

АКТИВНОСТЬ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ В КЛЕТКАХ ЖЕЛЕЗИСТОГО И ПОКРОВНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

© Е.Л. Куренков, Е.В. Игенбаева, Т.В. Узлова

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск

Для цитирования: Куренков Е.Л., Игенбаева Е.В., Узлова Т.В. Активность ядрышковых организаторов в клетках железистого и покровного эпителия эндометрия у пациенток с наружным генитальным эндометриозом // Журнал акушерства и женских болезней. — 2018. — Т. 67. — № 6. — С. 45–49. doi: 10.17816/JOWD67645-49

Поступила: 12.10.2018

Одобрена: 09.11.2018

Принята: 05.12.2018

■ **Актуальность.** Эндометриоз — заболевание, характеризующееся разрастанием ткани, сходной по морфологическому строению и функции с эндометрием, за пределами полости матки. Благодаря теории Дж. Сампсона (1927), объясняющей формирование эндометриоидных гетеротопий забросом эндометриоидной ткани через маточные трубы во время менструации с их последующей имплантацией в малом тазу, появились исследования в отношении биологических свойств клеток эутопического эндометрия у женщин с эндометриозом, которые актуальны по сей день.

Цель — изучить активность ядрышковых организаторов в эндометрии у женщин с наружным генитальным эндометриозом и без него на разных стадиях менструального цикла.

Материал и методы исследования. Для проведения исследования были взяты парафиновые блоки биоптатов эндометрия от 68 женщин с наружным генитальным эндометриозом и без него. Активность ядрышковых организаторов оценивали по методу Дж. Крокера (1983).

Результаты исследования. Полученные результаты показали достоверное повышение рибосомальной активности в клетках железистого и покровного эпителия эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом на стадиях поздней пролиферации, ранней и средней секреции. Также отмечено достоверное снижение активности ядрышковых организаторов эпителиальных клеток эндометрия на стадии поздней секреции у женщин с наружным генитальным эндометриозом.

Заключение. Выявленные различия степени напряженности рибосомального синтеза в клетках покровного и железистого эпителия эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом, на наш взгляд, могут обеспечивать увеличение общего количества эпителиоцитов эндометрия, повышение их адгезивной, инвазивной способности и удлинение продолжительности жизненного цикла клеток, что способствует формированию эндометриоидных гетеротопий и развитию наружного генитального эндометриоза. Изменения активности ядрышковых организаторов в эндометрии у женщин с наружным генитальным эндометриозом могут представлять клинический интерес для диагностики данной патологии.

■ **Ключевые слова:** эндометриоз; эутопический эндометрий; ядрышковые организаторы.

ACTIVITY OF NUCLEOLAR ORGANIZERS IN ENDOMETRIAL GLANDULAR AND SURFACE EPITHELIAL CELLS IN PATIENTS WITH EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS

© E.L. Kurenkov, E.V. Igenbaeva, T.V. Uzlova

South-Urals State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

For citation: Kurenkov EL, Igenbaeva EV, Uzlova TV. Activity of nucleolar organizers in endometrial glandular and surface epithelial cells in patients with external genital endometriosis. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2018;67(6):45-49. doi: 10.17816/JOWD67645-49

Received: October 12, 2018

Revised: November 9, 2018

Accepted: December 5, 2018

■ **Hypothesis/aims of study.** Endometriosis is a disease characterized by proliferation of tissue that is similar in morphology and function to the endometrium, outside the uterine cavity. Thanks to the theory of J. Sampson (1927), which explains endometrioid heterotopia formation by bits of endometrial tissue migrating through the fallopian tubes during

menstruation and their subsequent implantation in the pelvis, research has begun on the biological properties of eutopic endometrial cells in women with endometriosis, which is still relevant today. The present study was aimed to assess the activity of nucleolus organizers in the endometrium in women with external genital endometriosis and without it at different stages of the menstrual cycle.

Study design, materials, and methods. Paraffin blocks of endometrial biopsy specimens were taken from 68 women with and without external genital endometriosis. The activity of nucleolar organizers was evaluated by the method of J. Crocker (1983).

Results. The data obtained showed a significant increase in ribosomal activity in the cells of the endometrial glandular and surface epithelium in women with external genital endometriosis at the stages of late proliferation, as well as early and middle secretions. There was also a significant decrease in the activity of the nucleolar organizers of endometrial epithelial cells at the stage of late secretion in women with external genital endometriosis.

