фенотип периферических и перитонеальных В-лимфоцитов оценивали методом трехцветной проточной цитофлюориметрии. Было выявлено, что при эндометриозе на системном и локальном уровне повышено содержание плазматических клеток, непереключенных CD19⁺IgD⁺CD27⁻ наивных В-лимфоцитов и снижен уровень переключенных CD19⁺IgD⁻CD27⁺ В-клеток памяти. В перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом было снижено также содержание непереключенных CD19⁺IgD⁺CD27⁺ В-клеток памяти. У здоровых женщин популяцию перитонеальных В-лимфоцитов отличало от периферических В-лимфоцитов более высокое содержание непереключенных В-клеток памяти и более низкий уровень наивных В-лимфоцитов. У женщин с эндометриозом на локальном уровне содержание непереключенных наивных В-лимфоцитов и переключенных В-клеток памяти было ниже, а уровень CD27⁻IgD⁻ и CD27⁺IgD⁺ В-клеток памяти – выше, чем в крови. Вероятно, отмечаемое при эндометриозе усиление продукции аутоантител может быть связано с повышением уровня периферических и перитонеальных наивных В-лимфоцитов и снижением содержания в перитонеальной жидкости непереключенных В-клеток памяти, участвующих в регуляции продукции аутоантител.

Ключевые слова: эндометриоз, наивные В-лимфоциты, В-клетки памяти, кровь, перитонеальная жидкость

DOI: 10.31857/S102872210007040-9

Адрес: 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория клинической иммунологии, Анциферова Юлия Станиславовна.

Тел. (4932) 33-62-63; факс: (4932) 33-62-56.

E-mail: niimid.immune@mail.ru

Авторы:

Анциферова Ю. С., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии, ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново, Россия;

Малышкина А. И., д.м.н., профессор, директор, ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново, Россия;

Абдуллаева Л. Х., м.н.с. отдела акушерства и гинекологии, ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново, Россия

ВВЕДЕНИЕ

Эндометриоз, характеризующийся ростом эктопически перемещенного эндометрия в перитонеальной полости, диагностируется у 6–10% всех женщин репродуктивного возраста и относится к самым распространенным гинекологическим заболеваниям [1]. Наиболее частым клиническим проявлением эндометриоза является бесплодие, плохо поддающееся лечению. Доказано, что им-

мунные нарушения играют важную роль в патогенезе этого заболевания [2, 3]. Рядом исследователей было показано, что при эндометриозе усилена продукция аутоантител различной специфичности, таких как анти-эндометриальные, антифосфолипидные, антикардиолипиновые, антиспермальные антитела и др. [4]. На основании этих результатов еще в конце прошлого века была выдвинута гипотеза об аутоиммунной природе эндометриоза [5]. Однако до сих пор эта гипотеза базируется только на данных о наличии аутоантител в крови и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом. Изучения механизмов функционирования В-лимфоцитов при эндометриозе практически не проводилось.

В литературе имеются лишь отдельные работы, в которых сообщается как об увеличении содержания В-клеток в периферической крови и в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом [6], так и о снижении уровня периферических В-клеток и CD20⁺ лимфоцитов, коэкспрессирующих HLA-DR и CD44 молекулы при эндометриозе [7]. Немногочисленные работы посвящены изучению особенностей регуляции активности В-лимфоцитов у женщин с эндометриозом. Так, было показано, что при эндометриозе усилена продукция в перитонеальной полости Vlimp-1, или В-лимфоцитарного индуктора программы созревания, который регулирует дифференцировку плазматических клеток [8]. В эндометриозных очагах был выявлен высокий уровень такого цитокина, активирующего В-клетки, как VlyS (В-лимфоцитарный стимулятор) [9]. Этот цитокин вырабатывается макрофагами и играет важную роль в нормальном развитии В-лимфоцитов и их дифференцировки в плазматические клетки, а усиленная его продукция отмечается при аутоиммунных заболеваниях. При изучении полиморфизма гена VlyS было установлено, что развитие глубокого инфильтративного эндометриоза ассоциировано с гетерозиготностью гена VlyS [10]. Однако в другом исследовании был проведен анализ того же полиморфизма в специфической группе infertильных женщин с эндометриозом, но различий выявлено не было [11]. Таким образом, проведенные исследования не позволяют сделать однозначного вывода о функциональном состоянии В-лимфоцитов при эндометриозе.

