

Роль сигнального пути антимюллера гормона/рецептора антимюллера гормона II типа в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с глубоким эндометриозом

Н.А. Чекенева¹, Н.А. Буралкина^{✉2}, А.В. Асатурова², В.Д. Чупрынин²

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

Цель. Проанализировать профиль антимюллера гормона (АМГ) и уровень экспрессии трансмембранного рецептора АМГ II типа (АМHRII) в эутопическом и эктопическом эндометрии пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом (ГИЭ).

Материалы и методы. Проведен сравнительный анализ экспрессии АМHRII в эпителиальных и стромальных клетках образцов эутопического и эктопического эндометрия и уровня сывороточного АМГ у пациенток репродуктивного возраста с ГИЭ (n=50) и трубно-перитонеальным бесплодием (n=9).

Результаты. Экспрессия АМHRII в стромальных клетках эутопического эндометрия пациенток с ГИЭ оказалась значимо выше по сравнению с железистыми клетками во всех группах исследования ($p < 0,5$). Обнаружено, что экспрессия АМHRII значимо выше в железистых клетках эутопического эндометрия по сравнению с эктопическим эндометрием очагов брюшины малого таза в группе пациенток с ГИЭ и составляет $1,60 \pm 0,77$ и $1,09 \pm 0,68$ балла соответственно ($p = 0,001$). Заключение. Ингибирующее влияние АМГ на процессы клеточной пролиферации и доказанная экспрессия АМHRII эутопическими и эктопическими эндометриодными клетками может указывать на роль АМГ в патогенезе эндометриоза и эндометриоз-ассоциированного бесплодия.

Ключевые слова: антимюллеров гормон, АМHRII, эутопический эндометрий, глубокий эндометриоз, бесплодие

Для цитирования: Чекенева Н.А., Буралкина Н.А., Асатурова А.В., Чупрынин В.Д. Роль сигнального пути антимюллера гормона/рецептора антимюллера гормона II типа в эутопическом и эктопическом эндометрии у пациенток с глубоким эндометриозом. Гинекология. 2023;25(3):337–340. DOI: 10.26442/20795696.2023.3.202332

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2023 г.

ORIGINAL ARTICLE

The role of the anti-Müllerian hormone/anti-Müllerian hormone receptor type II signaling pathway in the eutopic and ectopic endometrium in patients with deep endometriosis: A cross-sectional study

Natalya A. Chekeneva¹, Natalya A. Buralkina^{✉2}, Aleksandra V. Asaturova², Vladimir D. Chuprynin²

¹Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

Abstract

Aim. To analyze the profile of anti-Müllerian hormone (AMH) and the expression level of the transmembrane AMH receptor type II (AMHRII) in the eutopic and ectopic endometrium of patients with deep infiltrative endometriosis (DIE).

Materials and methods. A comparative analysis of AMHRII expression in epithelial and stromal cells of eutopic and ectopic endometrial samples and the level of serum AMH in patients of reproductive age with DIE (n=50) and tuboperitoneal infertility (n=9) was performed.

Results. AMHRII expression in eutopic endometrial stromal cells of DIE patients was significantly higher compared to glandular cells in all study groups ($p < 0.5$). AMHRII expression was found to be significantly higher in glandular cells of the eutopic endometrium compared to the ectopic endometrium of pelvic peritoneal foci in DIE patients: 1.60 ± 0.77 and 1.09 ± 0.68 points, respectively ($p = 0.001$).

Conclusion. The inhibitory effect of AMH on cell proliferation and the proven expression of AMHRII by eutopic and ectopic endometrioid cells may indicate the role of AMH in the pathogenesis of endometriosis and endometriosis-associated infertility.

