УДК 618.145-007.415-06:618.177]-036.1:616.15-074:575.117
DOI: 10.24061/1727-0847.24.4.2025.52

О. В. Бакун, С. В. Купчанко
Кафедра акушерства та гінекології (зав. – проф. А. М. Бербець) закладу вищої освіти Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

КОРЕЛЯЦІЯ РІВНІВ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ мРНК NLRP3 ІНФЛАМАСОМИ, ВІД СТАДІЙ ЕНДОМЕТРІОЗУ В ЦІЛЬНІЙ КРОВІ ЖІНОК ХВОРИХ НА ЕНДОМЕТРІОЗ, АСОЦІЙОВАНИЙ ІЗ БЕЗПЛІДДЯМ

Резюме. Як відомо, ендометріоз – це хронічний процес, який супроводжується хронічним тазовим болем. Наразі триває дискусія щодо неінвазивних маркерів діагностики. Але досі немає єдиного специфічного маркера. Патогенез хронічного запалення передбачає прогрессивний перебіг, що супроводжується тривалим підтриманням інфламасом в активному стані завдяки надмірного накопичення внутрішньоклітинних, а потім позаклітинних DAMPs, неефективною утилізацією їх шляхом аутофагії і стрес-редукуючих клітинних систем, локальною продукцією прозапальних цитокінів IL-1β, IL-18, а також накопиченням М2 макрофагів і Т-лімфоцитів хелперів 2-го типу, пошкодженням тканин і розвитком фіброзу.
Регуляція активності IL-1 здійснюється на двох рівнях і вимагає дії двох стимулюючих сигналів – перший викликає експресію неактивної форми інтерлейкінів, проІl1α та проІl-1β, у яких активний інтерлейкін з'єднаний з додатковим пептидним ланцюгом, що повністю блокує активність проIL-1β та значною мірою – проIL-1α. Другий рівень регуляції здійснюється на етапі активації проінтерлейкінів протеолітичним відщепленням пропептиду внутрішньоклітинною протеазою каспазою-1, яка синтезується у вигляді неактивного проферменту.
Мета дослідження: дослідити рівні експресії генів мРНК NLRP3 інфламасоми та визначити кореляційні зв'язки між рівнем експресії генів мРНК NLRP3 інфламасоми та стадіями ендометріозу, асоційованого із безпліддям.
Матеріал і методи. Для аналізу експресії генів NLRP3-інфламасоми, і визначення відносної нормалізованої експресії мРНК NLRP3 використовували метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР) у 50 жінок: 40 жінок з ендометріозом та 10 жінок із безпліддям трубного генезу. Об'єктом для молекулярно-генетичних досліджень методом ЗТ-ПЛР була фракція мононуклеарних клітин, виділених з цільної крові хворих на ендометріоз.
Статистичну обробку результатів даного розділу проводили за допомогою непараметричних методів, а саме – тесту Уілкоксона-Манна-Уітні, при якому показники вважалися достовірними при $p<0,05$.
Результати дослідження. На основі проведеного дослідження, встановлено, що рівень експресії мРНК NLRP3-інфламасоми в крові жінок з ендометріозом, асоційованим із безпліддям достовірно підвищений порівняно з показниками контрольної групи (44,43±3,72 у.о. та 0,85±0,03 у.о) ($p<0,001$). Такі результати відносної нормалізованої експресії гена NLRP3 виявилися досить неочікуваними. Очевидно, що така висока активація рецептора пов'язана з наявністю потенційних лігандів, здатних його активувати. Серед відомих об'єктів із такою здатністю та присутністю в репродуктивних шляхах (ендометрії) жінки можна виділити ряд облігатних та умовно патогенних мікроорганізмів, які містять антигенні конфігурації (ліпопротеїди, пептидоглікан, гліколіпіди, зимозан грибів), що здатні активувати NLRP3. Однак, умовно патогенні збудники не підлягають обов'язковій медикаментозній елімінації. Проте, не виключено, що власне цей факт, за допомогою до кінця не зрозумілих механізмів і підтримує ріст ендометріоїдних ектопій.
Висновки. Рівень експресії мРНК NLRP3-інфламасоми в крові жінок з ендометріозом, асоційованим із безпліддям достовірно підвищений порівняно з показниками контрольної групи (44,43±3,72 у.о. та 0,85±0,03у.о) ($p<0,001$). У результаті дослідження досліджено, що ендометріоз, асоційований із безпліддям є хронічним запальним захворюванням. Таким чином, підвищення експресії генів мРНК NLRP3 інфламасоми, при ендометріозі можна розцінювати як захисну реакцію.
Ключові слова: ендометріоз, безпліддя, Nlrp3 – inflammasome.