Conclusion. The obtained differences in regulation of ribosomal synthesis in the cells of the integument and glandular epithelium of the endometrium in women with external genital endometriosis, in our opinion, can provide an increase in the total amount of epitheliocytes of the endometrium, increase their adhesive and invasive abilities, and lengthen the life cycle of cells. This contributes to the formation of endometrioid heterotopies and the development of external genital endometriosis. Changes in the activity of nucleolar organizers in the endometrium in women with external genital endometriosis may be of clinical interest for the diagnosis of this pathology.

■ **Keywords:** endometriosis; eutopic endometrium; nucleolar organizers.

Введение

Эндометриоз — распространенное гинекологическое заболевание, характеризующееся доброкачественным разрастанием ткани, сходной по морфологическому строению и функции с эндометрием, за пределами полости матки [1]. Широко признанной теорией происхождения наружного генитального эндометриоза является теория, предложенная Sampson в 1927 г., которая объясняет появление эндометриозной ткани через маточные трубы во время менструации с их последующей имплантацией в малом тазу [1–3]. Благодаря данной теории сложились предпосылки для изучения различных биологических свойств клеток эутопического эндометрия у женщин с эндометриозом.

Цель исследования — оценить активность районов ядрышковых организаторов эпителиальных клеток эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом и без него.

Материалы и методы

Для проведения исследования из патологоанатомического отделения Клиники ЮУГМУ г. Челябинска были взяты парафиновые блоки биоптатов эндометрия, фиксированных в 10 % растворе формалина, от 68 женщин.

Все пациентки находились в репродуктивном возрасте, имели регулярный менструальный цикл, не получали гормонального лечения. На основании данных лапароскопии 38 женщин (группа I) имели признаки наружного генитального эндометриоза I, II, III стадий заболевания согласно классификации

Американского общества репродуктивной медицины 1996 г. Средний возраст пациенток составил $33,1 \pm 4,3$ года. 30 женщин (группа II) без признаков наружного генитального эндометриоза на основании лапароскопического обследования были включены в контрольную группу, средний возраст в которой составил $34,5 \pm 6,9$ года.

В каждой группе эндометрий был распределен на подгруппы в зависимости от фазы цикла: А — эндометрий ранней стадии фазы пролиферации, В — эндометрий средней стадии фазы пролиферации, С — эндометрий поздней стадии фазы пролиферации, D — эндометрий ранней стадии фазы секреции, E — эндометрий средней стадии фазы секреции, F — эндометрий поздней стадии фазы секреции. Для определения соответствия эндометрия стадии и фазе менструального цикла (Витт, 1960) был изготовлен серийный набор плоскопараллельных срезов толщиной 5–7 мкм, который был окрашен гематоксилином и эозином. Из исследования был исключен эндометрий с признаками гиперпластических изменений (гиперплазия, полипы эндометрия), острого воспаления и хронического воспаления.

После проведенного отбора для определения активности ядрышковых организаторов с каждого парафинового блока изготавливали другой набор серийных плоскопараллельных срезов толщиной 5–7 мкм, который окрашивали 50 % коллоидным раствором нитрата серебра (Московский химический завод имени Войкова) по методу Дж. Крокера (1983). В клетках железистого и покровного эпителия подсчитывали

абсолютное число ядрышек, интрануклеолярных и экстрануклеолярных включений, абсолютное суммарное число включений на клетку при увеличении 1000 с масляной иммерсией и зеленым светофильтром [4].

Содержание ядрышек и интрануклеолярных аргентаффиновых включений определяли в 250 клетках железистого и в 250 клетках покровного эпителия в каждой фазе менструального цикла в обеих группах, выражая их в абсолютных значениях от общего числа изученных клеток. Также в железистом и покровном эпителии подсчитывали количество эпителиоцитов 1-го типа (клетки без экстрануклеолярных включений) и эпителиоцитов 2-го типа (клетки, содержащие экстрануклеолярные включения) в каждой фазе менструального цикла в обеих группах. Полученные значения сравнивали между основной и контрольной группами в каждой стадии менструального цикла.