Известно, что развитие гуморальных иммунных реакций непосредственно связано с особенностями дифференцировки В-лимфоцитов и накоплением пулов антитело-продуцирую-

щих плазматических клеток и В-клеток памяти, способных более быстро и эффективно, чем наивные В-клетки, реагировать на стимул [12]. Установлено, что клетки памяти отличаются от наивных В-лимфоцитов отсутствием экспрессии АТФ-связывающего кассетного транспортера (ABCВ1), однако в последнее время при разделении В-лимфоцитов на наивные клетки и клетки памяти широко используют в качестве маркеров CD27 и IgD молекулы. Выделяют 4 основные субпопуляции В-лимфоцитов: наивные В-клетки (CD27-IgD⁺), непереключенные В-клетки памяти (CD27⁺IgD⁺), переключенные В-клетки памяти (CD27⁺IgD⁻) и популяция CD27-IgD⁻ В-клеток памяти [13]. Функциональные особенности этих популяций до конца не выяснены. Если CD27-IgD⁺ и CD27⁺IgD⁻ пулы рассматривают как классические наивные В-лимфоциты и клетки памяти, формирующиеся последовательно в процессе развития В-лимфоцитов и изотипического переключения мембранной экспрессии молекул иммуноглобулинов [13], то особенности формирования и роль непереключенных CD27⁺IgD⁺ и CD27-негативных В-клеток памяти нуждается в уточнении. Предполагают, что CD27⁺IgD⁺ В-лимфоциты представляют собой циркулирующие В-клетки маргинальной зоны, участвующие в первой линии антимикробной защиты благодаря быстрой продукции низкоаффинных, но высокоavidных IgM антител [13]. Дабл-негативную популяцию CD27-IgD⁻ клеток также относят к В-клеткам памяти, поскольку эти лимфоциты морфологически сходны с В-клетками памяти и не экспрессируют ABCВ1 молекулы [12]. Установлено, что эти клетки присутствуют уже при рождении и составляют до 5% всех циркулирующих В-лимфоцитов у здоровых индивидов [14], причем их количество существенно повышается при СКВ и ВИЧ-инфекции [15, 16]. Оценка содержания наивных В-лимфоцитов и В-клеток памяти у пациенток с эндометриозом до настоящего времени не проводилась, хотя выявление особенностей дифференцировки В-лимфоцитов, безусловно, позволит углубить наши представления о механизмах, определяющих развитие аутоиммунных нарушений при эндометриозе и связанном с ним бесплодием.

Целью нашего исследования было установить особенности дифференцировки периферических и перитонеальных В-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом и бесплодием для уточнения иммунных механизмов развития данного гинекологического заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

Было проведено обследование 59 женщин, поступивших на оперативное лечение по поводу бесплодия в гинекологическую клинику ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России (основная группа). У 35 женщин при проведении лапароскопии был диагностирован эндометриоз I–II стадии, у 24 женщин – III–IV стадии по классификации ASF. Все пациентки основной группы предъявляли жалобы на бесплодие, при этом 37 женщин не имели в анамнезе беременностей, поэтому у них было диагностировано первичное бесплодие, а у 22 пациенток, имевших в анамнезе беременности и роды, бесплодие было вторичным. В контрольную группу вошли женщины, поступившие на хирургическую стерилизацию (n=31).

Материалом для исследования служила гепаринизированная периферическая венозная кровь из локтевой вены, взятая до оперативного вмешательства, и перитонеальная жидкость, полученная во время проведения лапароскопии. У всех пациенток было получено информированное согласие на участие в исследовании, согласие на забор периферической крови и перитонеальной жидкости. Проведение исследования было одобрено локальными этическими комитетами ФГБУ «Ив НИИ МиД им.В.Н.Городкова» Минздрава России.

Выделение моноклеарных клеток крови и перитонеальной жидкости

Обогащенную популяцию моноклеарных клеток (МНК) крови и перитонеальной жидкости получали стандартным методом скоростного центрифугирования в плотности фиколл-верографина ($d=1,078$). Клетки из интерфазы фиколл-верографин ($d=1,078$) – среда RPMI 1640 собирали, дважды отмывали фосфатно-солевым буфером и использовали для проведения проточной цитометрии в концентрации 1×10^6 кл/мл.