Відомо, що NLRP3 – макромолекулярний білковий комплекс, який є головною ланкою вродженої імунної відповіді на інфекцію і стрес через активацію каспази-1 і дозрівання прозапальних цитокінів – IL-1β і IL18. Активація NLRP3 протягом інфекції може бути проективною, але нерегульована надлишкова активація каспази-1 і секреції IL-1β при відповіді на непатогенні ендогенні або екзогенні стимули може призводити до розвитку захворювань. Інфламасомам належить особлива роль у регуляції міжклітинних взаємодій при фізіологічних і патологічних умовах, що, імовірно дозволить істотно змінити уявлення про патогенез запалення [1, 2].

У даний час найбільш повно охарактеризовані NLRP3 білки цієї підродини, які беруть участь в активації інфламасом. Збірка та активація інфламасом призводять до індукованого каспазою-1 генерування активних форм прозапальних цитокінів, що належать до IL-1 родини,-IL – 1β, IL – 18 з білків попередників. Відомо, що мутації гена NLRP3 викликають активацію його білка і суперактивацію каспази-1 в моноцитах, що призводить до аберантного дозрівання IL-1β, і асоційовані зі схильністю до хронічних аутоімунних захворювань [3-5]. Формування NLRP3 – інфламасом відбувається в макрофагах, нейтрофілах, моноцитах, епітеліальних клітинах, мієлоїдних клітинах, нейронах, хондроцитах тощо. [6]. У даний час виявлено широкий спектр активаторів інфламасом, таких як екзогенні PAMPs і ендогенні молекули, що звільняються з пошкоджених клітин DAMPs, а також фактори навколишнього середовища. До DAMPs відносять кристали ендогенних молекул, зокрема натрієвої солі сечової кислоти, підвищений позаклітинний рівень глюкози, кристали холестерину, підвищену концентрацію позаклітинної АТФ (аденілтрифосфат), гіалуронову кислоту, фібрилярний білок, амілоїд-β, білки теплового шоку та ін. [7, 8].

Отже, всі відомі ефекторні молекули незалежно від їх типу призводять до короткочасного гострого запалення, навіть якщо вони надходять з міжклітинного простору [9, 10]. Так, патогенез хронічного запалення передбачає проградієнтний перебіг, що супроводжується тривалим підтриманням інфламасом в активному стані завдяки надмірного накопичення внутрішньоклітинних, а потім позаклітинних DAMPs, неефективною утилізацією їх шляхом аутофагії і стрес-редукуючих клітинних систем, локальною продукцією прозапальних цитокінів IL-1β, IL-18, а також накопиченням М2 макрофагів і Т-лімфоцитів хелперів 2-го типу, пошкодженням тканин і розвитком фіброзу [2, 10].

Регуляція активності IL-1 здійснюється на двох рівнях і вимагає дії двох стимулюючих сигналів – перший викликає експресію неактивної форми інтерлейкінів, proIl1α та proIl-1β, у яких активний інтерлейкін з'єднаний з додатковим пептидним ланцюгом, що повністю блокує активність proIL-1β та значною мірою – proIL-1α. Другий рівень регуляції здійснюється на етапі активації проінтерлейкінів протеолітичним відщепленням пропептиду внутрішньоклітинною протеазою каспазою-1, яка синтезується у вигляді неактивного проферменту [11]. Подібним чином відбувається активація інших інтерлейкінів, що стосуються сімейства IL-1, IL-18 та IL-36. Активація внутрішньоклітинної прокаспази-1, необхідна для перетворення proIl-1 на активний інтерлейкін, відбувається в макромолекулярні комплекси, названі інфламасомами [12].

Мета дослідження: дослідити рівні експресії генів мРНК NLRP3 інфламасоми та визначити кореляційні зв'язки між рівнем експресії генів мРНК NLRP3 інфламасоми та стадіями ендометріозу, асоційованого із безпліддям.

