

УДК 618.11-06:618.145-007415]-07

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD104887>

Анализ особенностей клеточной регуляции иммунитета при рецидивирующем течении эндометриоза яичников

Н.Н. Петровская, В.А. Печеникова

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Обоснование. Распространенность эндометриоза среди женщин репродуктивного возраста и сложность выбора методов его эффективного лечения обуславливают необходимость изучения клинико-морфологических особенностей эндометриоза яичников при его рецидивирующем течении, а также поиска доступных информативных диагностических и прогностических маркеров, позволяющих выявить группы риска рецидива и сформировать методы профилактики. Частота рецидива эндометриозом после лечения достигает 50–55 %.

Цель исследования — провести сравнительный анализ особенностей клеточной регуляции иммунитета при рецидивирующем течении эндометриоза яичников.

Материалы и методы. Изучены клинические данные, количество иммунокомпетентных клеток периферической крови, а также результаты морфологического и иммуногистохимического исследований операционного материала 196 пациенток, прооперированных по поводу эндометриозных кист яичников (45 пациенток с рецидивирующим течением заболевания и 151 женщины без рецидива). Для иммуногистохимического исследования операционного материала использовали моноклональные мышиные антитела к Т-хелперам (CD4), Т-киллерам (CD8), В-лимфоцитам (CD20) и тканевым макрофагам (CD68). Иммунологическое исследование периферической крови проводили методом проточной цитометрии с оценкой субпопуляций Т-лимфоцитов (Т-хелперов и Т-киллеров), В-лимфоцитов и их соотношений.

Результаты. Частота рецидивов эндометриозных кист яичников составила 22,96 %, в большинстве случаев (48,87 %) рецидив возник спустя 3–4 года после первой операции. У больных с рецидивом эндометриоза чаще выявляли диспареунию, дисменорею, первичное бесплодие и наличие операций на придатках матки в анамнезе (не связанных с эндометриозом), а также III степень распространения патологического процесса. В морфологическом исследовании при рецидиве чаще, чем при безрецидивном течении заболевания выявляли железисто-кистозный вариант и морфологически активный тип эндометриоза. Преобладающей популяцией клеток, обнаруженных в воспалительной инфильтрации цитогенной стромы и капсулы эндометриозной кисты, оказались цитотоксические Т-лимфоциты (CD8) и макрофаги (CD68). Статистически достоверно в большем количестве их наблюдали при рецидивирующих эндометриозных кистах в операционном материале как первой, так и второй операции, чем при безрецидивном течении заболевания. Количество В-лимфоцитов было достоверно выше в капсуле кисты при рецидиве эндометриоза, чем в случаях без рецидива. Т-хелперы (CD4) были обнаружены только в операционном материале уже диагностированного рецидива. При иммунологическом исследовании периферической крови пациенток с повторным возникновением эндометриоза выявлено повышение общей популяции Т-лимфоцитов за счет субпопуляции Т-хелперов, количество которых на микролитр выходило за пределы референсных значений.

Заключение. Увеличение количества свободных клеток стромы в очагах эндометриоза при его рецидивирующем течении свидетельствует о значении гиперреактивности и аутоиммунного механизма в хронизации и прогрессировании заболевания.

Ключевые слова: эндометриоз яичников; эндометриозная киста; эндометриоз; рецидив; Т-лимфоциты; Т-киллеры; Т-хелперы; В-лимфоциты; макрофаги; CD4; CD8; CD20; CD68.

Как цитировать:

Петровская Н.Н., Печеникова В.А. Анализ особенностей клеточной регуляции иммунитета при рецидивирующем течении эндометриоза яичников // Журнал акушерства и женских болезней. 2022. Т. 71. № 4. С. 53–63. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD104887>

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD104887>

Analysis of cell immune regulation features in recurrent ovarian endometriosis

Nikol N. Petrovskaja, Victoria A. Pechenikova

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

BACKGROUND: The prevalence of endometriosis among women of reproductive age and the complexity of choosing the methods for its effective treatment necessitate the study of the clinical and morphological features of ovarian endometriosis in its recurrent course, as well as the search for available informative diagnostic and prognostic markers which allow identifying risk groups for relapse and form prevention methods. Endometriomas have a recurrence rate of 50–55 % after treatment.

AIM: The aim of this study was to conduct a comparative analysis of cell immune regulation features in recurrent ovarian endometriosis.

MATERIALS AND METHODS: We studied clinical data, the value of peripheral immunocompetent blood cells, as well as morphological and immunohistochemical data of 196 patients operated on for endometrioid ovarian cysts, including 45 patients with a recurrent course of the disease and 151 women without relapse. Monoclonal mouse antibodies to T helpers (CD4), T killers (CD8), B lymphocytes (CD20), and macrophages (CD68) were used for immunohistochemical examination of the surgical material. Immunological examination of peripheral blood was performed by flow cytometry with the assessment of helper T lymphocyte, killer T lymphocyte and B lymphocyte subpopulations and their ratios.

RESULTS: The recurrence rate of endometrioid ovarian cysts was 22.96%. Most patients (48.87%) relapsed 3–4 years after the first operation. In patients with recurrent endometrioma, we more often detected complaints of dyspareunia, dysmenorrhea, primary infertility and a history of operations on the uterine appendages unrelated to endometriosis in anamnesis, as well as the third degree of the pathological process. During morphological examination, the glandular-cystic variant and morphologically active lesions were detected more often in recurrent endometriosis compared to the relapse-free course. Cytotoxic T killers (CD8) and macrophages (CD68) were shown to be the predominant subpopulation of cells found in the inflammatory infiltrate of cytogenic stroma and endometrioid cyst capsule. More of them were detected in recurrent endometrioid cysts in the surgical material of both the first and second operations compared to the relapse-free course. B lymphocyte count was significantly higher in the cyst capsule with recurrent endometriosis than in cases of the relapse-free course. T helpers (CD4) were found only in the surgical material of an already diagnosed recurrence. Immunological examination of peripheral blood of patients with recurrent endometrioma revealed an increase in the total population of T lymphocytes due to a subpopulation of T helpers, the number of which per microliter exceeded the reference values.

CONCLUSIONS: An increase in the number of free stromal cells in the foci of endometriosis with its recurrent course indicates the importance of hyperreactivity and the autoimmune mechanism in the chronization and progression of the disease.

Keywords: ovarian endometriosis; endometrioid cyst; endometrioma; relapse; T lymphocytes; T killers; T helpers; B lymphocytes; macrophages; CD4; CD8; CD20; CD68.