Проведение проточной цитометрии

Мы оценивали общее содержание периферических и перитонеальных CD19⁺ лимфоцитов в лимфоцитарном гейте, а также определяли уровень CD27⁺, CD27⁻, CD20-CD38⁺, CD27⁺IgD⁻, CD27⁺IgD⁺, CD27-IgD⁺ CD27-IgD⁻ лимфоцитов в популяции CD19⁺ клеток с помощью моноклональных антител (мАТ) методом трехцветной проточной цитометрии на приборе FACSCanto II (Becton Dickinson, USA). В работе были исполь-

зованы следующие мАТ: анти-CD19, конъюгированные с PerCP-Cy5.5 (eBioscience, USA), анти-CD27 и CD38, конъюгированные с PE (Beckman Coulter, USA) и анти-IgD, конъюгированные с FITC (Beckman Coulter, USA). Для построения лимфоцитарного гейта клетки метили анти-CD45 (FITC) антителами (Beckman Coulter, USA). Анализ данных проводили с использованием программы FACSDiva.

Статистический анализ

Статистический анализ данных осуществлялся по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Лиллифорса. Так как распределение данных в полученных выборках подчинялось закону нормального распределения, достоверность различий между показателями оценивали по t-критерию Стьюдента. Данные представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего арифметического. Различия расценивались как достоверные при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ осуществляли с помощью программы «Statistica 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нами не было выявлено изменений общего количества периферических и перитонеальных В-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом по сравнению со здоровыми фертильными женщинами (табл. 1). При этом как на системном, так и на локальном уровне содержание плазматических CD19⁺CD20-CD38⁺ клеток и наивных CD19⁺CD27⁻ лимфоцитов было выше, а количество CD27⁺ В-клеток памяти – ниже, чем в контрольной группе (табл. 1).

Более детальная оценка субпопуляционного состава В-клеток памяти и наивных В-лимфоцитов показала, что уменьшение пула клеток памяти как в крови, так и в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом происходила преимущественно за счет переключенных IgD⁻CD27⁺ клеток, а увеличение наивных В-лимфоцитов отмечалось в популяции IgD⁺CD27⁻ клеток (табл. 2). Только в перитонеальной жидкости нами было отмечено снижение пула непереключенных IgD⁺CD27⁺ клеток памяти при эндометриозе по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Доказано, что иммунные реакции, развивающиеся в перитонеальной полости при непосредственном контакте клеток иммунной системы

Таблица 1. Особенности содержания плазматических клеток, наивных В-лимфоцитов и В-клеток памяти в периферической крови и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Периферическая кровь		Перитонеальная жидкость	
	Контроль (n=31)	Эндометриоз (n=61)	Контроль (n=13)	Эндометриоз (n=59)
CD19 ⁺	5,00±0,32	4,62±0,16 p1=0,282	2,19±0,19 p2=0,000	2,29±0,13 p1=0,676* p2=0,000**
CD19 ⁺ CD20 ⁻ CD38 ⁺	2,03±0,38	5,19±0,75 p1=0,000	3,03±0,53 p2=0,139	6,99±0,63 p1=0,000 p2=0,07
CD19 ⁺ CD27 ⁺	33,09±1,32	25,75±0,83 p1=0,000	41,25±2,45 p2=0,010	27,37±0,99 p1=0,000 p2=0,225
CD19 ⁺ CD27 ⁻	66,98±1,34	74,19±0,84 p1=0,000	58,82±2,46 p2=0,008	72,67±1,01 p1=0,000 p2=0,250

*p1 дано по сравнению с контрольной группой, **p2 дано по сравнению с периферической кровью