Матеріал і методи. Для аналізу експресії генів NLRP3-інфламасоми, і визначення відносної нормалізованої експресії мРНК NLRP3 використовували метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР) у 50 жінок: 40 жінок з ендометріозом та 10 жінок із безпліддям трубного генезу. Об'єктом для молекулярно-генетичних досліджень методом ЗТ-ПЛР була фракція мононуклеарних клітин, виділених з цільної крові хворих на ендометріоз.

Для вираження відносного рівня експресії генів використовували порівняльний Ct метод (ΔΔCt метод). Розрахунки проводили за формулами: ΔCt (гена-мішені) = Ct (гена-мішені) – Ct (гена-калібратора / ACT1); ΔΔCt = ΔCt (гена-мішені) – ΔCt (базисного гена); Відносний рівень експресії виражали в 2–ΔΔCt. Статистичний аналіз даних ПЛР проводили за допомогою програмного забезпечення CFX Manager™ (Bio-Rad, США). Підібрано оптимальні умови ЗТ-ПЛР для досягнення лінійної залежності між числом циклів і кількістю продуктів ПЛР. В експеримент були включені негативні контролі: без додавання кДНК матриці в реакцію ПЛР, без додавання мРНК матриці в синтезі кДНК, без додавання ферменту в синтезі кДНК. Усі реакції ампліфікації виконували на індивідуальних зразках у трьох повторах. Кількісні змінні оцінювали за допомогою тесту Шапіро-Вілка (якщо кількість суб'єктів була менше 50) або тесту Колмогорова-Смирнова (коли кількість суб'єктів була більше 50). Кількісні змінні після нормального розподілу були описані за допомогою середнього (M) і стандартного відхилення (SD), 95% довірчий інтервал (95% ДІ) було оцінено для середнього зна-

чення. Кількісні змінні після ненормального розподілу були описані за допомогою медіани (Me) та нижнього та верхнього квартилів (Q1 – Q3). Категориальні дані описувалися з абсолютними та відносними частотами.

Порівняння двох груп за кількісною змінною за нормальним розподілом, за умови рівності дисперсій, було виконано за допомогою t-критерію Стьюдента.

U-критерій Манна-Уїтні використовувався для порівняння двох груп за кількісною змінною, розподіл якої відрізнявся від нормального розподілу.

Порівняння частот в аналізі таблиць непередбачуваності 2 на 2 проводили за допомогою точного критерію Фішера (для очікуваних значень менше 10). Порівняння частот в аналізі багатопоказникових таблиць контингентності проводили за допомогою критерію хі-квадрат Пірсона (для очікуваних значень більше 10) [13-16].

Напрямок і силу зв'язку між двома кількісними змінними оцінювали за допомогою коефіцієнта кореляції Спірмена (якщо хоча б одна змінна не відповідає нормальному розподілу) [14-16].

Прогностична модель, що характеризує залежність кількісної змінної від предикторів, розроблена за допомогою звичайної лінійної регресії найменших квадратів.

Аналіз ROC використовувався для оцінки діагностичної ефективності кількісних змінних у прогнозуванні категоричного результату. Оптимальне граничне значення кількісної змінної було оцінено за допомогою J-статистики Юдена [13-16].

Статистичну обробку результатів даного розділу проводили за допомогою непараметричних методів, а саме – тесту Уілкоксона-Манна- Уітні, при якому показники вважалися достовірними при $p<0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати дослідження відносної нормалізованої експресії мРНК NLRP3 інфламасоми в цільній крові демонструє рисунок 1.

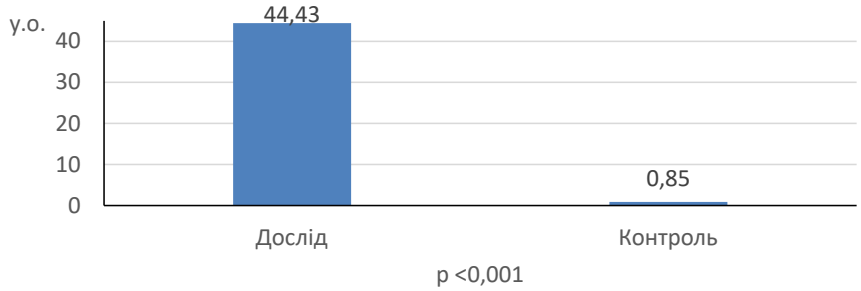

Рис. 1. Відносна нормалізована експресія гену мРНК NLRP3-інфламасоми. Нормалізація за методом ΔΔCt з референс-геном Actin, beta

На основі проведеного дослідження, встановлено, що рівень експресії мРНК NLRP3-інфламасоми в крові жінок з ендометріозом, асоційованим із безпліддям достовірно підвищений порівняно з показниками контрольної групи (44,43±3,72 у.о. та 0,85±0,03 у.о) ($p<0,001$).

