

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Соляников Дмитрий Александрович

**СТРУКТУРНОЕ И МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МИОМЕТРИЯ
ПРИ СОЧЕТАНИИ МИОМЫ МАТКИ И АДЕНОМИОЗА**

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Айдагулова Светлана Владимировна

Новосибирск – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 ДОСТИЖЕНИЯ В ИЗУЧЕНИИ СТРУКТУРНЫХ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ МИОМЫ МАТКИ И АДЕНОМИОЗА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ). ...	13
1.1 Классификации миомы матки и факторы риска ее развития.	14
1.2 Сочетание миомы матки с гетеротопическим ростом эндометрия.	20
1.3 Сигнальные молекулы в патогенезе миомы матки.	24
1.4 Перспективные направления в изучении патоморфогенеза миомы матки .	29
1.5 Изучение миометрия при наличии миомы матки и аденомиоза	34
1.6 Резюме	43
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	45
2.1 Дизайн исследования и деление пациенток на группы.	45
2.2 Методы исследования пациенток.	48
2.3 Методы гистологического, иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования образцов операционного материала.	51
2.4 Методы исследования цитокин-продуцирующего статуса клеточных элементов миоматозных узлов и миометрия.	54
2.5 Методы статистического анализа результатов исследования	55
ГЛАВА 3 СТРУКТУРНОЕ И МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МИОМЕТРИЯ, МИОМАТОЗНЫХ УЗЛОВ И ОЧАГОВ АДЕНОМИОЗА.	56
3.1 Изучение эндогликозидазной активности в очагах аденомиоза при сочетании с миомой матки разной скорости прогрессирования.	56
3.2 Сравнительное гистологическое, иммуногистохимическое и ультраструктурное исследование миометрия и доминантных миоматозных узлов.	66
3.3 Особенности фиброза и ангиогенеза при сочетании миомы матки и	

гетеротопий эндометрия.	73
3.4 Продукция <i>in vitro</i> фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в миометрии и миоматозном узле при использовании селективного модулятора прогестероновых рецепторов.	79
3.5 Продукция цитокинов <i>in vitro</i> в доминантных миоматозных узлах и миометрии у пациенток репродуктивного возраста с миомой матки.	84
3.6 Сравнительное исследование содержания цитокинов при инкубации ткани миометрия и миомы в условиях применения селективного модулятора пргестероновых рецепторов.	93
3.7 Роль фактора роста эндотелия сосудов в прогрессировании фиброза миоматозного узла.	108
ГЛАВА 4 СТРУКТУРНОЕ И МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МИОМЕТРИЯ ПРИ СОЧЕТАНИИ МИОМЫ МАТКИ И АДЕНОМИОЗА (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ).	118
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	127
ВЫВОДЫ.	130
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	132
ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	133
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	134
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	136
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	159

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Патоморфологию миомы матки (ММ) как широко распространенного гинекологического заболевания изучают с применением классических и инновационных методов, однако этиопатогенез этой доброкачественной стероид-зависимой опухоли женской репродуктивной системы является многофакторным и, по-прежнему, не совсем ясным [25; 32; 84; 111; 155; 173].

В основе миоматозного процесса лежит аномальная моноклональная пролиферация гладких миоцитов миометрия с высокой экспрессией прогестероновых рецепторов (PgR), сопровождающаяся дисбалансами факторов роста и цитокинов в крови и тканях [22; 166] и повышенной продукцией компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ) опухолевыми миоцитами (или трансформированными миофибробластами) [188], что у 35–50 % женщин находит выражение в манифестации с аномальными маточными кровотечениями (АМК), анемией, тазовой болью и бесплодием [202; 207]. Клинические аспекты исследований ММ касаются скорости нарастания объема и количества узлов, а также их рецидивирования после миомэктомии [30; 50].

Пролиферация опухолевых миоцитов характеризуется разной скоростью, и увеличение размеров узла может быть связано с опережающим отложением компонентов ВКМ – коллагеновых белков и протеогликанов [94]; при этом темпы увеличения размеров узлов непредсказуемы, структурные и молекулярные прогностические маркеры не выявлены [120]. Узлы при множественной ММ часто имеют различные темпы роста, несмотря на единую гормональную среду, поэтому в патоморфогенезе ММ наряду с уровнем женских половых гормонов играют роли и многие другие факторы [105], в т. ч. полиморфизм генов рецепторов эстрогенов и прогестерона [5; 159].

Частота выявления сочетанных форм гиперпролиферативных заболеваний, в т. ч. ММ и аденомиоза, увеличивается [2; 6; 185]. Изменение свойств ВКМ, т. е. механическое микроокружение, влияет на пролиферацию клеток ММ и их

биосинтетическую активность, и в совокупности с другими факторами определяет реакцию опухолевых клеток на широкий спектр сигнальных молекул, в т. ч. на гормональную терапию [201; 124].

Степень разработанности темы исследования

Понимание этиопатогенеза ММ необходимо для разработки новых эффективных методов лечения пациенток, т. к. патология «молодеет», при этом в странах с высоким уровнем жизни доминирует тенденция максимально отсрочить беременность [9; 173]. Инициация опухолей, в т. ч. доброкачественных, связана с воспалением и участием цитокинов, продуцируемых стромальными и иммунными клетками [61; 107; 206;], которые вовлечены в сложные взаимодействия с опухолью. Цитокины и стероидные гормоны влияют на пролиферацию, фиброз и ангиогенез, которые, в свою очередь, обуславливают образование, рост и рецидивирование ММ [8; 196]. Особую проблему представляет сочетание ММ и аденомиоза, структурные элементы которых имеют общие гиперпролиферативные свойства и одновременно по-разному реагируют на прогестерон.

В настоящее время не синтезировано эффективного препарата для длительного лечения пациенток с ММ без побочных проявлений, и применяемые в клинике антагонисты гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ), прогестагены и антигестагены имеют ограничения [2]. Определенные надежды были связаны с одним их селективных модуляторов прогестероновых рецепторов (PgR) – улипристала ацетатом (УА), однако его применение для купирования симптомов ММ перед операцией индуцировало ряд осложнений. Тем не менее, не утратили своей актуальности структурный и молекулярный анализ эффектов УА [20; 30; 87; 162] и фундаментальные исследования, использующие воздействие УА как способ повлиять на биосинтез компонентов ВКМ и другие молекулярные основы патогенеза ММ и изучить эти эффекты [34; 80; 123; 159; 172; 188].