To cite this article:

Petrovskaja NN, Pechenikova VA. Analysis of cell immune regulation features in recurrent ovarian endometriosis. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2022;71(4):53–63. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD104887>

Received: 14.03.2022

Accepted: 31.03.2022

Published: 31.08.2022

ОБОСНОВАНИЕ

Поражение яичников признано наиболее часто встречающимся проявлением генитального эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста, отмеченным у 17–59 % больных данной патологией [1, 2]. Своевременная диагностика и эффективное лечение эндометриоза яичников имеют важное значение, поскольку прогрессирование этого заболевания приводит к формированию синдрома хронической тазовой боли, развитию рубцово-спаечного процесса, распространению патологического процесса на смежные органы, снижению овариального резерва, бесплодию. Основным методом лечения эндометриоза яичников остается хирургический с последующим назначением гормональной терапии, направленной на снижение риска рецидива. Однако частота повторного возникновения эндометриозных кист яичников после хирургического и комбинированного лечения, по данным литературы, составляет через 1–2 года 15–21 %, через 5 лет — 36–47 %, а через 5–7 лет достигает 50–55 % [3]. В работе K. Nirgianakis (2020) показано, что среднее время между операциями по поводу рецидивирующего течения эндометриоза яичников значительно не различается в группах пациентов репродуктивного возраста и составляет 32 (5–244) мес. до операции по поводу первого рецидива, 35 (5–222) мес. — по поводу второго, 30 (6–160) и 34 (5–90) мес. — по поводу третьего и четвертого рецидивов соответственно [4].

Очевидно, что частота рецидивов зависит от объективных клинических проявлений, тяжести заболевания, стадии эндометриоза, объема и метода операции, навыков хирурга. Важное значение имеет радикальность удаления эндометриозных очагов во время хирургического вмешательства. Даже если все лапароскопически видимые эндометриозные «ткани» полностью резецированы, остаточные «клетки» и микроскопические поражения потенциально могут привести к рецидиву (L. Fedele и соавт., 2005). Остается открытым вопрос, почему происходит рецидив после операции: из-за повторного роста *in situ* не полностью удаленных во время операции остаточных эндометриозных очагов или из-за поражений *de novo*, особенно с учетом того, что некоторые рецидивы зарегистрированы через длительный период времени после операции [4, 5].

Существует множество факторов и особенностей течения эндометриоза яичников, позволяющих прогнозировать риск развития рецидива эндометриозных кист:

- отягощенный наследственный анамнез по эндометриозу и злокачественным и/или доброкачественным опухолям яичников;
- перенесенные сексуально-трансмиссивные заболевания, оказывающие повреждающее действие на репродуктивную систему, снижающее устойчивость организма к различным патогенным факторам;
- наличие экстрагенитальной соматической патологии;

- отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, в том числе длительное бесплодие, медицинские аборт, самопроизвольные выкидыши, приводящие к рефлюксу менструальной крови в брюшную полость через маточные трубы, что является универсальным фактором агрессии иммунитета и при персистенции раздражителей приводит к резкому ослаблению иммунной системы и возникновению неадекватного ответа [6].

В литературе освещено большое количество исследований биохимических, иммуногистохимических, иммунологических показателей, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью для диагностики эндометриоза. Однако до настоящего времени не выявлены маркеры, обладающие достаточной специфичностью для прогнозирования риска рецидивирующего течения этого заболевания [7].

Распространенность эндометриоза среди женщин репродуктивного возраста и сложность выбора методов его эффективного лечения обуславливают необходимость изучения клинко-морфологических особенностей эндометриоза яичников при его рецидивирующем течении, а также поиска доступных информативных диагностических и прогностических маркеров, позволяющих выявить группы риска рецидива и сформировать методы профилактики.

Цель исследования — провести сравнительный анализ особенностей клеточной регуляции иммунитета у пациенток репродуктивного возраста с рецидивирующим течением эндометриоза яичников и женщин без рецидива после комбинированного лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 196 женщин репродуктивного возраста, получившие органосохраняющие операции по поводу эндометриозных кист яичников в клинике гинекологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова в период с 2012 по 2018 г. В зависимости от отдаленных результатов комбинированного лечения пациентки разделены на две группы: в основную группу вошли 45 женщин с рецидивом эндометриозных кист яичников, в группу сравнения — 151 пациентка с отсутствием рецидива заболевания спустя 4–9 лет после лечения. Для оценки результатов морфологического, иммуногистохимического и иммунологического исследований пациентки основной группы разделены на две подгруппы: в первую подгруппу вошли 23 женщины, прооперированные по поводу первого случая эндометриоза яичников (первая операция) с последующим рецидивом заболевания, во вторую — 22 больные, получившие операцию по поводу непосредственно рецидива эндометриоза (вторую операцию). Диагноз «эндометриозная киста яичника» поставлен на основании лапароскопических (объемное образование

с густым темно-коричневым или «шоколадным» содержимым) и морфологических (эндометриальная цитогенная строма, функционально активный или дистрофически измененный эндометриальный эпителий, отложения гемосидерина, свежие кровоизлияния) признаков.

Клиническая часть работы включала изучение анамнестических данных, общеклинических, гинекологических, лабораторных и инструментальных методов исследования. Все пациентки прооперированы с лапароскопическим доступом в плановом порядке в объеме цистэктомии или резекции яичника, выполнены также иссечение всех обнаруженных во время операции очагов эндометриоза другой локализации и рассечение спаек. Для определения стадии заболевания использовали классификацию эндометриозных кист яичников под редакцией Л.В. Адамян, В.И. Кулакова. В послеоперационном периоде все пациентки получали гормональную терапию в течение 6 мес. диеногестом или агонистами гонадотропин-рилизинг гормона.

Морфологическое исследование операционного материала выполняли методом световой микроскопии. Серийные срезы, изготовленные по стандартной методике, окрашивали гематоксилином и эозином. По макро- и микроскопическим характеристикам выделяли два варианта эндометриоза яичников — кистозный и железисто-кистозный. Железисто-кистозная форма отличалась наличием, помимо сформированной макроскопически видимой эндометриозной кисты, очагов эндометриоза эпителиально-стромального строения. По наличию или отсутствию признаков морфофункциональной активности в виде пролиферативных или секреторных изменений эпителиального компонента и цитогенной стромы диагностировали морфологически активный или неактивный эндометриоз.