Keywords: anti-Müllerian hormone, AMHRII, eutopic endometrium, deep endometriosis, infertility

For citation: Chekeneva NA, Buralkina NA, Asaturova AV, Chuprynin VD. The role of the anti-Müllerian hormone/anti-Müllerian hormone receptor type II signaling pathway in the eutopic and ectopic endometrium in patients with deep endometriosis: A cross-sectional study. Gynecology. 2023;25(3):337–340. DOI: 10.26442/20795696.2023.3.202332

Информация об авторах / Information about the authors

✉ Буралкина Наталья Александровна – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. хирургического отд-ния отд. оперативной гинекологии и общей хирургии ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: natalyaburalkina@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-5109-6725

✉ Natalya A. Buralkina – D. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: natalyaburalkina@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-5109-6725

Введение

Эндометриоз – хронический патологический процесс, характеризующийся наличием железистого и стромально-го компонентов эндометрия за пределами полости матки. В ряде исследований продемонстрировано, что одной из возможных причин развития эндометриоза являются эмбриологические нарушения во время органогенеза женской половой системы и дифференцировки мюллерова протока [1].

Антимюллеров гормон – АМГ (антимюллеровская субстанция) является гомодимерным гликопротеином, членом суперсемейства трансформирующего фактора роста β . Функция АМГ в женском организме в течение долгого времени оставалась неизвестной. В пренатальный период начиная с 32-й недели беременности клетки гранулезы яичника у плода женского пола начинают секретировать АМГ [2]. Наиболее изученной функцией АМГ является его участие в фолликулогенезе. Сывороточный уровень АМГ считается наиболее чувствительным маркером для оценки овариального резерва и важнейшим показателем старения женской репродуктивной системы [3].

Трансмембранный рецептор АМГ II типа (AMHRII) обладает уникальной специфичностью к АМГ. Согласно недавнему проведенному исследованию обнаружено, что рецепторы AMHRII экспрессируются в эндометрии [4, 5]. Основываясь на способности АМГ индуцировать апоптоз в эмбриональной ткани мюллеровых протоков, мы предположили, что АМГ может вызывать ингибирование пролиферации и усиление апоптоза эндометриальных клеток при эндометриозе. Исходя из этого, мы решили проанализировать уровень экспрессии AMHRII в эпителиальных и стромальных клетках образцов эутопического и эктопического эндометрия у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом (ГИЭ).

Материалы и методы

Сравнительный анализ экспрессии AMHRII проведен на хирургических образцах эутопического и эктопического (очаги эндометриоза брюшины, инфильтрат толстой кишки) эндометрия пациенток, проходивших стационарное лечение по поводу глубокого эндометриоза ($n=50$), в период с 2017 по 2020 г. в хирургическом отделении отдела оперативной гинекологии и общей хирургии ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». Группу контроля составили образцы эутопического эндометрия ($n=9$) пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием и хирургически подтвержденным отсутствием эндометриоза.

Критерии включения в исследование: наличие информированного согласия на исследование и оперативное лечение, репродуктивный возраст (от 18 до 40 лет), отсутствие инфекционных и злокачественных заболеваний, гистологически подтвержденный эндометриоз (основная группа),

Таблица 1. Клинико-anamнестическая характеристика пациенток
Table 1. Clinical presentation and medical history of patients

Показатели	ГИЭ (основная группа)	Трубно-перитонеальное бесплодие (контрольная группа)	P
	(n=50)	(n=9)	
Возраст, лет	30,93±5,14	33,67±4,97	0,08
Бесплодие в анамнезе, абс. (%)	16 (32)	9 (100)	<0,001*
АМГ сыворотки крови, нг/мл	4,37±4,91	4,11±3,70	0,46

Примечание. Расчет статистических различий в группах исследования проводился с помощью U-критерия Манна–Уитни и χ^2 .

трубно-перитонеальное бесплодие и отсутствие эндометриоза (группа контроля).

Всем пациентам производилось гистологическое исследование макропрепаратов, полученных в ходе оперативного лечения. Определение экспрессии AMHRII проводилось с помощью иммуногистохимического исследования с применением моноклональных антител Anti-AMG antibody (ab153915), разведение 1:500, и AMHRII-ab 64762, разведение 1:100. Оценка экспрессии проводилась с использованием полуколичественной системы с оценкой интенсивности экспрессии в баллах (0 баллов – отсутствие экспрессии, 1 балл – слабая экспрессия, 2 балла – умеренная экспрессия, 3 балла – выраженная экспрессия). С целью определения концентрации АМГ в сыворотке крови использовался радиоиммунологический метод (тест-системы Hoffmann La Roche, Ltd., Швейцария). Статистический анализ данных произведен с помощью программ Microsoft Excel, GraphPad Prism. Статистические различия между группами считались достоверными при $p<0,05$.