Миометрий у пациенток с ММ отличается от миометрия у пациенток без ММ своим транскриптомом, и клетки миометрия экспрессируют ряд общих

маркеров с узлами, что позволяет предположить, что миометрий у пациенток с ММ может представлять собой переходное состояние между миометрием без миом и с миомами. Выдвинута гипотеза о том, что клетки миометрия у пациенток с ММ экспрессируют маркеры миоматозной трансформации, которые могут быть полезны в качестве диагностических, прогностических и даже терапевтических мишеней [175]. При сочетанной патологии по-прежнему не ясно, как ткани миоматозных узлов и гетеротопических очагов аденомиоза взаимодействуют с микроокружением и эндометрия, и миометрия [182; 184; 185].

Цель работы

Изучить структурные и молекулярные особенности внеклеточного матрикса миометрия при сочетании миомы матки и аденомиоза у пациенток репродуктивного возраста.

Задачи исследования:

1. При сочетании миомы матки и аденомиоза в зависимости от объема тела матки изучить содержание гепараназы и гепарансульфатов в эу- и гетеротопическом эндометрии на парафиновых срезах с помощью непрямого двухшагового иммуногистохимического (ИГХ) метода.
2. В перифокальном миометрии и доминантном миоматозном узле изучить корреляцию воспалительно-клеточной инфильтрации с экспрессией прогестероновых рецепторов без гормонотерапии и в условиях применения селективного модулятора прогестероновых рецепторов.
3. В миометрии и миоматозных узлах изучить методом иммуноферментного анализа (ИФА) показатели базовой и стимулированной поликлональными активаторами продукции гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) при применении селективного модулятора прогестероновых рецепторов.
4. Определить наличие взаимосвязей между экспрессией (по иммуногистохимии) фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и степенью

фиброза доминантного узла, а также между экспрессией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в узле и перифокальном миометрии.

Научная новизна

Впервые установлено участие гликозилированных молекул в патогенезе аденомиоза у женщин с миомой матки и показано увеличение эндогликозидазной активности во внеклеточном матриксе миометрия при прогрессирующем характере роста миоматозных узлов.

У пациенток с миомой и аденомиозом было больше миоматозных узлов ($p = 0,0192$) относительно наблюдений с миомой матки, при этом наибольший диаметр узла и степень его фиброза были у женщин без аденомиоза ($p = 0,0344$ и $p = 0,0397$ соответственно). Экспрессия VEGF в перифокальном миометрии слабо положительно коррелировала с индексом массы тела пациенток с миомой.

Плотность воспалительно-клеточной инфильтрации в доминантном узле у пациенток, использовавших перед операцией селективный модулятор прогестероновых рецепторов (PgR), снижена; при этом экспрессия PgR в миометрии прямо коррелировала с воспалительной инфильтрацией доминантных миоматозных узлов.

Показатели базовой продукции ГМ-КСФ и VEGF в миометрии и миоматозных узлах сопоставимы, в отличие от стимулированной поликлональными активаторами (ПА) продукции данных сигнальных молекул при инкубации *in vitro*. Без гормонотерапии содержание ГМ-КСФ в супернатантах в условиях стимуляции было в 2 раза меньше в миоматозных узлах, чем в миометрии, а экспрессия VEGF – почти в 2 раза выше.

Продукция ГМ-КСФ в миоматозных узлах после *in vitro* стимуляции статистически значимо меньше после применения селективного модулятора PgR по сравнению с группой без гормонотерапии; экспрессия VEGF в миоматозном узле при ИГХ исследовании была выше в группе без гормонотерапии по сравнению с группой, принимавшей УА. В образцах миометрия индекс влияния

поликлональных активаторов (ИБПА) 17-ОН-Pg в условиях стимуляции *in vitro* был ниже в группе с УА.

Таким образом, селективный модулятор прогестероновых рецепторов способствовал снижению экспрессии VEGF и продукции *in vitro* ГМ-КСФ в доминантном миоматозном узле при отсутствии влияния на перифокальный миометрий, что демонстрирует проангиогенный и провоспалительный потенциал миометрия у пациенток репродуктивного возраста с миомой матки.

Теоретическая и практическая значимость работы

В очагах аденомиоза при его сочетании с миомой матки продемонстрировано наличие гепарансульфата и корреляция активности гепараназы с быстрым прогрессированием сочетанного патологического процесса.

Выявлена обратная зависимость между экспрессией VEGF в доминантном узле и степенью его фиброза, что отражает вовлечение данного фактора роста в пролиферацию опухолевых миоцитов в противовес биосинтетической активности с продукцией компонентов внеклеточного матрикса.

При исследовании корреляций между показателями воспаления, ангиогенеза и фиброза в операционном материале пациенток с миомой матки выявлено, что применение селективного модулятора PgR способствовало снижению экспрессии VEGF и продукции *in vitro* ГМ-КСФ в доминантном миоматозном узле при отсутствии влияния на перифокальный миометрий, что может быть фактором прогрессирования миоматозного процесса и рецидивирования после миомэктомии.

Методология и методы исследования

В ходе клинико-патоморфологического научного исследования проведен комплексный анализ операционного материала пациенток с миомой матки и в сочетании ее с аденомиозом. Операционный материал изучен с помощью световой микроскопии, непрямого двухшагового иммуногистохимического

метода, инкубации *in vitro* и иммуноферментного исследования. Объект исследования – женщины репродуктивного возраста, оперированные по поводу множественной миомы тела матки. Предмет исследования – резецированные образцы самых крупных миоматозных узлов и перифокального миометрия; ИГХ анализ гепарансульфата и гепараназы в очагах аденомиоза; ИГХ- и ИФА-экспрессия ГМ-КСФ, PgR и VEGF в миометрии и узлах.

Положения, выносимые на защиту:

1. При сочетании миомы матки и аденомиоза быстрое увеличение диаметра узлов и объема матки сопровождается более высокой активностью эндогликозидазной активности гепараназы и снижением содержания гепарансульфатов внеклеточного матрикса в гетеротопическом эндометрии.
2. Наличие гетеротопий эндометрия при миоме матки в репродуктивном возрасте влияет на показатели ангиогенеза, воспаления и фиброза в доминантном миоматозном узле и миометрии.
3. Клетки доминантных миоматозных узлов снижают продукцию факторов роста эндотелия сосудов (VEGF) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) в условиях применения селективного модулятора прогестероновых рецепторов, но клетки перифокального миометрия торпидны.
4. В самых крупных миоматозных узлах без гормонотерапии имеется обратная зависимость между экспрессией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и степенью фиброза; а также между экспрессией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в узле и перифокальном миометрии.

Степень достоверности и обоснованности результатов

Методические приемы и способы статистической обработки результатов отвечают цели и задачам работы и направлены на получение объективных данных. Исследование выполнено на операционном материале большого количества клинических наблюдений (226 женщин репродуктивного возраста с

миомой матки), парафиновых срезах образцов миоматозных узлов, перифокального миометрия, очагов аденомиоза и молекулярно-биологическом материале (супернатанты питательных сред после инкубации нативных образцов миомы и миометрия с поликлональными активаторами). На основе адекватной статистической обработки полученного материала сформулированы научные положения, выводы и практические рекомендации.