Иммуногистохимическое исследование операционного материала проводили по стандартной авидин-биотиновой методике с использованием моноклональных мышиных антител к Т-хелперам (CD4), Т-киллерам (CD8), В-лимфоцитам (CD20), тканевым макрофагам (CD68). Результаты положительной реакции оценивали по коричневому окрашиванию CD4-, CD8-, CD20-, CD68-позитивных клеток. Морфометрическое исследование проводили с помощью системы анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Nikon Eclipse E400, компьютера на базе Intel Pentium 4 и программного обеспечения «Видеотест-Морфология 5.0». Объем выборки в каждом исследуемом случае составил по пять полей зрения при увеличении микроскопа $\times 200$. Подсчет количества окрашенных клеток в пяти полях зрения проведен отдельно в цитогенной строме и отдельно в капсуле эндометриозной кисты.

Иммунологическое обследование было выполнено до хирургического вмешательства и включало изучение относительного и абсолютного составов основных субпопуляций иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоцитов) в пери-

ферической крови путем иммунофенотипирования мембранных антигенов с использованием моноклональных антител на проточном цитометре.

Статистическую обработку данных проводили методами параметрической и непараметрической статистики с использованием программ прикладного статистического анализа STATISTICA v.10.0. Для количественных показателей рассчитывали среднее арифметическое значение (M), стандартное отклонение (s), 95 % доверительный интервал (ДИ), медиану (Me), для качественных показателей — частоты в долях и их 95 % ДИ. Для оценки межгрупповых различий применяли *t*-критерий Стьюдента, ранговый непараметрический *U*-критерий Манна – Уитни и *H*-критерий Краскела – Уоллиса. При сравнении частотных величин использовали χ^2 -критерий Пирсона или, в случае его неустойчивости, точный критерий Фишера. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частота рецидива эндометриозных кист яичников составила 22,96 %, в большинстве случаев (48,87 %) рецидив возник спустя 3–4 года после первой операции. Средний возраст пациенток с необходимостью повторного оперативного вмешательства по поводу рецидива эндометриозной кисты составил $32,2 \pm 6,1$ лет и достоверно не отличался от возраста женщин с безрецидивным течением заболевания ($31,6 \pm 7,0$ лет) ($p = 0,52$).

Клинические данные пациенток представлены в табл. 1. Большинство женщин в обеих группах (51,1 и 54,3 %) жаловались на боли в нижних отделах живота, усиливающиеся накануне менструации, с иррадиацией в поясницу, прямую кишку и нижние конечности, а также на нарушение менструальной функции в виде мажущих кровянистых выделений до, после менструации или в середине цикла. В обеих группах была достаточно высокая доля пациенток с дисменореей и диспареунией, но статистически достоверно чаще эти симптомы наблюдали у больных с последующим рецидивом эндометриоза яичников.

При оценке акушерского статуса значимых различий между долями пациенток с двумя и более родами в анамнезе, абортми, выкидышами в группах не выявлено. По данным гинекологического анамнеза, у больных с рецидивирующим течением эндометриоза яичников статистически достоверно чаще выявляли первичное бесплодие и операции на придатках матки по поводу патологии, не связанной с эндометриозом.

В обеих группах были достаточно высокие доли пациенток с отягощенным наследственным анамнезом по эндометриозу, избыточной массой тела, перенесенными инфекциями (передающимися половым путем), заболеваниями щитовидной железы или органов дыхания, частыми простудными заболеваниями и аллергическими реакциями.

Таблица 1. Клинические характеристики пациенток**Table 1.** Clinical characteristics of patients

Показатели	Основная группа (<i>n</i> = 45), <i>n</i> (%)	Группа сравнения (<i>n</i> = 151), <i>n</i> (%)	Статистическая значимость
Боли накануне менструации	23 (51,1)	82 (54,3)	<i>p</i> = 0,71
Дисменорея	35 (77,78)	93 (61,58)	<i>p</i> = 0,045
Диспареуния	26 (57,78)	54 (37,24)	<i>p</i> = 0,015
Вегетативные расстройства, сопровождающие боли	7 (15,6)	9 (6)	<i>p</i> = 0,039
Нарушение менструальной функции	23 (51,1)	82 (54,3)	<i>p</i> = 0,71
1 роды	12 (26,7)	32 (22,1)	<i>p</i> = 0,52
2 родов и более	2 (4,4)	13 (9,0)	<i>p</i> = 0,53
1 аборт	5 (11,1)	28 (19,3)	<i>p</i> = 0,20
2 аборта и более	2 (4,4)	3 (10,6)	<i>p</i> = 1,0
1 выкидыш	2 (4,4)	13 (9,0)	<i>p</i> = 0,53
2 выкидыша и более	1 (2,2)	1 (0,7)	<i>p</i> = 0,24
Первичное бесплодие	19 (42,2)	29 (20,0)	<i>p</i> = 0,0027
Вторичное бесплодие	5 (27,8)	21 (30,9)	<i>p</i> = 0,80
Операции на придатках матки по поводу патологии, не связанной с эндометриозом	26 (57,8)	11 (7,3)	<i>p</i> = 0,001
Отягощенный наследственный анамнез по эндометриозу	20 (44,4)	71 (47,02)	<i>p</i> = 0,11
Инфекции, передающиеся половым путем	24 (53,33)	86 (56,95)	<i>p</i> = 0,16
Избыточная масса тела	11 (24,44)	33 (21,85)	<i>p</i> = 0,76
Заболевания щитовидной железы	13 (28,9)	29 (19,2)	<i>p</i> = 0,16
Заболевания органов дыхания	13 (28,9)	56 (37,1)	<i>p</i> = 0,31
Частые простудные заболевания	24 (53,3)	66 (43,7)	<i>p</i> = 0,26
Отягощенный аллергологический анамнез	15 (33,3)	62 (41,1)	<i>p</i> = 0,35

При анализе протоколов первичного оперативного вмешательства выявлено, что у пациенток с последующим рецидивом эндометриозной кисты статистически достоверно чаще, чем в группе сравнения при первой операции обнаруживали:

- эндометриоз яичников III стадии (48,9 %) с характерным наличием двусторонних эндометриом;
- при кистозном поражении одного яичника гетеротопии на втором яичнике;
- очаги эндометриоза на париетальной брюшине малого таза;
- выраженный спаечный процесс в области придатков матки с частичным вовлечением кишечника (*p* = 0,023).

У пациенток с безрецидивным течением заболевания чаще (в 64,9 % случаев) выявляли эндометриоз яичников II стадии — эндометриозную кисту одного яичника, мелкие гетеротопии на брюшине малого таза и незначительный спаечный процесс в области придатков матки без вовлечения кишечника (*p* = 0,053).