Результаты

Проведенный сравнительный анализ клинико-anamнестических данных пациенток с ГИЭ и группы контроля показал отсутствие значимых возрастных различий между группами исследования. У 32% пациенток основной группы наблюдались жалобы на отсутствие наступления беременности, при этом лишь у 28% пациенток с ГИЭ отмечены беременности в анамнезе. По результатам хирургического лечения эндометриоз I–II степени согласно классификации rASRM отмечен у 40% пациенток основной группы, III–IV степени – у 60% пациенток. Всем пациенткам контроль-

Чекенева Наталья Александровна – врач – акушер-гинеколог, врач ультразвуковой диагностики лечебно-диагностического отделения клиники детских болезней Сеченовского центра материнства и детства ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). E-mail: 4ekeneva@gmail.com; ORCID: 0009-0008-6645-6648

Асатурова Александра Вячеславовна – д-р мед. наук, зав. 1-м патолого-анатомическим отделением ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: a.asaturova@gmail.com; ORCID: 0000-0001-8739-5209

Чупрынин Владимир Дмитриевич – канд. мед. наук, зав. хирургическим отделением отд. оперативной гинекологии и общей хирургии ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: v_chuprynin@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-2997-9019

Natalya A. Chekeneva – Obstetrician-Gynecologist, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). E-mail: 4ekeneva@gmail.com; ORCID: 0009-0008-6645-6648

Aleksandra V. Asaturova – D. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: a.asaturova@gmail.com; ORCID: 0000-0001-8739-5209

Vladimir D. Chuprynin – Cand. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: v_chuprynin@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-2997-9019

Рис. 1. Экспрессия AMHRII в железистых и стромальных клетках эутопического эндометрия у пациенток с ГИЭ (* $p=0,0001$, Манна–Уитни тест).

Fig. 1. Anti-Müllerian hormone type II (AMHRII) expression in glandular and stromal eutopic endometrial cells in patients with deep infiltrative endometriosis – DIE (* $p=0.0001$, Mann–Whitney test).

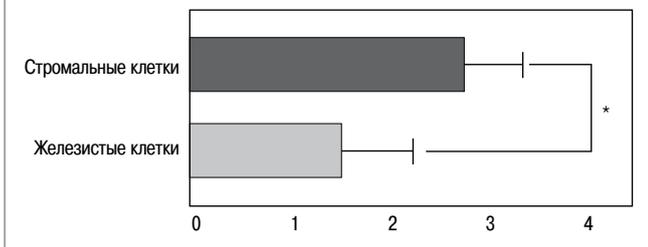
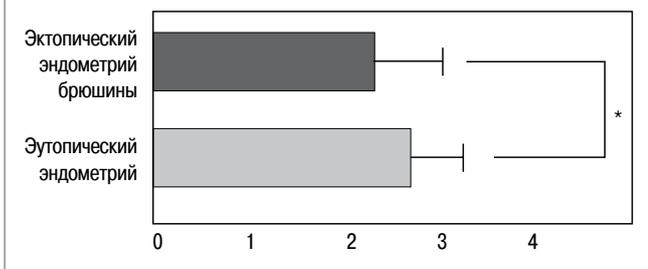


Рис. 2. Экспрессия AMHRII в стромальных клетках эутопического и эктопического эндометрия в группе пациенток с ГИЭ (* $p=0,003$, Манна–Уитни тест).

Fig. 2. AMHRII expression in stromal cells of the eutopic and ectopic endometrium in patients with DIE (* $p=0.003$, Mann–Whitney test).



ной группы проводилась диагностическая лапароскопия, по данным которой исключен диагноз эндометриоза.