Апробация результатов диссертации

Положения диссертации доложены на Международной конференции акушеров, перинатологов и гинекологов (Варшава, Польша, 2015); 21-м Всемирном конгрессе «Достижения в онкологии» и 19-м Международном симпозиуме по молекулярной медицине (Афины, Греция, 2016); 23-м Всемирном конгрессе «Достижения в онкологии» и 22-м Международном симпозиуме по молекулярной медицине (Афины, Греция, 2018); 3-м Национальном конгрессе «Онкология репродуктивных органов: От профилактики и раннего выявления к эффективному лечению» (Москва, 2018); 6-й Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых учёных «Морфологические науки – фундаментальная основа медицины», посвященной 125-летию со дня рождения профессора Федора Алексеевича Новоселова (Новосибирск, 2021); 1-й Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Савельевские чтения» (Москва, 2024); 14-й Российской (итоговой) научно-практической конкурс-конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2023», посвященной 100-летию со дня рождения профессора В. Е. Яворовской (Новосибирск, 2023); 17-й Российской (итоговой) научно-практической конкурс-конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2026», посвященной 130-летию со дня рождения доцента М. Д. Пономарева (Новосибирск, 2026).

Диссертационная работа апробирована на совместном заседании проблемных комиссий «Морфологические основы компенсаторно-

приспособительных реакций» ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2026).

Диссертация выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, тема НИР № 121061700026-4 «Молекулярно-биологические маркеры прогрессирования пролиферативных атрофических и процессов в органах женской репродуктивной сферы, подходы к диагностике, лечению и реабилитации» и Госзаданием Министерства здравоохранения Российской Федерации на осуществление научных исследований и разработок на 2021–2023 гг. № 121021700349-8 «Функциональная роль гепарансульфат протеогликанов микроокружения лейомиомы тела матки у пациенток репродуктивного и менопаузального возраста».

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты работы внедрены в учебный процесс на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 7 статей в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 5 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования (Scopus и Web of Science).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа представлена в виде специально подготовленной рукописи и оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011.

Диссертация изложена на 165 страницах машинописного текста; состоит из введения, обзора литературы, главы с изложением материала и методов исследования, главы с результатами собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 210 источниками, из которых 174 в зарубежных изданиях. Диссертация содержит 5 таблиц и 44 рисунка.

Личное участие автора

Планирование и дизайн работы, иммуногистохимическое исследование, интерпретация полученных данных и подготовка публикаций по теме диссертации выполнены совместно с научным руководителем. Обзор литературы, анализ историй болезни, инкубация образцов операционного материала *in vitro*, анализ изображения иммуногистохимического окрашивания и статистическая обработка проведены автором самостоятельно.

ГЛАВА 1 ДОСТИЖЕНИЯ В ИЗУЧЕНИИ СТРУКТУРНЫХ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ МИОМЫ МАТКИ И АДЕНОМИОЗА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Миома матки (ММ) описана в конце XVIII века М. Бейли – врачом больницы Св. Георгия в Лондоне [136]. С тех пор ММ подробно изучена, опубликовано огромное количество научных статей, однако этиология и патоморфогенез ММ имеют пробелы, не позволяющие создать этиотропные препараты без побочных эффектов, а миомэктомия не защищает от рецидивирования; поэтому ММ по-прежнему находится в центре внимания ученых и клиницистов [84].

Миома матки – доброкачественная опухоль, развивающаяся в мышечном слое тела и/или шейки матки после наступления менархе и обычно замедляющая рост во время менопаузы, что указывает на решающую роль в патогенезе стероидных гормонов яичников [1; 31; 201]. До 50 % женщин в репродуктивном возрасте имеют миоматозные узлы минимальных или клинически значимых размеров и локализации, что снижает фертильность и негативно влияет на качество жизни [15; 16; 23; 51; 59]. У женщин старше 50 лет, и особенно афроамериканок, показатели распространения ММ достигают 70–80 %, т. е. имеют характер эпидемии [58; 88; 124].

В большинстве случаев ММ протекает бессимптомно, однако если симптомы возникают, их тип и тяжесть зависят от размера и локализации опухоли, а также от дегенеративных изменений узла. Почти 35 % женщин с ММ обращаются за медицинской помощью из-за тазовой боли, кровотечений, анемии, осложнений беременности, а также из-за первичного и вторичного бесплодия [3; 21; 29; 36; 65; 92; 123].

Миома матки все чаще встречается у женщин, обследуемых по поводу бесплодия. Более длительный репродуктивный горизонт из-за улучшения медицинского обслуживания и тенденция откладывать деторождение делают женское бесплодие, связанное с ММ, все более распространенным и актуальным

[12; 81; 197]. Наряду с этим, все чаще диагностируют миоматозные узлы при скрининге у беременных женщин, что ставит вопрос о способе родоразрешения [57]. Таким образом, ММ и ее сочетание с другими гинекологическими заболеваниями, в т. ч. аденомиозом, являются нерешенной проблемой патоморфологии [185] и медицинской науки и практики, а все научные исследования проводятся в аспекте поиска новых подходов к лечению или анализа уже применяемых.

1.1 Классификации миомы матки и факторы риска ее развития

При светооптическом исследовании операционного материала ММ может иметь гетерогенную структуру: состоять из многочисленных трансформированных миоцитов с минимальным количеством внеклеточного матрикса (ВКМ), поэтому используют термин «лейомиома». По мере накопления коллагена в ВКМ узел описывают как «фибромиома», и затем – «фиброма», подразумевая доминирование компонентов матрикса над клеточными элементами опухоли. Накопление ВКМ обуславливает «жесткость» структуры ММ и способствует симптомам боли или давления в области таза [94]. Поэтому ингибирование дальнейшего накопления ВКМ и связанного с ним фиброза рассматривают как одно из направлений в создании препарата для медикаментозного лечения пациенток с этими опухолями. Узлы больших размеров в результате избытка ВКМ и нарушения кровоснабжения трансформированных миоцитов могут некротизироваться, что было положено в основу метода эмболизации маточных артерий [37; 121]. Доброкачественная природа миом как опухолей обусловлена их неспособностью к метастазированию через кровь и лимфатические пути с относительно низким риском трансформации в злокачественную опухоль – саркому (около 0,2–0,5 % случаев) [200].