Діапазон всіх отриманих значень відносної нормалізованої кількості мРНК гена NLRP3-інфламасоми становив 2,57-112,80 (медіана – 44,43). Коливання діапазонів значень нижчі від медіани (3,98-19,23) спостерігалися у 18 спостереженнях, що становило 45% випадків, у той час, як значення вищі від медіани (>44,43), які демонстрували найбільші відхилення від контролю, спостерігалися у 55% всіх досліджуваних зразків крові, що складало більшість спостережень ($p<0,05$). Таким чином, у 95,63% випадків усієї вибірки виявлені збільшення відносної нормалізованої експресії (окрім пограничних значень) мРНК гена NLRP3, з переважанням значних відхилень від контролю ($p<0,001$).

Такі результати відносної нормалізованої експресії гена NLRP3 виявилися досить неочікуваними. Очевидно, що така висока активація рецептора пов'язана з наявністю потенційних лігандів, здатних його активувати. Серед відомих об'єктів із такою здатністю та присутністю в репродуктивних шляхах (ендометрії) жінки можна виділити ряд облігатних та умовно патогенних мікроорганізмів, які містять антигенні конфігурації (ліпопротеїди, пептидоглікан, гліколіпіди, зимозан грибів), що здатні активувати NLRP3. Однак, умовно патогенні збудники не підлягають обов'язковій медикаментозній елімінації. Проте, не виключено, що власне цей факт, за допомогою до кінця не зрозумілих механізмів і підтримує ріст ендометріоїдних ектопій. Отримані нами результати рівнів експресії NLRP3-інфламасоми вказують на його зростання, тому наступним етапом нашого дослідження було визначення рівнів експресії NLRP3-інфламасоми залежно від стадій ендометріозу. При цьому встановлено, що у групі жінок без клінічних симптомів (за класифікацією rASF, 1997 – це жінки з 1 та 2 стадією ендометріозу) – у 20 жінок рівень експресії NLRP3-інфламасоми становить 10,07±1,18 у.о.

З прогресуванням захворювання спостерігається зростання показника від 26,59±1,83 у.о. – у 12 жінок з ендометріозом середньої стадії до 50,08±3,26 у.о. – у 8 жінок з ендометріозом тяжкої стадії. При цьому встановлено наявність вірогідної різниці між усіма показниками (p<0,001). Результати дослідження експресії гену NLRP3 у крові жінок залежно від стадій ендометріозу демонструє рисунок 2.

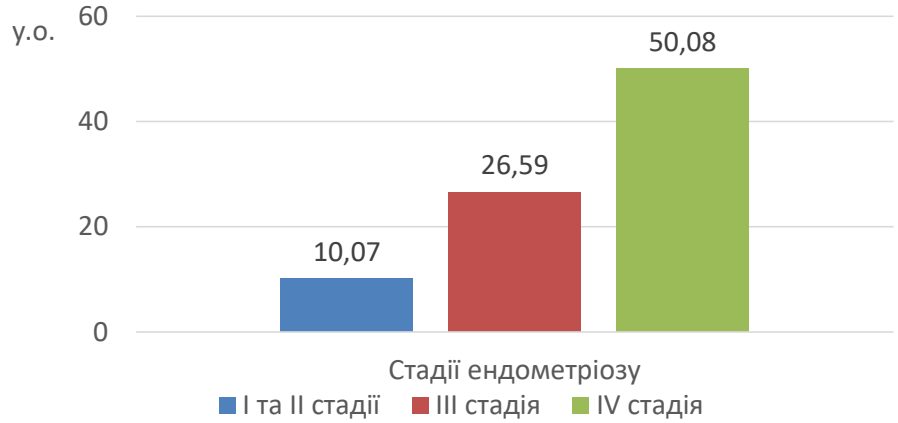

Рис. 2. Експресія NLRP3 у крові жінок основної групи залежно від стадій ендометріозу

При легкій стадії ендометріозу показники експресії гена мРНК NLRP3 в межах 2,57-33,5 (медіана – 10,07), середній стадії – 4,71-48,8 (медіана – 26,59), тяжкій 13,03-112,8 (медіана – 50,08), що наглядно вказує на зростання показника з поширенням захворювання. У пацієнток із 1 та 2 стадіями скарг не пред'являли, однак звертає увагу на себе той факт, що вони не могли завагітніти впродовж щонайменше двох років. Отже, можна вважати, що підвищення рівня експресії гена мРНК NLRP3-інфламасоми є захисним механізмом щодо прогресування захворювання.