При морфологическом исследовании обнаружено, что достоверно чаще при рецидивирующем течении эндометриоза яичников в операционном материале как первой (34,8 %), так и второй (40,9 %) операции выявляли железисто-кистозный вариант эндометриоза с характерным

наличием, наряду с макроскопически видимой эндометриомой, очагов эндометриоза эпителиально-стромального строения в ткани яичника за пределами кисты.

Стенка эндометриозной кисты состояла из нескольких слоев — непосредственно капсулы из волокнистой соединительной ткани снаружи и переменного количества эндометриальной цитогенной стромы изнутри. Цитогенная строма стенки кисты характеризовалась разнообразием морфологических особенностей в виде пролиферативных изменений, децидуальной трансформации, отека, фиброза, ангиоматоза, гемосидероза и скопления гемосидерофагов, а также лимфо-макрофагальной инфильтрацией. Внутренняя эпителиальная выстилка стенки кисты в большинстве наблюдений сохранялась только на отдельных участках и была выражена очагами уплощенного эндометриального эпителия с признаками атрофии и дистрофии, реже с признаками функциональной активности в виде очаговой пролиферации. Достоверно чаще при рецидивирующем течении эндометриоза яичников в обеих подгруппах при гистологическом исследовании операционного материала первой и второй операций диагностировали активный морфологический тип эндометриоза с характерным наличием пролиферативных изменений в сохранившейся эпителиальной выстилке кисты и цитогенной строме. Для случаев

Таблица 2. Морфологические особенности эндометриоза у пациенток**Table 2.** Morphological features of endometriosis in patients

Показатель	Основная группа, (n = 45)		Группа сравнения, (n = 151), n (%)
	первая подгруппа (n = 23), n (%)	вторая подгруппа (n = 22), n (%)	
Железисто-кистозный вариант эндометриоза	8 (34,8)*	9 (40,9)*	22 (14,6)
Кистозный вариант эндометриоза	15 (65,2)	13 (59,1)	129 (85,4)*
Морфологически активный тип эндометриоза	15 (65,2)	14 (63,6)	80 (53)
Морфологически неактивный тип эндометриоза	8 (34,8)	8 (36,4)	71 (47)
Пролиферативные изменения цитогенной стромы	15 (65,2)*	13 (59,1)*	53 (35,1)
Пролиферативный тип эпителиальной выстилки	15 (65,2)*	13 (59,1)	61 (40,4)
Атрофический тип эпителиальной выстилки	3 (13)	3 (13,6)	53 (35,1)*

Примечание. * статистически значимое различие показателей ($p < 0,05$) в основной группе (первой и второй подгруппах) и группе сравнения.

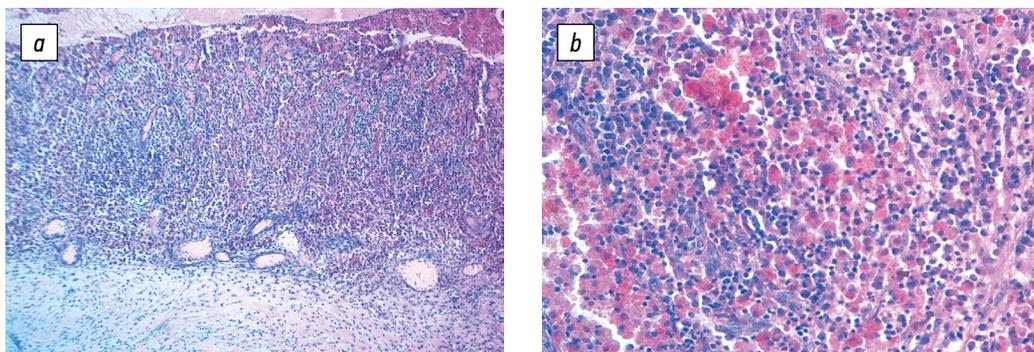


Рис. 1. Гистологическое исследование операционного материала пациенток: *a* — лимфо-макрофагальная инфильтрация капсулы и цитогенной стромы эндометриозной кисты, окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$; *b* — лимфо-макрофагальная инфильтрация в фокусах отложения гемосидерина, окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$

Fig. 1. Histological examination of the surgical material of patients: *a*, capsule lympho-macrophage infiltration and endometrioid cyst cytotogenic stroma. Hematoxylin-eosin stain, zoom $\times 100$; *b*, lympho-macrophage infiltration in the foci of hemosiderin deposition. Hematoxylin-eosin stain, zoom $\times 200$

Таблица 3. Результаты иммуногистохимического исследования клеточного состава лимфо-макрофагальной инфильтрации при эндометриозе яичников

Table 3. Immunohistochemical examination of the cellular composition of lympho-macrophage infiltration in ovarian endometriosis

Показатель	Основная группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 15), Me [Q ₁ ; Q ₃]
	первая подгруппа (n = 15), Me [Q ₁ ; Q ₃]	вторая подгруппа (n = 15), Me [Q ₁ ; Q ₃]	
T-киллеры (CD8) цитогенной стромы	76 [51; 100]*	62 [41; 71]*	27 [26; 33]
T-киллеры (CD8) капсулы кисты	77 [18; 135]*	62 [39; 73]*	8 [3; 28]
Тканевые макрофаги (CD68) цитогенной стромы	31 [8; 53]*	23 [12; 36]*	8 [6; 9]
Тканевые макрофаги (CD68) капсулы кисты	23 [3; 42]*	9 [5; 20]*	2 [0; 4]
B-лимфоциты (CD20) в цитогенной строме	4 [3; 6]*	6 [3; 14]	7 [5; 9]
B-лимфоциты (CD20) в капсуле кисты	17 [2; 30]*	5 [4; 8]*	1 [0; 2]
T-хелперы (CD4) в цитогенной строме	0 [0; 0]	7 [1; 26]*	0 [0; 0]
T-хелперы (CD4) в капсуле кисты	0 [0; 0]	8 [2; 14]*	0 [0; 0]

* статистически значимое различие показателей ($p < 0,05$) в основной группе (первой и второй подгруппах) и группе сравнения.