Статистически доказанными факторами риска развития ММ являются негроидная раса, менархе в раннем возрасте, низкий паритет и увеличение возраста первых родов [197]. Мутации в генах «комплекса медиаторных

субъединиц 12» (MED12) [125] и «белка группы высокой мобильности A2» (HMGA2) значительно предрасполагают к развитию ММ [18; 123]; при этом молекулярный подкласс ММ влияет на эффективность применения селективных модуляторов прогестероновых рецепторов (СМПР) [130]. Другими факторами риска являются хроническое воздействие стероидных гормонов яичников и эстрогенов окружающей среды, образ жизни, диета и повышенный индекс массы тела (ИМТ), который вместе с ожирением является самым значимым [180], поскольку белая жировая ткань участвует в преобразовании андрогенов в биодоступные эстрогены [73].

Установлены «модифицируемые» факторы риска, на которые может повлиять пациентка, а также «превентивные» факторы [129]. Так, адекватное содержание витамина D в организме женщины и «здоровое питание» могут быть защитными факторами против развития ММ. Гиповитаминоз D коррелирует с увеличением частоты возникновения ММ [134], что согласуется с исследованиями *in vitro*, показавшими, что витамин D подавляет рост клеток миометрия и лейомиомы в культуре, действуя как антагонист рецепторов половых стероидных гормонов, снижая пролиферацию и синтез компонентов ВКМ и индуцируя апоптоз [204]. В целом, из многих изученных факторов риска лишь немногие из них показали сильную прямую корреляционную связь с развитием ММ (Рисунок 1).

В соответствии с клиническими вызовами и научными достижениями, разработаны различные классификации ММ, которые систематизируют характеристики патологического процесса от макроуровня к микроскопии: клинико-анатомическая, гистероскопическая, гистологическая, в т. ч. классификация ВОЗ – по степени дифференцировки и другие, подготовленные патоморфологами, клиницистами-экспертами и научными сообществами, занимающимися проблемой ММ [28].



Рисунок 1 – Факторы риска развития миомы матки: генетические факторы, раса, возраст, поздняя беременность, раннее менархе, ожирение, кофеин и алкоголь, а также паритет (защитный эффект) [197]

В зависимости от клинических проявлений патологии, выделяют бессимптомный вариант и симптомную ММ с маточными кровотечениями и болевым синдромом, бесплодием, дизурическими расстройствами и т. д. [198]. По количеству миоматозных узлов выделяют единичную и множественную ММ. По темпу роста узлов их делят на быстро растущие – с увеличением диаметра узлов и объема матки за последние 6 мес, и медленно растущие, когда указанные параметры практически не меняются в течение 6 мес. При выборе тактики ведения пациенток учитывают такой косвенный, но удобный количественно-качественный параметр, как размеры матки в «неделях беременности»: миома малых (до «12 нед») или больших размеров (более «12 нед») [25]. Согласно рекомендациям Европейского общества репродукции человека, небольшими следует считать миомы до 5 см в диаметре, большими – узлы более 5 см [15], что является показанием к хирургическому лечению.

Актуальна Международная Классификация Болезней 10-го пересмотра (МКБ 10), по которой лейомиома матки (D25) включает в себя по локализации

относительно полости матки и миометрия подслизистую, интрамуральную, субсерозную и неуточненную; в перечне имеются также другие доброкачественные новообразования матки [15; 123].

Разработчики классификации по локализации миоматозных узлов (эксперты FIGO – Международной федерации акушерства и гинекологии) обобщили накопленный опыт, и эта классификация всеми признана и нашла широкое применение в клинике и учитывается при патоморфологическом описании [98; 181].

Важные акценты вносит широко используемая гистероскопическая классификация субмукозных узлов, которая определяет тип узлов в зависимости от локализации относительно миометрия. По степени деформации полости матки выделяют три типа субмукозной лейомиомы и пять градаций для субсерозных узлов, определяемых по степени «погружения» в миометрий. Согласно данной классификации, субмукозные интрамуральные миоматозные узлы встречаются чаще всего [13].

Субмукозные (подслизистые) узлы часто являются причинами кровотечений с развитием анемии. При таком расположении миоматозного узла нарушение репродуктивной функции встречается чаще, чем при других локализациях. В 70 % случаев это причина следующих осложнений беременности и показаний к кесареву сечению: преждевременных родов, предлежания плаценты, задержки внутриутробного развития, послеродовых кровотечений [173]. Субмукозная и/или интрамуральная локализация миоматозного узла имеет значение для проведения органосохраняющих операций, применения репродуктивных технологий и восстановительного лечения [3].

Часто применяемое хирургическое лечение пациенток с ММ позволяет изучать операционный материал в зависимости от количества, анатомического расположения и размера узлов, а также реализации репродуктивных целей пациентки [147; 167]. Миомэктомия широко применяется при лечении симптомной ММ у пациенток, желающих сохранить матку или забеременеть в будущем, но всегда остается риск рецидива, хотя качество жизни временно улучшается [49; 164].

Гистология миоматозного узла со степенью дифференцировки и трансформации тканевых элементов положена в основу классификации ВОЗ [16]: обычная лейомиома – зрелая доброкачественная опухоль, митотически активная клеточная лейомиома, а также более редкие варианты – причудливая (симпластическая) лейомиома, лейомиобластома – эпителиоидная лейомиома, внутрисосудистый лейомиоматоз, лейомиома с явлениями предсаркомы (малигнизирующаяся) и др. Кроме того, ММ классифицируют по степени фиброза и гиалиноза ВКМ [13; 135]. Характерные свойства фиброза миоматозного узла, такие как наличие коллагеновых белков и устойчивость миоцитов к апоптозу, обусловлены прочно «сшитыми» декорином измененными коллагеновыми фибриллами, которые еще больше упрочняют ВКМ, замыкая порочный круг [195]. Декорин – представитель хондроитинсульфат протеогликанов, который не только «декорирует» коллагеновые волокна, стабилизируя их, но также задействован в организации сосудистой стенки и многих функциях микроокружения опухолей [113; 138].

Особый интерес вызывает псевдокапсула миоматозного узла как переходная зона между миоматозным узлом и перифокальным миометрием. Псевдокапсула представляет собой специализированный миометрий, окружающий и питающий миому. Это образование имеет нейроваскулярную структуру и особую фиброзную ткань и рассматривается как критически важный элемент патоморфогенеза ММ [176].