Таблица 2. Характеристика содержания переключенных и непереключенных CD27⁺ и CD27⁻ В-лимфоцитов в периферической крови и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Периферическая кровь		Перитонеальная жидкость	
	Контроль (n=31)	Эндометриоз (n=61)	Контроль (n=13)	Эндометриоз (n=59)
CD19 ⁺ IgD ⁻ CD27 ⁺	22,81±1,23	18,54±1,02 p1=0,010	18,95±2,64 p2=0,204	12,10±1,23 p1=0,031* p2=0,000**
CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁺	10,45±0,67	9,16±0,65 p1=0,172	22,98±2,55 p2=0,000	14,13±1,20 p1=0,006 p2=0,000
CD19 ⁺ IgD ⁻ CD27 ⁻	24,59±1,48	22,75±1,09 p1=0,322	29,68±3,22 p2=0,170	29,34±2,28 p1=0,932 p2=0,013
CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻	42,21±1,58	50,06±1,54 p1=0,001	28,60±4,24 p2=0,009	43,91±2,17 p1=0,005 p2=0,025

*p1 дано по сравнению с контрольной группой, **p2 дано по сравнению с периферической кровью

с эктопическим эндометрием, играют особую роль в патогенезе эндометриоза. Для определения особенностей формирования локального иммунного ответа при эндометриозе мы провели сравнительную оценку направленности дифференцировки В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости у здоровых женщин и пациенток с эндометриозом. Было установлено, что у здоровых фертильных женщин общее содержание В-лимфоцитов в перитонеальной жидкости практически в 2 раза ниже, чем в кро-

ви (табл. 1), при этом в популяции самих перитонеальных В-лимфоцитов уровень В-клеток памяти повышен, а наивных В-лимфоцитов – снижен по сравнению с показателями крови (табл. 1). Обращал на себя внимание тот факт, что повышение пула клеток памяти в перитонеальной жидкости происходило за счет непереключенных IgD⁺CD27⁺ В-лимфоцитов, уровень которых более чем в 2 раза превышал таковой в крови (табл. 2). У пациенток с эндометриозом в перитонеальной жидкости общее количество

В-лимфоцитов (табл. 1), содержание переключенных IgD^-CD27^+ В-клеток памяти и наивных $CD19^+IgD^+CD27^-$ клеток было ниже, а уровень IgD^+CD27^+ и IgD^-CD27^- В-лимфоцитов – выше, чем в крови (табл. 2). Хотелось бы отметить, что повышение уровня непереключенных В-клеток памяти в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом было выражено в меньшей степени, чем у здоровых женщин.

Таким образом, у женщин с эндометриозом и бесплодием на системном и локальном уровне повышено содержание плазматических клеток, IgD^+CD27^- наивных В-лимфоцитов и снижен уровень IgD^-CD27^+ В-клеток памяти. Только в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом снижается также содержание непереключенных IgD^+CD27^+ В-клеток памяти. Популяция перитонеальных В-лимфоцитов здоровых женщин характеризуется повышенным содержанием непереключенных В-клеток памяти и сниженным уровнем наивных В-лимфоцитов по сравнению с показателями крови, а у женщин с эндометриозом отмечается снижение содержания непереключенных наивных В-лимфоцитов и переключенных В-клеток памяти при повышенном уровне негативных $CD27^-IgD^-$ В-лимфоцитов и IgD^+CD27^+ В-клеток памяти на локальном уровне по сравнению системным.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами результаты свидетельствуют о сдвиге дифференцировки В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости в сторону увеличения количества плазматических клеток, наивных В-лимфоцитов и снижения уровня В-клеток памяти. Ранее было показано, что подобные изменения сопровождают многие аутоиммунные заболевания, такие как системный склероз, ревматоидный артрит и системная красная волчанка, для которых также характерно высокое содержание наивных В-лимфоцитов и сниженный уровень В-клеток памяти [17, 18]. При этом в популяции классических «непереключенных» IgD^+CD27^- наивных В-лимфоцитов, уровень которых по нашим данным резко повышается при эндометриозе, достаточно часто встречаются аутореактивные В-клетки, несущие В-клеточный рецептор, способный реагировать с антигенами собственного организма [19]. Установлено, что количество этих клеток значительно повышено при ревматоидном артрите и коррелирует с активностью патологического процесса [19]. Таким образом, по-

лученные нами результаты в целом согласуются с выдвинутой ранее гипотезой об аутоиммунной природе эндометриоза, поскольку выявленное нами нарушение дифференцировки В-лимфоцитов при эндометриозе, сопровождающееся накоплением наивных В-клеток, при повышенном содержании плазматических клеток является характерной чертой патологических состояний с аутоиммунным компонентом. С другой стороны, нарушения дифференцировки В-лимфоцитов могут быть связаны и с механизмами развития бесплодия у пациенток с эндометриозом. Это предположение подтверждается данными, полученными Sung N. с соавторами (2016), которые в своем исследовании показали, что у женщин с бесплодием повышено относительное содержание наивных В-клеток и снижено количество В-клеток памяти [20].