У результаті роботи встановлено підвищення NLRP3-інфламасоми з розвитком захворювання, що можна трактувати як підвищення кількості NLRP3-інфламасоми для локалізації процесу, однак запускається «вадне коло», що підтверджується даними літератури [17]. Показано, що висока експресія NLRP3-інфламасоми в плідних оболонках та плацентарній тканині асоціюється з ПРПО. Іншими дослідниками виявлено, що підвищена експресія NLRP3-інфламасоми є причиною передчасних пологів, викиднів, прееклампсії, розвитку гестаційного цукрового діабету, внутрішньоутробного інфікування плода [17]. Встановлено, що NLRP3- інфламасома підвищується при інфекційному процесі з метою розпізнання мікроорганізмів та їх структур. Зокрема, NLRP3 розпізнає ліпополісахарид (LPS), який входить до складу стінки переважно Грам-негативних мікроорганізмів [1, 18, 19]. Мікроорганізми з відповідними паттернами часто присутні в репродуктивному тракті при бактеріальних дисбіозах, причому частіше знаходяться мікробні агенти, що є лігандами для TLR2. Власне, з цієї позиції ми і пояснюємо отримані результати підвищення мРНК NLRP3 в крові жінок на ендометріоз. Нами встановлено, що у 89,9% жінок основної групи наявний запальний процес у шийці матки та піхві.

Висновки. 1. Рівень експресії мРНК NLRP3-інфламасоми в крові жінок з ендометріозом, асоційованим із безпліддям достовірно підвищений порівняно з показниками контрольної групи (44,43±3,72 у.о. та 0,85±0,03у.о) (p< 0,001). 2. У результаті дослідження досліджено, що ендометріоз, асоційований із безпліддям є хронічним запальним захворюванням. Отже, підвищення експресії генів мРНК NLRP3 інфламасоми, при ендометріозі можна розцінювати як захисну реакцію.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується вивчення кореляційних взаємозв'язків між рівнем експресії мРНК NLRP3-інфламасоми та онкомаркерами CA 125, HE4.

Список використаної літератури

1. Peng B, Alotaibi FT, Sediqi S, Bedaiwy MA, Yong PJ. Role of interleukin-1β in nerve growth factor expression, neurogenesis and deep dyspareunia in endometriosis. Hum Reprod. 2020;35(4):901-12. doi: 10.1093/humrep/deaa017.

2. Zhou F, Zhao F, Huang Q, Lin X, Zhang S, Dai Y. NLRP3 activated macrophages promote endometrial stromal cells migration in endometriosis. J Reprod Immunol [Internet]. 2022[cited 2024 Oct 02];152:103649. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165037822001784?via%3Dihub doi: 10.1016/j.jri.2022.103649.