Скорость роста узлов и факторы, способствующие быстрому увеличению опухолевой массы, вызывают большой интерес, и мнения по этому вопросу не столь многочисленны и противоречивы. Локализация и размер миомы, ИМТ пациентки и паритет не имели никакого влияния на изменение размеров узла [105]. В работе [174] сообщается о наблюдении в течение 7 лет 152 женщин с ММ, при этом были проведены: 1) УЗИ в динамике; 2) анализ зависимости роста узлов от возраста пациенток, локализации или исходного размера (изучали возможные сопутствующие факторы / критерии-предикторы увеличения размеров); 3) влияние комбинированных оральных контрацептивов (КОК). По

данным УЗИ, у нелеченых женщин не было выявлено значительной разницы в росте узлов разных локализаций. Только «малые» миомы (диаметром от 2 до 5 см) показали сравнительно больший рост, чем миомы диаметром более 5 см при первом посещении. Через 7 лет большинство узлов увеличились в размерах, но 10 % миом стали меньше без терапии. Выявлена прямая зависимость между исходным и финальным размером узла, однако корреляции между промежуточными измерениями и с локализацией опухоли не выявлены, также не установлена связь с возрастом, симптомами и использованием КОК [174].

По мнению [178], размер узла является независимым предиктором его роста. Краткосрочное исследование скорости роста узлов на основе МРТ продемонстрировало, что более крупные узлы значительно меньше меняют свои размеры, чем более мелкие узлы [163]. Однако по мере совершенствования метода многопараметрическая МРТ с контрастом показала, что ряд параметров (mp-qMRI T2, ADC) и объем узла, полученные во время первичной диагностики ММ, все же позволяют прогнозировать скорость ее роста [131].

Известно, что психосоциальный стресс связан с риском развития ММ и ее тяжестью и может включать изменения в микроРНК. У женщин в перименопаузе, перенесших миомэктомию, изучили уровни экспрессии 401 микроРНК в миометрии (n = 20) и ММ (n = 44; 20 – с парными образцами узлов и миометрии). Анализ сигнальных путей показал, что мишени микроРНК были задействованы в каскадах, имеющих отношение к развитию опухолевого процесса, в т. ч. злокачественного [144]. Из 74 микроРНК, по-разному экспрессируемых в миометрии и узлах, две из них – miR-27a-5p и miR-301b – были связаны с воздействием стресса. В миометрии 21 микроРНК была значительно связана с комплексным показателем недавних стрессовых событий; но ни одна микроРНК из образцов ММ не была связана ни с одним из показателей стресса. Этот пилотный анализ предполагает, что психосоциальный стресс связан с экспрессией микроРНК в миометрии и, следовательно, может играть роль в патогенезе ММ при «здоровом» миометрии [144]. МикроРНК-29с давно выявлена в миоматозных узлах [62].

В целом, формирование и рост миоматозных узлов невозможно прогнозировать, но для узлов малого и среднего размера предполагаются более высокие темпы роста [174]. При этом единого мнения о надежном патоморфологическом маркере быстрого прогрессирования ММ и рецидивирования после миомэктомии не выработано [177].

1.2 Сочетание миомы матки с гетеротопическим ростом эндометрия

Современные морфологические методы изучения клинических образцов эндометрия и миометрия у пациенток с ММ способствуют пониманию этиологии и патогенеза не только ММ, но и сопутствующих гинекологических заболеваний, в особенности обусловленных гетеротопическим ростом эндометрия – эндометриоза со всеми его клиническими вариантами [7; 96]. Наличие этих заболеваний может иметь решающее значение для индивидуального подхода к лечению пациенток с ММ, поскольку полиморбидность обычно повышает риск неблагоприятных исходов беременности и осложняет хирургическое лечение [7; 32; 82].

Гистопатологическое исследование биопсийного и операционного материала является основным методом диагностики эндометриоидных гетеротопий и характера пролиферации их клеточных компонентов. Рутинное гистологическое окрашивание гематоксилином и эозином позволяет выявить железистые структуры гетеротопического эндометрия, характер перигландулярной стромы и степень атипичной железистой трансформации. Иммуногистохимические исследования способствуют выявлению рецепторов к гормонам, цитокинов, факторов роста, наличие воспалительной инфильтрации и неоваскуляризацию, т.е. потенциал прогрессирования очагов аденомиоза [63].

Данных о несомненной патогенетической связи между ММ и эндометриозом / аденомиозом немного [72]. Эндометриоз и аденомиоз (т.е. внутренний эндометриоз), с клинической точки зрения, – это два заболевания, которые имеют аналогичные симптомы с ММ, такие как АМК и боль, что может

затруднять диагностику и лечение [187], также они оба способствуют нарушениям репродуктивной функции [152]. Несмотря на то, что эндометриоз и ММ являются эстроген-зависимыми заболеваниями, прогестерон на них влияет по-разному: эндометриоз характеризуется устойчивостью к прогестерону, а миоматозные узлы под воздействием прогестерона чаще увеличиваются в объеме, в т. ч. при беременности [140].

Согласно сравнительно новым исследованиям [171], наружный генитальный эндометриоз и аденомиоз нередко синхронны, и их сходные с ММ симптомы подразумевают и сходство патогенеза; с другой стороны, молекулярные механизмы развития ММ совершенно отличаются. Установлена достаточно частая полиморбидность – сочетание эндометриоза, аденомиоза и ММ: у пациенток с ММ риск развития эндометриоза в 6 раз выше, чем у женщин без ММ [199], а наличие эндометриоза удваивает риск развития ММ [122]. Согласно данным метаанализа генетических маркеров, эти связи могут быть обусловлены возможными общими генетическими предпосылками развития ММ и эндометриоза, несмотря на различные молекулярные пути регуляции [103]. При этом в работе [190], посвященной сопутствующим гинекологическим заболеваниям у направленных на ЭКО пациенток с эндометриозом, по данным УЗИ, лишь у 3 % были обнаружены интрамуральные и субсерозные узлы ММ.

Аденомиоз характеризуется и способствует нарушению границ эндометрия и миометрия, что усугубляется в каждую фазу десквамации овариально-маточного цикла [53]. Аденомиоз, документируемый при гистологическом изучении образцов матки после гистерэктомии с выделением 3 степеней заболевания и 4 стадий, эпидемиологически отличается по распространенности при диагностике с помощью УЗИ или МРТ, т. к. надежные клинические признаки отсутствуют [35; 42]. Аденомиоз влияет на функции миометрия, особенно на перистальтику матки, определяя неблагоприятные репродуктивные исходы. По определению [182], базальный слой эндометрия с донцами желез, окруженными стромой, и прилежащий к нему миометрий с ориентированными по кругу гладкими миоцитами образуют особую анатомо-

функциональную единицу, нарушения которой могут лежать в основе нескольких репродуктивных проблем.

Прилежащий к эндометрию миометрий развивается из парамезонефральных протоков, в отличие от основной части миометрия, который возникает из мезенхимы и спланхнотома. Макроскопически этот миометрий в норме отличается при УЗИ (выглядит как своеобразный тонкий гипоэхогенный «ареол») и МРТ (пограничная полоска очень низкой интенсивности между эндометрием и внешним миометрием в пределах от 2 до 8 мм). При этом нерегулярное утолщение пограничной зоны как МРТ-критерий диагностики диффузного аденомиоза не является надежным доказательством «внедрения» слизистой оболочки в миометрий, делая УЗИ- и МРТ-диагностику аденомиоза сомнительной [182]. Рекомендуют обращать особое внимание на «ареол» миометрия под эндометрием при визуализации с помощью УЗИ или на «пограничную зону» при МРТ [186].