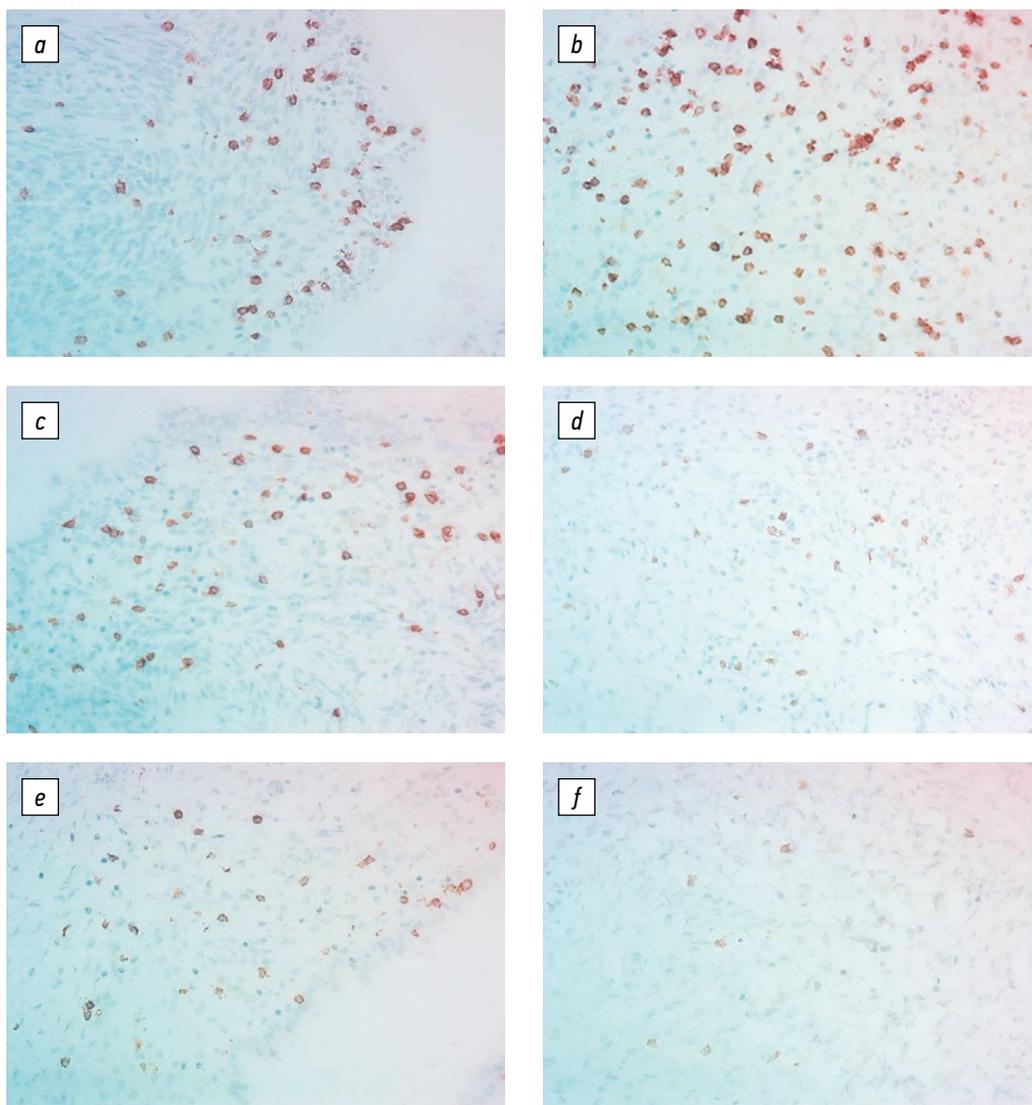


Рис. 2. Экспрессия Т-киллеров (CD8) при эндометриозе яичников: *a* — цитогенная строма, рецидив, первая операция; *b* — капсула кисты, рецидив, первая операция; *c* — цитогенная строма, рецидив, вторая операция; *d* — капсула кисты, рецидив, вторая операция; *e* — цитогенная строма, без рецидива; *f* — капсула кисты, без рецидива. Иммуногистохимическое исследование, увеличение $\times 100$

Fig. 2. T killers expression (CD8⁺) in ovarian endometriosis: *a*, cytotrogenic stroma, relapse, the first operation; *b*, cyst capsule, relapse, the first operation; *c*, cytotrogenic stroma, relapse, the second operation; *d*, cyst capsule, relapse, the second operation; *e*, cytotrogenic stroma, without relapse; *f*, cyst capsule, without relapse. Immunohistochemical examination, zoom $\times 100$

с безрецидивным течением заболевания более характерным был неактивный морфологический тип эндометриоза. В таких наблюдениях цитогенная строма обладала признаками выраженного фиброза, а эпителиальная выстилка на большем протяжении отсутствовала или была с явлениями атрофии и дистрофии (табл. 2). При железисто-кистозном варианте эндометриоза яичников в гетеротопиях обнаруживали признаки функциональной активности в виде пролиферативных или секреторных изменений эпителия желез и клеток цитогенной стромы.

При гистологическом исследовании операционного материала пациенток всех групп обращала на себя внимание выраженная лимфо-макрофагальная инфильтрация цитогенной стромы и капсулы эндометриоидной кисты. Наиболее активная миграция свободных клеток стромы

отмечена в местах отложения гемосидерина (рис. 1). В составе лимфо-макрофагальных инфильтратов цитогенной стромы и капсулы эндометриомы иммуногистохимическое исследование показало гистиоциты — тканевые макрофаги (CD68), цитотоксические Т-лимфоциты (CD8), В-лимфоциты (CD20) и Т-хелперы (CD4). Преобладающими популяциями свободных клеток стромы, обнаруженных в воспалительной инфильтрации как цитогенной стромы, так и капсулы эндометриоидной кисты стали популяции Т-киллеров (CD8) и тканевых макрофагов (CD68). Они экспрессировались во всех группах пациенток, но статистически достоверно в большем количестве выявлены при рецидивирующих эндометриоидных кистах в обеих подгруппах по сравнению с показателями при безрецидивном течении заболевания (табл. 3, рис. 2).