Заслуживает особого внимания выявленный нами факт снижения уровня IgD^+CD27^+ В-клеток памяти в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом. По-видимому, эта популяция В-лимфоцитов играет особую роль в развитии локального гуморального иммунного ответа как в норме, так и при эндометриозе. По нашим данным, популяционный состав периферических и перитонеальных В-лимфоцитов существенно различается. У здоровых женщин содержание в перитонеальной жидкости наивных В-лимфоцитов значительно снижено, а В-клеток памяти – повышено по сравнению с показателями периферической крови, что позволяет говорить о более высоком эффекторном потенциале перитонеальных В-лимфоцитов, которые способны быстро развивать эффективный ответ на антигенный стимул. По-видимому, данные особенности способствуют формированию высокого уровня противoinфекционной защиты в перитонеальной полости. Следует особо отметить, что повышение локального уровня В-клеток памяти у здоровых женщин отмечается преимущественно за счет непереключенных IgD^+CD27^+ В-лимфоцитов. Ранее было показано, что эта субпопуляция клеток памяти представляет собой циркулирующие В-клетки маргинальной зоны селезенки и их развитие не связано с взаимодействием с Т-клетками герминативных центров [21]. IgD^+CD27^+ В-лимфоциты относят сейчас к клеткам первой линии защиты или ILBs (innate-like B cells), которые лишены функциональных характеристик В-клеток памяти [21]. Считают, что этот пул В-лимфоцитов является одним из основных продуцентов естествен-

ных IgM антител и обеспечивает быструю противоинфекционную защиту [21]. В то же время, есть данные о том, что пул непереключенных В-клеток памяти содержит значительное количество IL-10-продуцирующих регуляторных В-лимфоцитов или В10 клеток, обладающих супрессорной активностью [22]. Рядом исследователей доказана важная роль IgD⁺CD27⁺ В-лимфоцитов в развитии аутоиммунных заболеваний. Так, есть данные о том, что у пациентов с ревматоидным артритом уровень CD19⁺IgD⁺CD27⁺ лимфоцитов в крови существенно снижен, причем их способность к выработке IgM антител нарушается, и эта популяция В-лимфоцитов приобретает провоспалительные свойства. При этом уровень IgD⁺CD27⁺ В-лимфоцитов негативно коррелирует с активностью патологического процесса и его клинической манифестацией, а после эффективной терапии и наступления ремиссии уровень этих клеток у больных ревматоидным артритом восстанавливается [23]. Снижение периферического пула CD19⁺IgD⁺CD27⁺ лимфоцитов было также выявлено у пациентов с системной красной волчанкой [13, 23], причем выраженность снижения уровня этих клеток коррелировала с повышением сывороточного содержания анти-ядерных аутоантител [23]. Можно предположить, что популяция непереключенных В-клеток памяти играет важную роль в развитии гуморальных иммунных реакций в перитонеальной полости, обеспечивая быструю противоинфекционную защиту и предотвращая избыточную активацию В-лимфоцитов за счет регуляторных В10-лимфоцитов. Нами было установлено снижение уровня перитонеальных IgD⁺CD27⁺ В-лимфоцитов у пациентов с эндометриозом и отмечены менее выраженные, чем у здоровых женщин, изменения в содержании этих клеток на локальном уровне по сравнению с системным. Вероятно, снижение активности этих клеток в перитонеальной жидкости при эндометриозе может быть вести к усилению аутореактивных локальных иммунных реакций, которые, по мнению ряда авторов, участвуют как в механизмах развития эндометриодных очагов, так и в нарушении фертильности у пациенток с эндометриозом [24].