Хотя аденомиоз часто сочетается с эндометриозом, до недавнего времени не было молекулярной базы, подтверждающей общее клеточное происхождение патологических очагов [122].

Очаги аденомиоза берут свое начало из расположенных в базальном слое эндометрия клеток железистого эпителия, несущих генную мутацию KRAS (это протоонкоген, представитель семейства белков Ras). Белок KRAS представляет собой фермент гидролазу, которая гидролизует гуанозинтрифосфат и действует как «молекулярный переключатель», активирующий белки, необходимые для распространения факторов роста и других сигнальных путей, активных при разных опухолях, в т. ч. раке легких и толстой кишки [132]. Мутации KRAS способствуют длительному выживанию клеток и резистентности к прогестерону при аденомиозе [41].

Генетический анализ эпителиальных клеток из участков аденомиоза и образцов соседних желез базального слоя эндометрия продемонстрировал наличие мутации KRAS в обоих типах клеток, что окончательно доказывает происхождение фокусов аденомиоза из базального слоя эндометрия [193].

Поскольку эпителиальные клетки эндометрия, приуроченные к очагам аденомиоза и генитального эндометриоза, имеют идентичные мутации KRAS, то это доказывает, что и аденомиоз, и эндометриоз являются клетками одного клона, возникающего из клеток эндометрия со специфической мутацией гена KRAS [41]. Интересным является то, что у нескольких пациенток [193] были обнаружены идентичные мутации KRAS в одновременно выявленных очагах аденомиоза и эндометриоза. Эти результаты согласуются с часто встречающимися подтипами эндометриоза, такими как эндометриомы яичников ($P = 0,001$) и глубокий инфильтративный эндометриоз ($P < 0,05$), в когорте пациенток с аденомиозом с мутацией KRAS [41].

Мутации KRAS чаще встречаются в случаях аденомиоза с сопутствующим эндометриозом, низкой экспрессией рецепторов прогестерона (PgR) или предварительным приемом прогестина (диеногеста). Антипролиферативный эффект диеногеста снижается посредством эпигенетического подавления PgR в культуре клеток с мутантным геном KRAS. Очаги аденомиоза часто содержат мутации KRAS, которые могут снижать эффективность диеногеста. Эти результаты лежат в основе ожиданий по перспективной разработке генной терапии и/или оценке риска рецидива после миомэктомии [41].

В целом, провоспалительные/сосудистые/гормональные изменения запускают прогрессирование пролиферации и атипии клеток гетеротопического эндометрия (т. е. очагов эндометриоза/аденомиоза), усугубляя симптомы, особенно боль и кровотечение [63].

До 30 % женщин в течение жизни предъявляют жалобы на АМК, которое связано с различными причинами [81; 191]. Экспертами рекомендовано вместо терминов «меноррагия, олигоменорея и маточное кровотечение» применять систему классификации АМК в репродуктивном возрасте – PALM-COEIN. Эта аббревиатура из латинских букв раскрывает этиологию и клинику маточных кровотечений: из-за полипов (P), аденомиоза (A), наличия миоматозных узлов (L) и других процессов, в т. ч. «еще не классифицированных» (N), что важно для

диагностики и патогенетически обоснованного ведения пациенток с ММ и аденомиозом [71].

1.3 Сигнальные молекулы в патогенезе миомы матки

Хорошо известно, что половые стероидные гормоны и их сигнальные пути обеспечивают нормальный овариально-маточный цикл, а также реализацию репродуктивной функции. В результате дисбаланса эстрогенов и прогестерона и их рецепторов могут развиваться доминирование эстрогенов и торпидность к прогестерону, особенно в ранне-секреторной фазе цикла. Повторяющиеся динамические изменения эндометрия в овариально-маточном цикле могут вызывать хронические и рецидивирующие нарушения [117]. Половые гормоны непосредственно влияют на опухолевые клетки миом, на экспрессию генов факторов роста и апоптоза, а также влияют на микроокружение, способствуя васкуляризации узла [151; 196].

Использование метода ИГХ выявляет в ММ маркеры гладкомышечной ткани: гладкомышечные актин и миозин, десмин, HDCA8 (гистоновая деацетилаза-8) и h-кальдесмон (регуляторный белок, участвующий в контроле сокращения и расслабления гладких миоцитов). Миома матки также позитивна по окситоцину. Рецепторы эстрогенов и прогестерона экспрессируются в ММ почти в 100 % случаев, тогда как рецепторы андрогенов – приблизительно в 30 % случаев. MIB-1 (ген, регулирующий апоптоз) обычно слабо экспрессируется, за исключением митотически активного варианта лейомиомы, тогда как окрашивание на p53 минимально или отсутствует [107].

С целью изучения этиологии ММ исследовали популяцию малодифференцированных клеток-предшественников (прогениторных клеток) и их участие в поддержании хронического провоспалительного микроокружения, способствующего формированию узлов [61]. Для идентификации «здоровых» прогениторных клеток миометрия и прогениторных клеток лейомиомы клетки из 12 парных образцов пациенток были изолированы *in vitro* с изучением цитокинов

и генов, связанных с воспалением. Результаты показали, что клетки-предшественники ММ имеют значительно более короткое время удвоения популяции и значительно более высокую экспрессию генов «стволовости», продуцируют повышенные уровни цитокинов, способствующих хронизации воспаления по сравнению с сигнальными молекулами острого воспаления [61].

Миоматозные узлы как доброкачественные опухоли возникают в результате очаговой моноклональной пролиферации гладкомышечных клеток миометрия, однако для развития опухоли требуется комплекс дополнительных нарушений регуляторных механизмов с участием ряда молекул, среди которых стероиды, факторы роста (в т. ч. трансформирующий фактор роста бета – TGF β), гликопротеины, протеогликаны, ретиноиды, витамин D и другие [52; 234]. При этом несколько факторов могут действовать одновременно, что подчеркивает мультифакторную природу ММ [154; 165]. Поиск ключевых генов, ключевых сигнальных путей и инфильтрации иммунных клеток в ММ с помощью биоинформатического анализа показал участие сотен генов, и порядка 30 из них обеспечивают синтез компонентов ВКМ и цитокинов [116].