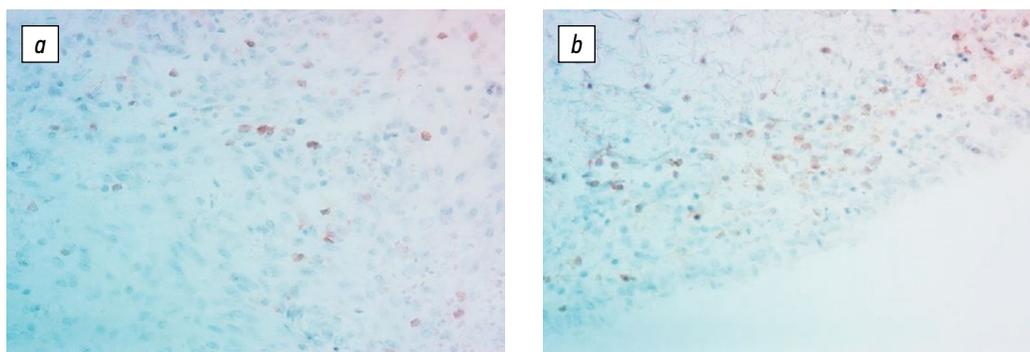


Рис. 3. Экспрессия Т-хелперов (CD4) у пациенток с рецидивирующим течением эндометриоза яичников: а — в капсуле эндометриозной кисты; б — в цитогенной строме. Иммуногистохимическое исследование, увеличение $\times 100$

Fig. 3. T helpers expression (CD4) in recurrent ovarian endometriosis: a, cyst capsule; b, cytotogenic stroma. Immunohistochemical examination, zoom $\times 100$

К мигрирующим клеткам стромы относят также зрелые В-лимфоциты (CD20). В цитогенной строме по количеству экспрессируемых CD20-положительных клеток достоверных различий между группами не было. В капсуле кисты при рецидиве эндометриоза в обеих группах исследования количество В-лимфоцитов было достоверно выше, чем в случаях безрецидивного течения.

Экспрессия CD4-положительных клеток (Т-хелперов) обнаружена только в воспалительных инфильтратах цитогенной стромы и капсулы эндометриозной кисты при рецидиве в материале повторной операции (рис. 3).

Т- и В-лимфоциты располагались диффузно на всем протяжении капсулы и цитогенной стромы эндометриозной кисты, макрофаги — преимущественно очагами, их наибольшее количество обнаружено в местах отложения гемосидерина.

Иммунологическое исследование периферической крови показало, что для пациенток с рецидивом эндометриозных кист яичников характерно статистически

достоверное повышение уровней Т- и В-лимфоцитов по сравнению с показателями при безрецидивном течении эндометриоза яичников. При этом повышение общей популяции Т-лимфоцитов в периферической крови при рецидиве эндометриозных кист яичников связано с повышением субпопуляции Т-хелперов, количество которых на микролитр выходило за пределы референсных значений. Количество Т-киллеров и В-лимфоцитов во всех группах оставалось в пределах нормы (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Рецидив эндометриозных кист яичников остается одной из нерешенных проблем в лечении эндометриоза. Изучение патогенетических механизмов прогрессирования заболевания, его хронизации и факторов риска рецидива позволит сформировать персонализированный подход к ведению пациенток, снизить необходимость повторного хирургического вмешательства, сохранить овариальный

Таблица 4. Иммунологический анализ периферической крови пациенток

Table 4. Immunological analysis of peripheral blood in patients

Показатель	Норма	Основная группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 15), Me [Q ₁ ; Q ₃]	Статистическая значимость
		первая подгруппа (n = 15), Me [Q ₁ ; Q ₃]	вторая подгруппа (n = 15), Me [Q ₁ ; Q ₃]		
Все лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	2,0–11,0	2,10 [1,70; 2,20]	4,00 [2,20; 4,30]	1,90 [1,50; 2,40]	$p < 0,001$
Т-лимфоциты CD3 ⁺ , %	52,0–76,0	68,22 [68,00; 69,86]	75,90 [72,54; 80,30]	72,30 [69,90; 73,80]	$p < 0,001$
Т-лимфоциты CD3 ⁺ , кл/мкл	950,0–1800,0	1415,40 [1159,74; 1536,92]	3212,00 [1570,80; 3506,22]	1372,18 [1084,50; 1580,64]	$p < 0,001$
Т-хелперы CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	35,0–55,0	38,94 [38,38; 44,44]	48,50 [45,92; 49,70]	46,20 [40,08; 48,78]	$p = 0,0061$
Т-хелперы CD3 ⁺ CD4 ⁺ , кл/мкл	500,0–1336,0	856,68 [652,46; 933,24]	2085,50 [1093,40; 2224,00]	840,82 [702,00; 933,12]	$p < 0,001$
Т-киллеры CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	19,0–35,0	24,00 [22,84; 27,92]	23,90 [21,20; 31,08]	22,76 [21,96; 27,48]	$p = 0,18$
Т-киллеры CD3 ⁺ CD8 ⁺ , кл/мкл	372,0–974,0	479,64 [445,92; 488,58]	956,00 [559,44; 1072,02]	448,56 [282,48; 569,00]	$p < 0,001$
В-лимфоциты CD19 ⁺ , %	5,0–19,0	13,00 [11,50; 13,10]	12,78 [11,40; 13,20]	10,71 [8,60; 12,88]	$p = 0,0095$
В-лимфоциты CD19 ⁺ , кл/мкл	100,0–480,0	195,50 [169,44; 275,10]	383,56 [250,80; 528,00]	209,28 [136,50; 237,66]	$p < 0,001$

резерв, реализовать репродуктивную функцию и улучшить показатели качества жизни больных.

Рядом исследований установлено, что к факторам риска повторного возникновения эндометриоза относятся дисменорея, отягощенный наследственный анамнез по эндометриозу и/или опухолям репродуктивной системы, хронические инфекционно-воспалительные заболевания гениталий, длительное бесплодие, медицинские аборт и самопроизвольные выкидыши в анамнезе, экстрагенитальная патология, хирургические вмешательства на органах малого таза в анамнезе, III стадия распространения патологического процесса [8, 9]. По результатам настоящего исследования, у пациенток с рецидивирующим течением эндометриоза яичников достоверно чаще выявляли дисменорею, диспареунию, хирургические вмешательства на придатках матки в анамнезе и III стадию распространения патологического процесса. Для этой стадии характерны двусторонние эндометриомы или при кистозном поражении одного яичника гетеротопии на втором яичнике, а также очаги эндометриоза на париетальной брюшине малого таза и выраженный спаечный процесс в области придатков матки с частичным вовлечением кишечника. По результатам сравнительного морфологического исследования операционного материала, при рецидивирующем течении эндометриоза яичников достоверно чаще выявляли железисто-кистозный вариант и морфологически активный тип эндометриоза. Причем эта особенность характерна для материала как первой, так и повторной операции. При морфологически активном типе эндометриоза отмечены пролиферативные изменения эпителиальной выстилки эндометриомы, пролиферация цитогенной стромы и очаги «свежих» кровоизлияний. Хорошо известно, что повышенный пролиферативный потенциал и сниженная тенденция к апоптозу являются свойствами эндометриоидных гетеротопий, обуславливающими их выживаемость в «чужом» микроокружении и прогрессирование заболевания [10].