3. Cuffaro F, Russo E, Amedei A. Endometriosis, Pain, and Related Psychological Disorders: Unveiling the Interplay among the Microbiome, Inflammation, and Oxidative Stress as a Common Thread. Int J Mol Sci. 2024;25(12):1-29. doi: 10.3390/ijms25126473.
4. Li XY, Chao XP, Leng JH, Zhang W, Zhang JJ, Dai Y, et al. Risk factors for postoperative recurrence of ovarian endometriosis: long-term follow-up of 358 women. J Ovarian Res. 2019;12(1):1-10. doi: 10.1186/s13048-019-0552-y.
5. Han SJ, Lee JE, Cho YJ, Park MJ, O'Malley BW. Genomic Function of Estrogen Receptor β in Endometriosis. Endocrinology. 2019 Nov 1;160(11):2495-516. doi: 10.1210/en.2019-00442.
6. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Inflammasome activation and regulation: toward a better understanding of complex mechanisms. Cell Discov. 2020;6:1-22. doi: 10.1038/s41421-020-0167-x.
7. Ajdary M, Kashi AM, Derakhshan R, Chaichian S, Tahermanesh K, Mehdizadeh M, et al. NLRP3 concentration, oxidants, and antioxidants in plasma of endometri osis patients undergoing treatment with dienogest. J Gynecol Obstet Hum Reprod [Internet]. 2024 [cited 2024 Oct 02];53(3):102744. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468784724000230?via%3Dihub doi: 10.1016/j.jogoh.2024.102744.
8. Taylor RN, Berga SL, Zou E, Washington J, Song S, Marzullo BJ, et al. Interleukin-1β induces and accelerates human endometrial stromal cell senescence and impairs decidualization via the c-Jun N-terminal kinase pathway. Cell Death Discov [Internet]. 2024[cited 2024 Oct 02];10:288 Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11180092/pdf/41420_2024_Article_2048.pdf doi: 10.1038/s41420-024-02048-6.
9. Бігун РВ, Геник НІ, Крижанівська АЄ, Дзьомбак ВБ, Гаврилюк ГМ, Островська ОМ. Фармакологічна корекція імунометаболічних порушень у пацієнток з ендометріомою на тлі хронічних запальних процесів репродуктивної сфери. Репродуктивне здоров'я жінки. 2022;2:21-8. doi: 10.30841/2708-8731.2.2022.261802.
10. Werdel R, Mabie A, Evans TL, Coté RD, Schlundt A, Doehrman P, et al. Serum Levels of Interleukins in Endometriosis Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. J Minim Invasive Gynecol. 2024;31(5):387-96. doi: 10.1016/j.jmig.2024.02.011.
11. Kolahdouz-Mohammadi R, Shidfar F, Khodaverdi S, Arablou T, Heidari S, Rashidi N, et al. Resveratrol treatment reduces expression of MCP-1, IL-6, IL-8 and RANTES in endometriotic stromal cells. J Cell Mol Med. 2021 Jan;25(2):1116-27. doi: 10.1111/jcmm.16178.
12. Cardoso JV, Machado DE, da Silva MC, de Mello MP, Berardo PT, Medeiros R, et al. Influence of interleukin-8 polymorphism on endometriosis-related pelvic pain. Hum Immunol. 2023;84(10):561-6. doi: 10.1016/j.humimm.2023.07.004.
13. Грузєва ТС, редактор. Біостатистика. Вінниця: Нова книга; 2020. 384 с.
14. Рижов ОА, Пенкін ЮМ. Статистичні методи опрацювання результатів медично-біологічних досліджень. Львів: Магнолія 2006; 2021. 160 с.
15. Kolassa JE. An Introduction to Nonparametric Statistics. 1st ed. Chapman and Hall/CRC; 2020. 224 p.
16. Devore JL, Berk KN, Carlton MA. Modern Mathematical Statistics with Applications. 3rd ed. Springer; 2021. 981 p.
17. Покровенко ДА, Медведєв МВ. Алгоритм лікування зовнішнього генітального ендометріозу із застосуванням нових молекулярних маркерів. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2021;2:106-13. doi: 10.11603/24116-4944.2021.2.12607.
18. Чернікова Д. Переосмислення генезу ендометріозу та тазового болю: як вплинути на патофізіологічні механізми запалення? Медичні аспекти здоров'я жінки. 2024;2(154):70-3.
19. Грек ЛП. Роль прозапальних механізмів у виникненні системних порушень у пацієнток з хронічним тазовим болем. Здоров'я жінки. 2019;1(137):105-9.

References

1. Peng B, Alotaibi FT, Sediqi S, Bedaiwy MA, Yong PJ. Role of interleukin-1β in nerve growth factor expression, neurogenesis and deep dyspareunia in endometriosis. Hum Reprod. 2020;35(4):901-12. doi: 10.1093/humrep/deaa017.
2. Zhou F, Zhao F, Huang Q, Lin X, Zhang S, Dai Y. NLRP3 activated macrophages promote endometrial stromal cells migration in endometriosis. J Reprod Immunol [Internet]. 2022[cited 2024 Oct 02];152:103649. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165037822001784?via%3Dihub doi: 10.1016/j.jri.2022.103649.
3. Cuffaro F, Russo E, Amedei A. Endometriosis, Pain, and Related Psychological Disorders: Unveiling the Interplay among the Microbiome, Inflammation, and Oxidative Stress as a Common Thread. Int J Mol Sci. 2024;25(12):1-29. doi: 10.3390/ijms25126473.