Изменения в ВКМ и механические сигналы играют ведущую роль в росте и дифференцировке клеток ММ. Показано, что рост узла связан с изменением объема и структуры ВКМ с повышенным отложением аномального коллагена, гликопротеинов и высоким осмотическим «стрессом» [149]. Накопление коллагена приводит к снижению плотности микрососудов с последующей «замуровыванием» миоцитов и атрофией, дальнейшему физиологическому старению и инволюции через ишемическую клеточную дегенерацию и «инаноз» (истощение) – новый вариант клеточной гибели [179].

Наиболее значимыми сигнальными молекулами в патогенезе ММ являются эстрогены, прогестерон, цитокины и факторы роста. Миома матки традиционно рассматривается как эстроген-зависимая доброкачественная опухоль, так как она возникает в репродуктивном периоде и обычно редуцируется в менопаузе, что подчеркивает важную роль эстрогенов в индукции ММ. Так, продолжительная терапия блокатором гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), сопровождаемая

снижением продукции эстрогенов в яичниках, приводит к уменьшению размеров узлов [115]. Эстрогены стимулируют развитие ММ путем увеличения экспрессии TGF β , генов рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1) и тромбоцитарного фактора роста (PDGF) при одновременном снижении экспрессии проапоптотического белка p53 [90]. Таким образом, эстрогены модулируют транскрипцию ряда генов и экспрессию генов рецепторов прогестерона [86; 93; 159].

Прогестерон имеет непосредственное отношение к патогенезу ММ. Это жизненно важный гормон, участвующий в различных физиологических процессах, включая секреторную трансформацию эндометрия. Митотическая активность клеток в ММ значительно выше в секреторную фазу овариально-маточного цикла по сравнению с пролиферативной [117; 128].

При сравнении роли эстрогенов и прогестерона в патогенезе ММ, последний является основным, но для экспрессии PgR необходимы эстрогены и их сигнальные пути [141]. Роль прогестерона для роста ММ была подтверждена с помощью экспериментальной модели, когда под капсулу почки иммунодефицитным мышам имплантировали клетки ММ человека [142]. Воздействие на мышей только эстрогенами не сопровождалось ростом опухоли, эффект имело только совместное применение эстрогенов и прогестерона. В конечном итоге, индуцированная эстрадиолом экспрессия PgR в клетках узлов дает потенциальное объяснение взаимодействию между эстрогенами и прогестероном.

Высокая экспрессия PgR в эндометрии и ткани ММ приводит к нарушению рецептивности эндометрия, но также и к росту узлов [24]. Гормон взаимодействует со своими мембранными рецепторами, приводя к активации сигнальных путей, которые усиливают рост и выживаемость опухоли [143].

Поскольку доброкачественные гинекологические заболевания характеризуются изменениями баланса маркеров воспаления, которые свойственны злокачественным заболеваниям женской репродуктивной системы, то изменения маркеров иммунной системой при ММ, аденомиозе и эндометриозе

могут быть прогностическими показателями для риска заболевания в более позднем возрасте [112].

Важно отметить, что концентрации эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови остаются одинаковыми у пациенток с ММ и здоровых женщин, при этом клетки узлов гиперчувствительны к действию эстрогенов и прогестерона, и в узлах отмечено увеличение локальной концентрации гормонов. Кроме того, в фиброзном миометрии повышена экспрессия фермента ароматазы, рецептора эстрогена- α и PgR [123].

Роль прогестерона в развитии ММ комплексная; гормон взаимодействует с факторами роста, в результате этого активируются механизмы передачи сигналов на молекулярном уровне, модулирующие клеточный рост, пролиферацию и другие процессы патогенеза [70; 166; 201].

Влияние прогестерона на ускоренный рост миомы заключается в повышении экспрессии генов, кодирующих EGFR, TGF β и белок Bcl-2. Фактор некроза опухоли альфа (TNF α) – плеiotропный цитокин, секретируемый главным образом активированными макрофагами, играющий важную роль в контроле воспаления, иммунитете, клеточном росте и дифференцировке, а также апоптозе. Уровень экспрессии белка TNF α выше в узлах по сравнению с клетками и тканями нормального миометрия [196].

Воспаление играет важную роль в росте ММ, в узлах повышены уровни экспрессии провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин (IL)-1, IL-6, IL-10, TNF α и TGF β [107], и они обеспечивают регулируемое половыми стероидами взаимодействие между факторами роста и ВКМ [61; 92].

Факторы роста фибробластов 1-4 (FGFR1-4) являются хорошо известными проонкогенными молекулами во многих типах рака, а также в ММ; причем экспрессия FGFR4 повышена как в узлах, так и в нормальном миометрии [40].

Миометрий обладает растяжимостью, обеспечиваемой поперечными связями между молекулами коллагена. Во время беременности эти поперечные связи возрастают, обеспечивая прочность на разрыв, но они уменьшаются в шейке матки, чтобы подготовить ее к раскрытию. Регуляторы сшивания молекул

коллагена в матке – это прогестерон и эстрогены, простагландины, протеогликаны (особенно хондроитинсульфат декорин), металлопротеиназы, лизилоксидазы и витамин D. Необходимо исследовать экспрессию генов, обеспечивающих поперечные связи в коллагеновых волокнах, и их связь с фиброзом, поскольку, по мнению [195], сшивание коллагена в матке дает возможность разрабатывать терапевтические мишени.

Главным стимулятором неоангиогенеза считают фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), который увеличивает проницаемость сосудов, тем самым потенциально способствуя росту опухоли, и вызывает пролиферацию эндотелиоцитов, косвенно повышая эффекты других факторов роста. Уже давно показана более высокая экспрессия VEGF в фибромиомах по сравнению с нормальным миометрием; даже терапия антагонистами ГнРГ не меняла это соотношение [145]. Уровень VEGF в сыворотке крови не коррелировал с объемом ММ, но значительно снижался после гистерэктомии. Снижение уровня VEGF в сыворотке после гистерэктомии было значительным у рожавших в отличие от нерожавших пациенток с ММ. Несмотря на интерес к этому фактору роста как потенциальному активатору неоангиогенеза при ММ, он не может служить эффективным биомаркером, поскольку не прогнозирует развитие ММ [202].

Изменения в содержании цитокинов в крови пациенток с ММ характеризуются пятикратным увеличением провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6 по сравнению с женщинами без ММ на фоне не столь выраженного, но статистически значимого повышения концентрации IL-4 – цитокина с противовоспалительной активностью. Содержание IL-6 у пациенток с ММ максимально повышено при наличии патологии эндометрия [10; 22].

В эндометрии у женщин с субмукозными и интрамуральными ММ повышены провоспалительные медиаторы по сравнению с эндометрием без ММ, что объясняет ухудшение рецептивности эндометрия и неудачи имплантации в программах ЭКО. Использование СМРП улипристала ацетата (УА) в большинстве случаев значительно уменьшает диаметр миоматозных узлов и редуцирует

симптомы, оказывая влияние на местное воспаление в ММ и перифокальном миометрии [154].