В настоящее время одним из популярных и перспективных направлений является изучение роли иммунных изменений не только в появлении, но и в прогрессировании эндометриоза. Окончательно не решено, способствуют ли иммунологические нарушения развитию заболевания или, наоборот, его появление провоцирует расстройство иммунных механизмов [11]. В ряде работ показана роль нарушения соотношения уровней про- и противовоспалительных цитокинов, а также факторов роста как в периферической крови, так и в перитонеальной жидкости в развитии наружного генитального эндометриоза. Основное место в патогенезе заболевания отведено натуральным киллерам NK-клеткам, перитонеальным макрофагам и моноцитам. Исследователи предполагают, что изменение фагоцитарной активности иммунокомпетентных клеток приводит к активации имплантации и пролиферации ectopic эндометрия. Установлено, что, несмотря на неспособность распознавать и уничтожать патологические

очаги, перитонеальные макрофаги сохраняют функциональную активность при выработке провоспалительных цитокинов, факторов роста и ангиогенных факторов, вследствие чего развивается системная воспалительная реакция [12].

При эндометриозе, как при любом классическом аутоиммунном заболевании, изменяются функции T- и B-лимфоцитов и возникают признаки тканевого повреждения [13]. По некоторым данным литературы, роль B-клеточного звена в развитии эндометриоза в настоящее время вызывает сомнения, однако некоторые авторы считают, что его активация обуславливает повышение титра антиэндометриальных антител, стимулирующих аутоагрессию против тканей эндометрия, что лежит в основе развития заболевания. По результатам других исследований, достоверных изменений в содержании B-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом по сравнению с соответствующим показателем контрольной группы (женщин без эндометриоза) не выявлено. Авторы предполагают, что на фоне T-клеточной дисфункции нарушается баланс между двумя вариантами иммунного ответа, зависимыми от T-хелперов 1-го и 2-го типов. Эти нарушения приводят к снижению функциональной активности T-хелперов 1-го типа, в норме обеспечивающих активацию NK-клеток, макрофагов и цитотоксических T-клеток. Доминирование T-хелперов 2-го типа способствует выработке провоспалительных факторов, стимулирующих пролиферацию и неоангиогенез [14].

По результатам иммуногистохимического исследования обнаружена активная миграция клеток воспалительного ряда в очаг эндометриоза во всех группах наблюдений — как в цитогенную строму, так и в капсулу эндометриомы. Среди них преобладали CD68, CD8 и CD20. Статистически достоверно в большем количестве CD68- и CD8-положительные клетки экспрессировались в цитогенной строме и капсуле эндометриоидной кисты, а CD20 — только в капсуле при рецидивирующем течении эндометриоза, чем в группе сравнения. Эта тенденция была обнаружена в материале как первой, так и повторной операций. T-лимфоциты хелперы (CD4) выявлены в цитогенной строме и капсуле эндометриоидной кисты операционного материала только в случаях непосредственно рецидива, причем с повышением субпопуляции T-хелперов периферической крови, выходящим за пределы нормы.

Таким образом, результаты исследования показали, что эндометриоидная гетеротопия вызывает выраженную ответную воспалительную реакцию пораженного органа или ткани, направленную на элиминацию этой гетеротопии. Причем активация клеточных механизмов иммунитета проявляется главным образом на тканевом, а не системном уровне. Однако, несмотря на активную защитную реакцию пораженного органа, эндометриоидная гетеротопия сохраняет свою жизнеспособность. Повышенное количество макрофагов, T-киллеров и B-лимфоцитов

в очагах эндометриоза при его рецидивирующем течении свидетельствует о значении гиперреактивности и аутоиммунного механизма в хронизации и прогрессировании заболевания. Возможно, неспособность иммунной системы элиминировать эндометриодную гетеротопию связана с тем, что, являясь чужеродной тканью для пораженного органа и вызывая на себя ответную воспалительную реакцию, она не становится чужеродной для организма в целом, и ее не уничтожают клетки иммунной системы. Можно провести аналогию между очагами эндометриоза и опухолевыми метастазами, также вызывающими на себя активную миграцию свободных клеток стромы без элиминации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При эндометриозе возникает выраженная защитная воспалительная реакция пораженного органа и ткани. Она характеризуется активной миграцией свободных клеток стромы, среди которых преобладают Т-лимфоциты (CD4, CD8), тканевые макрофаги (CD68) и В-лимфоциты (CD20). Увеличение количества этих клеток в очагах эндометриоза при его рецидивирующем течении свидетельствует о значении гиперреактивности и аутоиммунного механизма в хронизации и прогрессировании заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Seo J.W., Lee D.Y., Yoon B.K., Choi D. The age-related recurrence of endometrioma after conservative surgery // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2017. Vol. 208. P. 81–85. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2016.11.015
2. Fassbender A., Overbergh L., Verdrengh E., et al. How can macroscopically normal peritoneum contribute to the pathogenesis of endometriosis? // *Fertil. Steril.* 2011. Vol. 96. No. 3. P. 697–699. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.06.034
3. Ouchi N., Akira S., Mine K., et al. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision: Risk factors and prevention // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2014. Vol. 40. No. 1. P. 230–236. DOI: 10.1111/jog.12164
4. Nirgianakis K., Ma L., McKinnon B., Mueller M.D. Recurrence patterns after surgery in patients with different endometriosis subtypes: a long-term hospital-based cohort study // *J. Clin. Med.* 2020. Vol. 9. No. 2. P. 496. DOI: 10.3390/jcm9020496
5. Guo S.W. Recurrence of endometriosis and its control // *Hum. Reprod. Update.* 2009. Vol. 15. No. 4. P. 441–461. DOI: 10.1093/humupd/dmp007
6. Качалина Т.С., Богатова М.Е., Кузнецов С.С., Лазукин В.Ф. Факторы риска рецидива эндометриодных кист яичников после хирургического лечения: ретроспективное когортное исследование // *Сеченовский вестник.* 2020. Т. 11. № 4. С. 60–71. DOI: 10.47093/2218-7332.2020.11.4.60-71
7. Berker B., Seval M. Problems with the diagnosis of endometriosis // *Womens Health (Lond).* 2015. Vol. 11. No 5. P. 597–601. DOI: 10.2217/whe.15.44
8. Tobiume T., Kotani Y., Takaya H., et al. Determinant factors of postoperative recurrence of endometriosis: difference between endometrioma and pain // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2016. Vol. 205. P. 54–59. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2016.07.516
9. Guzel A.I., Topcu H.O., Ekilinc S., et al. Recurrence factors in women underwent laparoscopic surgery for endometrioma // *Minerva Chir.* 2014. Vol. 69. No. 5. P. 277–282.
10. Печеникова В.А. Клиника, морфофункциональная характеристика аденомиоза и его опухолевой трансформации: дис. ... д-ра мед. наук. Санкт-Петербург, 2005. [дата обращения: 14.02.2022]. Доступ по ссылке: <https://www.disserscat.com/content/endometrioidnaya-bolezni-voprosy-patogeneza-kliniki-diagnostiki-i-lecheniya>
11. Сердюков С.В., Бочкарева Д.С., Огородник А.С. Иммунологические аспекты возникновения и прогрессирования эндометриоза // *Вестник ВолГМУ.* 2019. Т. 72. № 4. С. 15–20. DOI: 10.19163/1994-9480-2019-4(72)-15-20
12. Herington J.L., Bruner-Tran K.L., Lucas J.A., Osteen K.G. Immune interactions in endometriosis // *Expert. Rev. Clin. Immunol.* 2011. Vol. 7. No. 5. P. 611–626. DOI: 10.1586/eci.11.53
13. Абдуллаева Л.Х., Анциферова Ю.С., Малышкина А.И., Красильникова А.К. Особенности фенотипа В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости при эндометриозе // *Медицинская иммунология.* 2015. Т. 17. № 5. С. 256.
14. Ярмолинская М.И., Айламазян Э.К. Генитальный эндометриоз. Различные грани проблемы. Санкт-Петербург: Эко-Вектор, 2017.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование выполнено без использования спонсорских средств и финансового обеспечения.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Н.Н. Петровская внесла вклад в разработку концепции и дизайна исследования, провела сбор, анализ и статистическую обработку данных, подготовила текст статьи; В.А. Печеникова разработала основную концепцию и дизайн исследования, провела редактирование текста.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding. The study had no external funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Author contributions. N.N. Petrovskaia contributed to the development of the concept and design of the study, conducted data collection, analysis and statistical processing, prepared the text of the article; V.A. Pechenikova developed the basic concept and design of the study, edited the text.