4. Li XY, Chao XP, Leng JH, Zhang W, Zhang JJ, Dai Y, et al. Risk factors for postoperative recurrence of ovarian endometriosis: long-term follow-up of 358 women. J Ovarian Res. 2019;12(1):1-10. doi: 10.1186/s13048-019-0552-y.
5. Han SJ, Lee JE, Cho YJ, Park MJ, O'Malley BW. Genomic Function of Estrogen Receptor β in Endometriosis. Endocrinology. 2019 Nov 1;160(11):2495-516. doi: 10.1210/en.2019-00442.
6. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Inflammasome activation and regulation: toward a better understanding of complex mechanisms. Cell Discov. 2020;6:1-22. doi: 10.1038/s41421-020-0167-x.
7. Ajdary M, Kashi AM, Derakhshan R, Chaichian S, Tahermanesh K, Mehdizadeh M, et al. NLRP3 concentration, oxidants, and antioxidants in plasma of endometri osis patients undergoing treatment with dienogest. J Gynecol Obstet Hum Reprod [Internet]. 2024 [cited 2024 Oct 02];53(3):102744. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468784724000230?via%3Dihub doi: 10.1016/j.jogoh.2024.102744.
8. Taylor RN, Berga SL, Zou E, Washington J, Song S, Marzullo BJ, et al. Interleukin-1β induces and accelerates human endometrial stromal cell senescence and impairs decidualization via the c-Jun N-terminal kinase pathway. Cell Death Discov [Internet]. 2024[cited 2024 Oct 02];10:288 Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11180092/pdf/41420_2024_Article_2048.pdf doi: 10.1038/s41420-024-02048-6.
9. Bihun RV, Henyk NI, Kryzhanivs'ka AYE, Dz'ombak VB, Havrylyuk HM, Ostrovs'ka OM. Farmakolohichna korektsiya imunometabolichnykh porushen' u patsiyentok z endometriomoyu na tli khronichnykh zapal'nykh protsesiv reproduktyvnoyi sfery. Reproduktyvne zdorov"ya zhinky. 2022;2:21-8. doi: 10.30841/2708-8731.2.2022.261802. [in Ukrainian].
10. Werdel R, Mabie A, Evans TL, Coté RD, Schlundt A, Doehrman P, et al. Serum Levels of Interleukins in Endometriosis Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. J Minim Invasive Gynecol. 2024;31(5):387-96. doi: 10.1016/j.jmig.2024.02.011.
11. Kolahdouz-Mohammadi R, Shidfar F, Khodaverdi S, Arablou T, Heidari S, Rashidi N, et al. Resveratrol treatment reduces expression of MCP-1, IL-6, IL-8 and RANTES in endometriotic stromal cells. J Cell Mol Med. 2021 Jan;25(2):1116-27. doi: 10.1111/jcmm.16178.
12. Cardoso JV, Machado DE, da Silva MC, de Mello MP, Berardo PT, Medeiros R, et al. Influence of interleukin-8 polymorphism on endometriosis-related pelvic pain. Hum Immunol. 2023;84(10):561-6. doi: 10.1016/j.humimm.2023.07.004.
13. Hruzyeva T·S, redaktor. Biostatystyka. Vinnytsya: Nova knyha; 2020. 384 s. [in Ukrainian].
14. Ryzhov OA, Penkin YUM. Statystychni metody opratsyuvannya rezul'tativ medychno-biolohichnykh doslidzhen'. L'viv: Mahnoliya 2006; 2021. 160 s. [in Ukrainian].
15. Kolassa JE. An Introduction to Nonparametric Statistics. 1st ed. Chapman and Hall/CRC; 2020. 224 p.
16. Devore JL, Berk KN, Carlton MA. Modern Mathematical Statistics with Applications. 3rd ed. Springer; 2021. 981 p.
17. Pokrovenko DA, Medvedyev MV. Alhorytm likuvannya zovnishn'oho henital'noho endometriozu iz zastosuvannyam novykh molekulyarnykh markeriv. Aktual'ni pytannya pediatriyi, akusherstva ta hinekolohiyi. 2021;2:106-13. doi: 10.11603/24116-4944.2021.2.12607. [in Ukrainian].
18. Chernikova D. Pereosmyslennya henezu endometriozu ta tazovoho bolyu: yak vplynuty na patofiziolohichni mekhanizmy zapalennya? Medychni aspekty zdorov"ya zhinky. 2024;2(154):70-3. [in Ukrainian].
19. Hrek LP. Rol' prozapal'nykh mekhanizmiv u vynyknenni systemnykh porushen' u patsiyentok z khronichnym tazovym bolem. Zdorov"ya zhinky. 2019;1(137):105-9. [in Ukrainian].