Данные подвергали статистической обработке с помощью программы SPSS7. Для оценки достоверности различий использовали критерий Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение

Из данных, представленных в табл. 1 и 2, следует, что в железистом и покровном эпителии у женщин с наружным генитальным эндометриозом в поздней стадии фазы пролиферации количество ядрышек, интрануклеолярных включений, суммарное число включений было достоверно выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0,0001$). В клетках покровного эпителия в среднюю стадию фазы пролиферации обнаружено достоверно большее число экстрануклеолярных включений у пациенток с наружным генитальным эндометриозом ($p < 0,005$), а также достоверно большее количество эпителиоцитов 2-го типа ($p < 0,005$). На наш взгляд, усиление активности транскрипции ядрышковых организаторов обусловлено повышенной пролиферативной активностью клеток в эндометрии женщин с эндометриозом, что согласуется с данными литературы [5, 6].

В клетках железистого эпителия пациенток с наружным генитальным эндометриозом и покровного эпителия средней стадии фазы секреции количество интрануклеолярных включений и экстрануклеолярных включений, эпителиоцитов 2-го типа было достоверно выше ($p < 0,0001$) по сравнению с контрольной группой. Также в группе женщин с наружным генитальным эндометриозом в железистом

и покровном эпителии эндометрия в среднюю стадию фазы секреции обнаружено достоверно большее количество ядрышек, интрануклеолярных и экстрануклеолярных включений, эпителиоцитов 2-го типа ($p < 0,0001$).

Полагаем, что усиление рибосомального синтеза в клетках эпителия эндометрия в раннюю и среднюю стадии фазы секреции связано с повышенной секрецией матриксных металлопротеиназ, которые могут способствовать миграции, адгезии и инвазии клеток эндометрия за пределами полости матки, что отражено в ряде исследований [2, 7, 8].

В эндометрии поздней стадии фазы секреции количество ядрышек, интрануклеолярных включений и суммарное число включений в клетках покровного и железистого эндометрия было достоверно выше ($p < 0,0001$) у женщин в контрольной группе, без эндометриоза. В клетках покровного эпителия было выявлено достоверно большее количество экстрануклеолярных включений, клеток 2-го типа в позднюю стадию фазы секреции ($p < 0,0001$). Мы полагаем, что более высокая активность рибосомального синтеза в позднюю стадию фазы секреции в группе женщин без наружного генитального эндометриоза связана с процессами апоптоза, которые способствуют элиминации клеток эндометрия в позднюю стадию фазы секреции и менструальную фазу. Более низкую активность рибосомального синтеза в клетках эпителия эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом мы объясняем снижением апоптотической активности, что согласуется с рядом исследований [3, 7, 9, 10]. Супрессия апоптоза в эпителиальных клетках эндометрия в позднюю стадию фазы секреции у женщин с наружным генитальным эндометриозом обеспечивает сохранение жизнеспособных клеток, которые могут служить потенциальным источником для развития наружного генитального эндометриоза.

Таким образом, представленные различия степени напряженности рибосомального синтеза в клетках покровного и железистого эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом, обеспечивающие увеличение общего количества эпителиоцитов эндометрия, повышение их адгезивной, инвазивной способностей [2, 7, 8, 10] и удлинение продолжительности жизни [3, 7, 9, 11], вероятно, создают условия для формирования эндометриоидных гетеротопий и развития наружного генитального эндометриоза.

Таблица 1 / Table 1

Число ядершек, интрануклеолярных и экстракнуклеолярных включений, а также сумма интрануклеолярных аргентаффинных гранул в клетках железистого эпителия эндометрия в различные фазы менструального цикла у женщин с наружным генитальным эндометриозом и без него
 The number of nucleoli and intranucleolar and extranucleolar inclusions, as well as the sum of argentaffin intranuclear granules in endometrial glandular epithelial cells in women with external genital endometriosis and without it at different stages of the menstrual cycle