All authors made a significant contribution to the study and the article preparation, as well as read and approved the final version before its publication.

REFERENCES

1. Seo JW, Lee DY, Yoon BK, Choi D. The age-related recurrence of endometrioma after conservative surgery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017;208:81–85. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2016.11.015
2. Fassbender A, Overbergh L, Verdrenghe E, et al. How can macroscopically normal peritoneum contribute to the pathogenesis of endometriosis? *Fertil Steril.* 2011;96(3):697–699. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.06.034
3. Ouchi N, Akira S, Mine K, Ichikawa M, Takeshita T. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision: risk factors and prevention. *J Obstet Gynaecol Res.* 2014;40(1):230–236. DOI: 10.1111/jog.12164
4. Nirgianakis K, Ma L, McKinnon B, Mueller MD. Recurrence patterns after surgery in patients with different endometriosis subtypes: a long-term hospital-based cohort study. *J Clin Med.* 2020;9(2):496. DOI: 10.3390/jcm9020496
5. Guo SW. Recurrence of endometriosis and its control. *Hum Reprod Update.* 2009;15(4):441–461. doi:10.1093/humupd/dmp007
6. Kachalina TS, Bogatova ME, Kuznetsov SS, Lazukin VF. Risk factors for recurrence of ovarian endometriomas after surgical treatment: retrospective cohort study. *Sechenov Medical Journal.* 2020;11(4):60–71. DOI: 10.47093/2218-7332.2020.11.4.60-71. (In Russ.)
7. Berker B, Seval M. Problems with the diagnosis of endometriosis. *Womens Health (Lond).* 2015;11(5):597–601. DOI: 10.2217/whe.15.44
8. Tobiume T, Kotani Y, Takaya H, et al. Determinant factors of post-operative recurrence of endometriosis: difference between endometrioma and pain. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;205:54–59. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2016.07.516
9. Guzel AI, Topcu HO, Ekilinc S, et al. Recurrence factors in women underwent laparoscopic surgery for endometrioma. *Minerva Chir.* 2014;69(5):277–282.
10. Pechenikova VA. Klinika, morfofunktsional'naya kharakteristika yego adenomioza i opukholevoy transformatsii. [dissertation]. Saint Petersburg; 2005. (In Russ.). [cited 2022 Feb 14]. Available from: <https://www.dissercat.com/content/endometrioidnaya-bolezn-vo-prosy-patogeneza-kliniki-diagnostiki-i-lecheniya>
11. Serdyukov SV, Bochkareva DS, Ogorodnik AS. Immunologicheskiye aspekty vozniknoveniya i progressirovaniya endometrioza. *Vestnik VolGMU.* 2019;4(72):15–20. (In Russ.). DOI: 10.19163/1994-9480-2019-4(72)-15-20
12. Herington JL, Bruner-Tran KL, Lucas JA, Osteen KG. Immune interactions in endometriosis. *Expert Rev Clin Immunol.* 2011;7(5):611–626. DOI: 10.1586/eci.11.53
13. Abdullayeva LKh, Antsiferova YuS, Malysheva AI, Krasil'nikova AK. Osobennosti fenotipa B-limfotsitov krovi peritoneal'noy zhidkosti pri endometrioze. *Meditsinskaya immunologiya.* 2015;17(S):256. (In Russ.)
14. Yarmolinskaya MI, Aylamazyan EK. Genital'nyy endometriozy. Razlichnye grani problemy. Saint Petersburg: Eko-Vektor; 2017. (In Russ.)

ОБ АВТОРАХ

*** Николь Николаевна Петровская;**

адрес: Россия, 195015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6849-5335>;
eLibrary SPIN: 7769-1969;
e-mail: dr.ramzaeva@mail.ru

Виктория Анатольевна Печеникова, д-р мед. наук, доцент;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5322-708X>;
eLibrary SPIN: 9603-5645;
e-mail: p-vikka@mail.ru

AUTHORS INFO

*** Nikol N. Petrovskaia, MD;**

address: 41 Kirochnaya St., Saint Petersburg, 195015, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6849-5335>;
eLibrary SPIN: 7769-1969;
e-mail: dr.ramzaeva@mail.ru

Victoria A. Pechenikova, MD, Dr. Sci. (Med.), Assistant Professor;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5322-708X>;
eLibrary SPIN: 9603-5645;
e-mail: p-vikka@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author