CORRELATIONS OF NLRP3 INFLAMMASOME MRNA GENES EXPRESSION LEVELS WITH THE STAGE OF ENDOMETRIOSIS IN WHOLE BLOOD OF WOMEN WITH ENDOMETRIOSIS ASSOCIATED WITH INFERTILITY

Abstract. As you know, endometriosis is a chronic process that is accompanied by chronic pelvic pain. Currently, there is an ongoing discussion about non-invasive diagnostic markers. But there is still no single specific marker. The pathogenesis of chronic inflammation involves a progressive course, which is accompanied by long-term maintenance of the inflammasome in an active state due to excessive accumulation of intracellular and then extracellular DAMPs, their inefficient utilization by autophagy and stress-reducing cellular systems, local production of pro-inflammatory cytokines IL-1β, IL-18, and as well as the accumulation of M2 macrophages and helper T-lymphocytes of the 2nd type, tissue damage and the development of fibrosis. Regulation of IL-1 activity is carried out at two levels and requires the action of two stimulating signals – the first causes the expression of the inactive form of interleukins, proIL1α and proIL-1β, in which the active

interleukin is connected to an additional peptide chain, which completely blocks the activity of proIL-1β and significantly to an extent – proIL-1α. The second level of regulation is carried out at the stage of activation of prointerleukins by proteolytic cleavage of the propeptide by the intracellular protease caspase-1, which is synthesized in the form of an inactive proenzyme
The aim of the study. To study the gene expression levels of NLRP3 inflammasome and to determine the correlations between the exression levels of Nlrp3 inflammasome mRNA genes and the stages of endometriosis associated with infertility.
Material and methods. To analyze the expression of NLRP3-inflammasome genes and to determine the relative normalized expression of NLRP3 mRNA, we used the polymerase chain reaction with real-time reverse transcription (RT-PCR) method in 50 women: 40 women with endometriosis and 10 women with tubal infertility. The object for molecular genetic studies by the RT-PCR method was the fraction of mononuclear cells isolated from the whole blood of patients with endometriosis.
Statistical processing of the results of this section was carried out using non-parametric methods, namely the Wilcoxon-Mann-Whitney test, in which the indicators were considered reliable at $p<0.05$.
Results. On the basis of the conducted study, it was established that the level of NLRP3-inflammasome mRNA expression in the blood of women with endometriosis associated with infertility is significantly increased compared to the indicators of the control group (44.43±3.72 u.u. and 0.85±0.03 u.o.) ($p<0.001$). Such results of relative normalized expression of the NLRP3 gene turned out to be quite unexpected. It is obvious that such a high activation of the receptor is associated with the presence of potential ligands capable of activating it. Among the known objects with such ability and presence in the reproductive tract (endometrium) of women, a number of obligate and conditionally pathogenic microorganisms can be distinguished, which contain antigenic configurations (lipoproteins, peptidoglycan, glycolipids, zymosan of mushrooms) capable of activating NLRP3. However, opportunistic pathogens are not subject to mandatory drug elimination. However, it is not excluded that this very fact supports the growth of endometrioid ectopies with the help of mechanisms that are not fully understood.
Conclusions: The level of NLRP3-inflammasome mRNA expression in the blood of women with endometriosis associated with infertility is significantly increased compared to the indicators of the control group (44.43±3.72 u.u. and 0.85±0.03 u.u.) ($p<0.001$). Thus, increased expression of mRNA genes NLRP3 inflammasome, IL1β, HMGB1 in endometriosis can be considered as a protective reaction.
Key words: endometriosis, infertility, Nlrp3-inflammasome.

Відомості про авторів:
Бакун Оксана Валеріанівна – доктор медичних наук, доцент кафедри акушерства та гінекології закладу вищої освіти Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-4742-2265;
Купчанко Софія Володимирівна – студентка Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, ORCID ID: https://orcid.org/0009-0009-1096-6398.

Information about the authors:
Bakun Oksana V. – PhD, MD, Associate Professor of Department of Obstetrics and Gynecology of the institution of higher education of Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-4742-2265.
Kupchanko Sofiia V. – Student of the institution of higher education of Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, ORCID ID: https://orcid.org/0009-0009-1096-6398.

Надійшла 16.10.2025 р.