Показатели активности районов ядрышковых организаторов	Исследуемая группа пациенток													
	IA (n = 250)	IIA (n = 250)	IB (n = 250)	IIB (n = 250)	IC (n = 250)	IIC (n = 250)	ID (n = 250)	IID (n = 250)	IE (n = 250)	IIE (n = 250)	IF (n = 250)	IIF (n = 250)		
Число ядершек на клетку железистого эпителия	2,040 ± 0,051	1,940 ± 0,058	2,740 ± 0,073	2,800 ± 0,056	3,650 ± 0,099**	2,980 ± 0,070**	2,420 ± 0,064	2,260 ± 0,062	2,620 ± 0,050**	2,000 ± 0,041**	2,610 ± 0,047**	2,940 ± 0,058**		
Число интрануклеолярных включений на клетку железистого эпителия	3,320 ± 0,098	3,160 ± 0,101	5,420 ± 0,154	5,440 ± 0,137	7,400 ± 0,206**	5,900 ± 0,149**	5,205 ± 1,161**	4,100 ± 0,122**	4,860 ± 0,100**	3,290 ± 0,070**	4,300 ± 0,080**	5,600 ± 0,100**		
Число экстракнуклеолярных включений на клетку железистого эпителия	0,130 ± 0,023	0,160 ± 0,026	0,120 ± 0,230	0,150 ± 0,025	0,400 ± 0,036	0,310 ± 0,030	0,140 ± 0,028*	0,060 ± 0,017*	0,370 ± 0,035**	0,030 ± 0,011**	0,200 ± 0,260	0,200 ± 0,290		
Суммарное число включений на клетку железистого эпителия	3,440 ± 0,106	3,320 ± 0,109	5,540 ± 0,159	5,700 ± 0,145	7,810 ± 0,218**	6,220 ± 0,155**	5,400 ± 0,169**	4,170 ± 0,126**	5,230 ± 0,110**	3,320 ± 0,072**	4,500 ± 0,087**	5,880 ± 0,105**		

Таблица 2 / Table 2

Число ядершек, интрануклеолярных и экстракнуклеолярных включений, а также сумма интрануклеолярных аргентаффинных гранул в клетках покровного эпителия эндометрия в различные фазы менструального цикла у женщин с наружным генитальным эндометриозом и без него
 The number of nucleoli and intranucleolar and extranucleolar inclusions, as well as the sum of argentaffin intranuclear granules in endometrial surface epithelial cells in women with external genital endometriosis and without it at different stages of the menstrual cycle

Показатели активности районов ядрышковых организаторов	Исследуемая группа пациенток													
	IA (n = 250)	IIA (n = 250)	IB (n = 250)	IIB (n = 250)	IC (n = 250)	IIC (n = 250)	ID (n = 250)	IID (n = 250)	IE (n = 250)	IIE (n = 250)	IF (n = 250)	IIF (n = 250)		
Число ядершек на клетку покровного эпителия	1,540 ± 0,038	1,520 ± 0,034	2,520 ± 0,057	2,460 ± 0,039	3,310 ± 0,052**	2,890 ± 0,048**	2,080 ± 0,057	2,060 ± 0,051	2,440 ± 0,064**	2,050 ± 0,430**	2,580 ± 0,055**	2,940 ± 0,051**		
Число интрануклеолярных включений на клетку покровного эпителия	2,480 ± 0,070	2,570 ± 0,073	4,160 ± 0,098	4,330 ± 0,078	6,310 ± 0,089**	4,840 ± 0,082**	4,200 ± 0,115	4,310 ± 0,086	4,570 ± 0,116**	3,360 ± 0,068**	3,840 ± 0,088**	5,500 ± 0,106**		
Число экстракнуклеолярных включений на клетку покровного эпителия	0,070 ± 0,019	0,030 ± 0,010	0,200 ± 0,027*	0,140 ± 0,025*	0,230 ± 0,033	0,240 ± 0,027	0,060 ± 0,015	0,080 ± 0,018	0,320 ± 0,034**	0,080 ± 0,017**	0,260 ± 0,040**	0,420 ± 0,038**		
Число включений на клетку покровного эпителия	2,560 ± 0,077	2,600 ± 0,077	4,360 ± 0,106	4,460 ± 0,081	6,540 ± 0,105**	5,080 ± 0,091**	4,260 ± 0,119	4,400 ± 0,093	4,880 ± 0,122**	3,440 ± 0,073**	4,100 ± 0,102**	5,920 ± 0,114**		

Примечание. ** достоверность различий $p < 0,001$; * достоверность различий $p < 0,05$. I — группа женщин с наружным генитальным эндометриозом. II — контрольная группа. A — ранняя стадия фазы пролиферации; B — средняя стадия фазы пролиферации; C — поздняя стадия фазы пролиферации; D — ранняя стадия фазы секреции; E — средняя стадия фазы секреции; F — поздняя стадия фазы секреции.