Согласно результатам проведенного сравнительного анализа уровень АМГ сыворотки крови в основной и контрольной группах составил $4,37 \pm 4,91$ и $4,11 \pm 3,70$ нг/мл соответственно ($p > 0,05$). В основной группе у пациенток с III–IV степенью эндометриоза уровень АМГ оказался значительно ниже и составил $3,08 \pm 2,76$ нг/мл по сравнению с пациентками с I–II степенью, где данный показатель составил $7,15 \pm 7,30$ нг/мл; $p = 0,03$ (табл. 1).

На следующем этапе проведен сравнительный анализ экспрессии AMHRII в образцах эутопического и эктопического эндометрия. Согласно полученным данным экспрессия AMHRII в стромальных клетках эутопического эндометрия пациенток с ГИЭ оказалась значительно выше по сравнению с железистыми клетками во всех группах исследования ($p < 0,05$). Так, в основной группе экспрессия AMHRII в стромальных и железистых клетках эутопического эндометрия составила $2,43 \pm 0,70$ и $1,09 \pm 0,68$ балла соответственно (рис. 1).

Экспрессия AMHRII в железистых клетках эутопического эндометрия в основной группе составила $1,60 \pm 0,77$ балла, в стромальных – $2,79 \pm 0,51$ балла. В группе пациенток с трупно-перитонеальным бесплодием данные показатели составили $1,67 \pm 0,87$ и $2,89 \pm 0,33$ балла соответственно. В эутопическом эндометрии пациенток с III–IV степенью эндометриоза и поражением толстой кишки экспрессия AMHRII оказалась несколько ниже и составила $1,50 \pm 0,69$ и $2,70 \pm 0,57$ балла в железистых и стромальных клетках соответственно против $1,67 \pm 0,84$ и $2,83 \pm 0,51$ балла в подгрупп-

пе пациенток с I–II степенью эндометриоза. Несмотря на наличие тенденции к сниженной экспрессии AMHRII как в железистых, так и в стромальных клетках эутопического эндометрия пациенток с ГИЭ, значимых различий в уровне экспрессии AMHRII в зависимости от стадии эндометриоза не получено ($p > 0,05$).

При проведении сравнительного анализа экспрессии AMHRII в железистых клетках обнаружено, что экспрессия данного рецептора значимо выше в эутопическом эндометрии по сравнению с эктопическим эндометрием очагов брюшины малого таза в группе пациенток с ГИЭ и составляет $1,60 \pm 0,77$ и $1,09 \pm 0,68$ балла соответственно ($p = 0,001$). Аналогичные результаты получены в стромальных клетках, где экспрессия AMHRII в эутопическом эндометрии составила $2,79 \pm 0,51$ против $2,43 \pm 0,70$ балла в эндометриоидных очагах брюшины малого таза ($p = 0,003$); рис. 2.

Необходимо отметить, что сравнительный анализ экспрессии AMHRII в эутопическом эндометрии пациенток с ГИЭ показал высокую экспрессию AMHRII в строме во время секреторной фазы менструального цикла, где данный показатель составил $2,89 \pm 0,33$ балла против $2,31 \pm 1,03$ во время пролиферативной фазы ($p = 0,039$). Значимых различий в экспрессии AMHRII в зависимости от локализации эндометриоидного инфильтрата не получено ($p > 0,05$).

Проведенный анализ корреляции уровня сывороточного АМГ с экспрессией AMHRII в эутопическом эндометрии и эктопических очагах эндометриоза показал наличие слабой обратной корреляционной связи между уровнем АМГ сыворотки крови и экспрессией AMHRII в железистых клетках эутопического эндометрия ($r = -0,193$; $p = 0,02$).

Обсуждение

В ряде исследований показано, что АМГ является регулятором роста клеток в тканях мюллеровского происхождения, таких как эндометрий, яичники, шейка матки. Результаты, полученные J. Wang и соавт. (2009 г.), подтвердили повышение локальной концентрации АМГ в культивируемых стромальных эндометриоидных клетках, что приводило к снижению жизнеспособности клеток, а также увеличению апоптоза клеток [4]. Исследования, проведенные J. Namkung и соавт. и M. Borahay и соавт., также продемонстрировали, что АМГ активен в эндометриоидных клетках *in vitro* и действует в качестве ингибитора клеточного цикла [6, 7].