Только при эндометриозе мы выявили достоверно более высокое содержание CD19⁺IgD⁻CD27⁻ клеток на локальном уровне по сравнению с системным. В настоящее время этот пул В-лимфоцитов также относят к В-клеткам памяти, несмотря на отсутствие мембранной экс-

прессии CD27 молекул [12]. Считают, что эти CD27-негативные В-клетки памяти находятся на более ранней стадии развития в отношении созревания аффинности их В-клеточного рецептора и характеризуются более низкой экспрессией CD40 молекул, чем IgD⁻CD27⁺ лимфоциты, что делает их менее эффективными при развитии Т-зависимого ответа [12]. Существует гипотеза, что пул CD27-негативных В-клеток памяти содержит аутореактивные В-лимфоциты, а сниженная экспрессия ими активационных молекул необходима для ограничения их аутореактивности [12]. Подтверждением этой гипотезы служат данные о повышенном содержании этой популяции при СКВ [15].

Таким образом, отмеченное многими авторами повышение продукции аутоантител при эндометриозе и связанном с ним бесплодии может быть связано с особенностями дифференцировки В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости, проявляющимися в накоплении пула наивных IgD⁺CD27⁻ В-лимфоцитов и уменьшении пула IgD⁻CD27⁺ В-клеток памяти. Особую роль в развитии локальных иммунных реакций при эндометриозе, по-видимому, играют популяции непереключенных IgD⁺CD27⁺ и дабл-негативных IgD⁻CD27⁻ В-клеток памяти, нарушение активности которых может быть одной из причин усиления аутоиммунных реакций и продукции аутоантител.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. Burney O., Giudice L. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertility and Sterility* 2012, 98, 511–519.
2. Barrier B. F. Immunology of Endometriosis. *Clinical obstetrics and gynecology* 2010, 53(2), 397–402.
3. Анциферова Ю. С., Сотникова Н. Ю., Улкова-Галова З., Малышкина А. И., Красильникова А. К., Романова С. В. Синтез и продукция RAGE моноцитами при эндометриозе: связь с состоянием репродуктивной функции пациенток. *Российский иммунологический журнал* 2014, 1, 41–47. [Antsiferova Y. S., Sotnikova N. Yu., Ulcova-Gallova Z., Malysheva A. I., Krasilnikova A. K., Romanova S. V. Synthesis and production of RAGE by monocytes during endometriosis: connection with the reproductive function of patients. *Russian Immunological Journal* 2014, 1, 41–47.]
4. Ulcová-Gallová Z, Bouse V, Svábek L, Turek J, Rokytá Z. Endometriosis in reproductive immunology. *Am J Reprod Immunol* 2002, 47(5), 269–2674.
5. Gleicher N., el-Roeiy A., Confino E., Friberg J. Is endometriosis an autoimmune disease? *Obstet. Gynecol* 1987, 70, 115–122.
6. Odukoya O. A., Bansal A., Wilson P., Lim K., Weetman A. P., Cooke I. D. Soluble CD23 protein in the

- peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Hum Reprod* 1996, 9, 2018–2021.
7. *Gagné D., Rivard M., Pagé M., Shazand K., Hugo P., Gosselin D.* Blood leukocytesubsets are modulated in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2003, 80(1), 43–53.
 8. *Yeol S.G., Won Y.S., Kim Y.I., Lee J.W., Choi Y.J., Park D.C.* Decreased Bcl-6 and increased Blimp-1 in the peritoneal cavity of patients with endometriosis. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2015, 42 (2), 156–160.
 9. *Hever A., Roth R.B., Hevezi P., Marin M.E., Acosta J.A., Acosta H., Rojas J., Herrera R., Grigoriadis D., White E., Conlon P.J., Maki R.A., Zlotnik A.* Human endometriosis is associated with plasma cells and overexpression of B lymphocyte stimulator. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2007, 104(30), 12451–12456.
 10. *de Graaff A.A., Dunselman G.A., Delvoux B., van Kaam K.J., Smits L.J., Romano A.* B lymphocyte stimulator –817C>T promoter polymorphism and the predisposition for the development of deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril* 2010, 94(3), 1108–1110.
 11. *Christofolini D.M., Cavalheiro C.M., Teles J.S., Lerner T.G., Brandes A., Bianco B., Barbosa C.P.* Promoter –817C>T variant of B lymphocyte stimulator gene (BLyS) and susceptibility to endometriosis-related infertility and idiopathic infertility in Brazilian population. *Scand J Immunol* 2011, 74 (6), 628–631.
 12. *Wu Y.C., Kipling D., Dunn-Walters D.K.* The relationship between CD27 negative and positive B cell populations in human peripheral blood. *Front Immunol* 2011, 2, 81.
 13. *Torigoe M., Iwata S., Nakayamada S., Sakata K., Zhang M., Hajime M., Miyazaki Y., Narisawa M., Ishii K., Shibata H., Tanaka Y.* Metabolic Reprogramming Commits Differentiation of Human CD27⁺IgD⁺ B Cells to Plasmablasts or CD272IgD2 Cells. *The Journal of Immunology* 2017, 199, 425–434.
 14. *Sanz I., Wei C., Lee F.E., Anolik J.* Phenotypic and functional heterogeneity of human memory B cells. *Semin. Immunol* 2007, 20, 67–82.
 15. *Wei C., Anolik J., Cappione A., Zheng B., Pugh-Bernard A., Brooks J., Lee E.H., Milner E.C., Sanz I.* A new population of cells lacking expression of CD27 represents a notable component of the B cell memory compartment in systemic lupus erythematosus. *J. Immunol* 2007, 178, 6624–6633.
 16. *Moir S., Ho J., Malaspina A., Wang W., Dipoto A.C., O'shea M.A., Roby G., Kottlil S., Arthos J., Proschan M.A., Chun T.W., Fauci A.S.* Evidence for HIV-associated B cell exhaustion in a dysfunctional memory B cell compartment in HIV-infected viremic individuals. *J ExpMed* 2008. 205, 1797–180.
 17. *Simon D., Balogh P., Bognár A., Kellermayer Z., Engelmann P., Németh P., Farkas N., Minier T., Lóránd V., Czirják L., Berki T.* Reduced non-switched memory B cell subsets cause imbalance in B cell repertoire in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2016, Suppl 100(5), 30–36.
 18. *Супоницкая Е.В., Алексанкин А.П., Александрова Е.Н., Авдеева А.С., Панафидина Т.А., Верижникова Ж.Г., Насонов Е.Л.* Определение субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови методом проточной цитофлуорометрии у здоровых лиц и больных ревматическими заболеваниями. *Клиническая лабораторная диагностика* 2015, 6, 30–33. [*Suponitskaia E.V., Aleksankin A.P., Aleksandrova E.N., Avdeeva A.S., Panafidina T.A., Verjnikova J.G., Nasonov E.L.* The identification of subpopulations of B-lymphocytes of peripheral blood using technique of flow cytofluorometry in healthy individuals and patients with rheumatoid diseases. *Klin Lab Diagn* 2015, 6, 30–33.]
 19. *Duty J.A., Szodoray P., Zheng N.Y., Koelsch K.A., Zhang Q., Swiatkowski M., Mathias M., Garman L., Helms C., Nakken B., Smith K., Farris A.D., Wilson P.C.* Functional anergy in a subpopulation of naive B cells from healthy humans that express autoreactive immunoglobulin receptors. *J Exp Med* 2009, 206(1):139–151.
 20. *Sung N., Byeon H.J., Garcia M.D.S., Skariah A., Wu L., Dambaeva S., Beaman K., Gilman-Sachs A., Kwak-Kim J.* Deficiency in memory B cell compartment in a patient with infertility and recurrent pregnancy losses. *J Reprod Immunol* 2016, 118, 70–75.
 21. *Weller S., Braun M.C., Tan B.K., Rosenwald A., Corder C., Conley M.E., Plebani A., Kumararatne D.S., Bonnet D., Tournilhac O., Tchernia G., Steiniger B., Staudt L.M., Casanova J.L., Reynaud C.A., Weill J.C.* Human blood IgM “memory” B cells are circulating splenic marginal zone B cells harboring a prediversified immunoglobulin repertoire. *Blood* 2004, 104(12), 3647–3654.
 22. *Malkiel S., Jeganathan V., Wolfson S., Manjarrez Orduño N., Marasco E., Aranow C., Mackay M., Gregersen P.K., Diamond B.* Checkpoints for autoreactive B cells in the peripheral blood of lupus patients assessed by flow cytometry. *Arthritis Rheumatol* 2016, 68(9): 2210–2220.
 23. *Hu F., Zhang W., Shi L., Liu X., Jia Y., Xu L., Zhu H., Li Y., Xu D., Lu L., Qiu X., Liu W., Qiao J., Wang Y., Li Z.* Impaired CD27⁺IgD⁺ B Cells With Altered Gene Signature in Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol* 2018, 23(9), 626.
 24. *Malkiel S., Jeganathan V., Wolfson S., Manjarrez Orduño N., Marasco E., Aranow C., Mackay M., Gregersen P.K., Diamond B.* Checkpoints for autoreactive B cells in the peripheral blood of lupus patients assessed by flow cytometry. *Arthritis Rheumatol* 2016, 68(9), 2210–2220.
 25. *Eisenberg V.H., Zolti M., Soriano D.* Is there an association between autoimmunity and endometriosis? *Autoimmun Rev* 2012, 11(11), 806–814.