Полученные различия в активности ядрышковых организаторов клеток железистого и покровного эпителия у женщин с наружным генитальным эндометриозом и без него могут представлять клинический интерес в качестве диагностического критерия наличия наружного генитального эндометриоза.

Список литературы

1. Дамиров М.М., Олейникова О.Н., Майорова О.В. Генитальный эндометриоз. Взгляд практикующего врача. — М.: БИНОМ, 2013. [Damirov MM, Oleynikova ON, Mayorova OV. Genital'nyy endometrioz. Vzglyad praktikuyushchego vracha. Moscow: BINOM; 2013. (In Russ.)]
2. Collette T, Maheux R, Mailloux J, Akoum A. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 in the eutopic endometrial tissue of women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2006;21(12):3059-3067. doi: 10.1093/humrep/del297.
3. Dmowski WP, Ding J, Shen J, et al. Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis. *Human Reproduction.* 2001;16(9):1802-1808. doi: 10.1093/humrep/16.9.1802.
4. Крокер Д. Районы ядрышкового организатора и фибриллярные центры // Молекулярная клиническая диагностика. Методы / Под ред. С. Херрингтона, Дж. Макги. — М.: Мир, 1999. — С. 261–279. [Kroker D. Rayony yadryshkovogo organizatora i fibrillyarnye tsenry. In: Diagnostic molecular pathology a practical approach. Ed by S. Herrington, J. McGee. Moscow: Mir; 1999. P. 261-279. (In Russ.)]
5. Burlev VA, Pavlovich SV, Il'yasova NA. Apoptosis and proliferative activity in endometrium during peritoneal endometriosis. *Bull Exp Biol Med.* 2006;141(2):204-207. doi: 10.1007/s10517-006-0128-x.
6. Matsuzaki S, Maleysson E, Darcha C. Analysis of matrix metalloproteinase-7 expression in eutopic and ectopic endometrium samples from patients with different forms of endometriosis. *Hum Reprod.* 2010;25(3):742-750. doi: 10.1093/humrep/dep435.
7. Evans-Hoeker E, Lessey BA, Jeong JW, et al. Endometrial BCL6 Overexpression in Eutopic Endometrium of Women with Endometriosis. *Reprod Sci.* 2016;23(9):1234-1241. doi: 10.1177/1933719116649711.
8. Szymanowski K, Mikolajczyk M, Wirstlein P, Dera-Szymanowska A. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMP-1) and transforming growth factor-beta2 (TGF-beta2) expression in eutopic endometrium of women with peritoneal endometriosis. *Ann Agric Environ Med.* 2016;23(4):649-653. doi: 10.5604/12321966.1226861.
9. Braun DP, Ding J, Shaheen F, et al. Quantitative expression of apoptosis-regulating genes in endometrium from women with and without endometriosis. *Fertil Steril.* 2007;87(2):263-268. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.06.026.
10. Zubor P, Hatok J, Galo S, et al. Anti-apoptotic and pro-apoptotic gene expression evaluated from eutopic endometrium in the proliferative phase of the menstrual cycle among women with endometriosis and healthy controls. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009;145(2):172-176. doi: 10.1016/j.ejogrb.2009.04.024.
11. Park JS, Lee JH, Kim M, et al. Endometrium from women with endometriosis shows increased proliferation activity. *Fertil Steril.* 2009;92(4):1246-1249. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.04.025.

■ Информация об авторах (Information about the authors)

Евгений Леонидович Куренков — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека. ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск. **E-mail:** kurenkovel@chelsma.ru.

Елена Валерьевна Игенбаева — врач-акушер-гинеколог гинекологического отделения клиники ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск. **E-mail:** bulba2606@mail.ru.

Татьяна Васильевна Узлова — д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии. ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск. **E-mail:** tatiana.uzlova@mail.ru.

Evgeny L. Kurenkov — MD, PhD, DSci (Medicine), Professor, the Head of the Department of Human Anatomy. South-Urals State Medical University, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** kurenkovel@chelsma.ru.

Elena V. Igenbaeva — MD. The Gynecological Department, the Clinic, South-Urals State Medical University, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** bulba2606@mail.ru.

Tatyana V. Uzlova — MD, PhD, DSci (Medicine), Professor. The Department of Obstetrics and Gynecology, South-Urals State Medical University, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** tatiana.uzlova@mail.ru.