В проведенном исследовании нам удалось как подтвердить, так и дополнить ранее доступные литературные данные. В ходе исследования мы доказали наличие экспрессии AMHRII как в стромальных, так и в эпителиальных клетках эутопического и эктопического эндометрия, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований. Отмечено, что экспрессия AMHRII в стромальных клетках значимо выше, чем в эпителиальных. Данная тенденция отмечена как в эутопическом, так и в эктопическом эндометрии пациенток с ГИЭ.

Согласно результатам нашего исследования наблюдалась отрицательная корреляционная связь между концентрацией АМГ в сыворотке крови и экспрессией AMHRII в эпителиальных клетках эутопического эндометрия. Однако сила данной связи не позволяет делать выводы о регулирующем влиянии сывороточного АМГ на выраженность экспрессии AMHRII в эндометриоидных тканях. Тенденция к снижению экспрессии AMHRII в строме и железах эутопического эндометрия наблюдалась в подгруппе пациенток с тяжелым эндометриозом III–IV степени по сравнению с I–II степенью эндометриоза, без значимых различий между группами.

В исследовании М. Kitajima и соавт. отмечены высокие уровни АМГ и АМНRII в эутопическом и эктопическом эндометрии у женщин с эндометриозом, за исключением женщин с эндометриозом яичников, что может быть связано со сниженной продукцией АМГ гранулезой яичников в данной группе пациенток [8]. Отсутствие значимых различий в уровне экспрессии АМНRII в эутопическом эндометрии пациенток основной и контрольной групп в нашем исследовании может свидетельствовать об участии АМГ как в патогенетических процессах развития эндометриоза, так и о его роли в снижении фертильности, в том числе при эндометриозе. Таким образом, сигнальный путь АМГ/АМНRII может являться одним из основных звеньев патогенеза эндометриоз-ассоциированного бесплодия, что требует проведения дальнейших исследований.

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

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

Литература/References

1. Crispi S, Piccolo MT, D'Avino A, et al. Transcriptional profiling of endometriosis tissues identifies genes related to organogenesis defects. *J Cell Physiol.* 2013;228:1927-34.
2. Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., Машкова Е.А. Роль антимюллера гормона (АМГ) в норме и при различных гинекологических заболеваниях. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2009;58(3):74-83 [Boiarskii KIu, Gaidukov SN, Mashkova EA. Rol' anti-mullerova gormona (AMG) v norme i pri razlichnykh ginekologicheskikh zabollevaniakh. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznei.* 2009;58(3):74-83 (in Russian)].
3. Назаренко Т.А. Стимуляция функции яичников. 5-е изд., доп. и перераб. М.: МЕДпресс-информ, 2015 [Nazarenko TA. Stimulatsiia funktsii iaichnikov. 5-e izd., dop. i pererab. Moscow: MEDpress-inform, 2015 (in Russian)].
4. Wang J, Dicken C, Lustbader JW, et al. Evidence for a Mullerianinhibiting substance autocrine/paracrine system in adult human endometrium. *Fertil Steril.* 2009;91:1195-203.
5. Signorile PG, Petraglia F, Baldi A. Anti-mullerian hormone is expressed by endometriosis tissues and induces cell cycle arrest and apoptosis in endometriosis cells. *J Exp Clin Cancer Res.* 2014;33:46. DOI:10.1186/1756-9966-33-46
6. Namkung J, Song JY, Jo HH, et al. Mullerian inhibiting substance induces apoptosis of human endometrial stromal cells in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:3224-30. DOI:10.1210/jc.2012-1538
7. Borahay MA, Lu F, Ozpolat B, et al. Mullerian inhibiting substance suppresses proliferation and induces apoptosis and autophagy in endometriosis cells in vitro. *ISRN Obstet Gynecol.* 2013;2013:361489.
8. Kitajima M, Matsumoto K, Murakami N, et al. AMH Concentrations in Peritoneal Fluids of Women With and Without Endometriosis. *Front Surg.* 2020;7:600202. DOI:10.3389/fsurg.2020.600202

Статья поступила в редакцию / The article received: 03.03.2023

Статья принята к печати / The article approved for publication: 14.08.2023



OMNIDOCTOR.RU