IMPAIRMENT OF THE DIFFERENTIATION OF PERIPHERAL BLOOD AND PERITONEAL FLUID B-LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS AND INFERTILITY

© 2019 Yu. S. Antsiferova*, A. I. Malyshkina, L. H. Abdullaeva

*E-mail: niimid.immune@mail.ru

Federal state budget establishment «Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood name V. N. Gorodkov» of Healthy Ministry of Russian Federation, Ivanovo, Russia

Received: 19.09.2018. Accepted: 25.08.2019

It was supposed that endometriosis development is associated with autoimmune disorders, but the character of B-lymphocytes functioning during this gynecological disease practically is not studied. The aim of our work was to elucidate the character of the peripheral and peritoneal B-cells differentiation in patients with endometriosis and infertility. 59 women, who underwent surgical treatment of infertility in gynecological clinic, were carried out into investigation. I–II stages of endometriosis were diagnosed in 35 women and III–IV stages – in 24 women. 31 women, who underwent surgical sterilization, formed a control group. Peripheral blood and peritoneal fluid were used as the material for investigation. Peripheral and peritoneal B-lymphocytes phenotype was estimated by multicolor flow cytometry. It was found that during endometriosis at the systemic and local level the content of plasma cells, unswitched CD19⁺IgD⁺CD27⁻ naïve B-lymphocytes was increased and the level of switched CD19⁺IgD⁻CD27⁺ memory B-cells was diminished. In peritoneal fluid of women with endometriosis the amount of unswitched CD19⁺IgD⁺CD27⁺ memory B-cells was also decreased. In healthy women the population of peritoneal B-lymphocytes differed from peripheral B-lymphocytes by higher content of unswitched CD19⁺IgD⁺CD27⁺ memory B-cells and lower level of naïve B-lymphocytes. In women with endometriosis at the local level the amount of unswitched CD19⁺IgD⁺CD27⁻ naïve B-lymphocytes and switched CD19⁺IgD⁻CD27⁺ memory B-cells was lower and levels of CD27⁻IgD⁻ and CD27⁺IgD⁺ memory B-cells were higher than that in the blood. Likely, the noted elevation of autoantibodies production during endometriosis may be due to increased levels of peripheral and peritoneal naïve B-lymphocytes and diminished amount of peritoneal unswitched memory B-cells, participated in the regulation of the autoantibodies production.

Key words: endometriosis, naïve B-lymphocytes, memory B-cells, blood, peritoneal fluid

Authors:

Antsiferova Yu. S., BD, leading scientific worker of the Laboratory of clinical immunology, Federal State Budget Establishment «Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood name V. N. Gorodkov» of Healthy Ministry of Russian Federation, Ivanovo, Russia;

Malyshkina A. I., MD, professor, director, Federal State Budget Establishment «Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood name V. N. Gorodkov» of Healthy Ministry of Russian Federation, Ivanovo, Russia;

Abdullaeva L. H., junior scientific worker of the Department of obstetrics and gynecology, Federal State Budget Establishment «Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood name V. N. Gorodkov» of Healthy Ministry of Russian Federation, Ivanovo, Russia.