Интересно, что ассоциации цитокинов различались в зависимости от сезона сбора образцов крови у 155 женщин с и без ММ – зимний и другие сезоны. В зимние месяцы интерлейкины-13 и -17 положительно, а хемокин CXCL-10 негативно коррелировали с наличием ММ. В «незимних» образцах VEGF, G-CSF и хемокин CXCL-10 были положительно связаны, а моноцитарный хемотаксический белок-1, IL-13 и IL-17 имели негативную корреляцию с ММ. Ассоциации не менялись при корректировке по возрасту или ИМТ [70].

Идет поиск совершенно новых сигнальных молекул, участвующих в патогенезе ММ, которые могут быть полезны для разработки новых подходов к лечению женщин с ММ [47]. В одной из новых работ проанализировали экспрессию генов «циркадных часов» и их влияние на гены, участвующие в выработке коллагена в миометрии и клетках ММ человека, полученных при гистерэктомии. В итоге было показано участие «часового гена» в регуляции синтеза коллагена [56].

Таким образом, отклонения в активации и содержании ряда факторов роста, их рецепторов и путей передачи сигнальных воздействий играют важную роль для роста и развития ММ, однако исследования и их результаты требуют комплексного подхода и анализа [107; 111; 162; 166; 183].

1.4 Перспективные направления в изучении патоморфогенеза миомы матки

Все методы диагностики и лечения, используемые в клинике, вносят вклад в понимание патоморфогенеза и прогрессирования ММ и сочетанных с нею гинекологических заболеваний. Полученный опыт наблюдения, хирургического и медикаментозного лечения способствует поиску и выбору новых направлений для фундаментальных исследований [201].

По мнению [196], васкуляризацию узлов и матки необходимо детально изучать, чтобы глубже понять патогенез ММ и ее клинические проявления. Микроскопическую анатомию сосудов миомы и миометрия у пациенток с ММ изучают с помощью различных методов, от доплеровского ультразвукового исследования до иммуногистохимии и электронной микроскопии, т.к. как и при всех опухолевых поражениях, увеличение клеточности узла и прогрессирование сопровождаются усилением васкуляризации посредством неоангиогенеза.

Для первичной диагностики ММ применяют УЗИ, а МРТ служит более детальной оценке [196]. Ультразвуковое исследование с доплеровским исследованием является основным методом визуализации, используемым для скрининга, обследования пациенток с подозрением на ММ, а также методом оценки результатов медикаментозного лечения и наблюдения в динамике [4; 127].

В случаях большого узла типа 1 и 2 по FIGO или при наличии анемии предварительное лечение агонистами либо антагонистами ГнРГ может облегчить операцию за счет уменьшения размеров узла, истончения эндометрия и повышения уровня гемоглобина [75].

Эмболизация маточных артерий была заявлена как перспективный метод, однако метаанализ исходов оперативного лечения 196 595 пациенток показал, что миомэктомия приводит к значительному снижению частоты повторных хирургических вмешательств по сравнению с эмболизацией маточных артерий [194].

Сопутствующие гинекологические заболевания имеют значение для персонализированного подхода к лечению, и сочетание ММ и аденомиоза широко распространено [26]. В настоящее время не существует высоко эффективных препаратов при аденомиозе, хотя для лечения симптомов кровотечения при обоих заболеваниях обычно назначают агонисты и антагонисты ГнРГ [78].

Все обзоры по консервативному лечению женщин с ММ делают вывод об актуальности поиска новых методов лечения [169]. Женщинам, стремящимся сохранить фертильность, важны альтернативы хирургическому вмешательству, и арсенал медикаментозных средств был расширен во многом благодаря СМПР,

эффективно редуцирующим симптомы ММ. Несмотря на давно установленную роль прогестерона в патогенезе ММ, с этим гормоном по-прежнему связаны определенные надежды, поскольку клетки ММ чувствительны к стероидным гормонам, также прогестерон способствует улучшению кровоснабжения узла и изменению структуры ВКМ. Установлены биохимические, гистологические и клинические доказательства решающей роли прогестерона и гестагенов в патогенезе ММ, что лежит в основе медикаментозного лечения [20; 30; 192].

Молекулярные исследования аллельных вариантов генов, кодирующих прогестероновые и эстрогеновые рецепторы, выявили следующие ассоциации с риском развития крупных миоматозных узлов: PgR rs1042838, PgR rs484389, EsR1 rs3798577 and EsR1 rs9340799 [159].

Селективные модуляторы прогестероновых рецепторов (мифепристон и азоксиприл) достаточно давно разработаны и используются в клинике, уменьшая размеры ММ и ее симптомы, но имеют тяжелые побочные эффекты, и после отмены препаратов рост узлов возобновляется [77]. Хотя СМПР подавляют овуляцию, они не связаны с системными эффектами недостатка эстрогена, поскольку секреция и циркулирующие уровни эстрадиола остаются в физиологическом диапазоне. Кроме того, СМПР подавляют пролиферацию клеток эндометрия, подавляют кровотечение посредством прямого воздействия на кровеносные сосуды эндометрия и снижают в нем выработку простагландинов тканеспецифичным образом [106]. В трехмесячном исследовании азоксиприл (в дозах 5, 10 и 25 мг) подавлял маточное кровотечение, уменьшал объемы ММ и матки. Биопсии эндометрия показали дозо- и время-зависимое снижение пролиферативных паттернов и увеличение покоящегося или минимально стимулированного эндометрия на 12-м мес лечения [158].

Для лечения женщин с эндометриозом были предложены и другие СМПР – телапристона ацетат, вилаприсан и танапрогет, которые оказывали выраженные побочные эффекты [143].

Сравнительно новый препарат из семейства СМПР – улипристала ацетат (УА), взаимодействующий с PgR в силу структурного сходства молекулы с

прогестероном. В связывающем домене в зависимости от изменения конформации рецептора возникают репрессирующие или активирующие эффекты, и какие из эффектов УА будут доминировать – агонистические или антагонистические – зависит от тканеспецифичной конформации PgR, а также от микроокружения, в т. ч. от уровня других гормонов и цитокинов [160].

С 2012 года опубликовано множество клинических и экспериментальных работ, в которых УА был исследован как многообещающий препарат, тормозящий и даже приводящий к редукции роста ММ. Проведено исследование случайной выборки пациенток с ММ в условиях ежедневной терапии УА в дозе 10 мг (96 женщин), в дозе 5 мг (96 женщин) или плацебо (48 женщин). После 13 нед лечения значительно уменьшились маточные кровотечения и редуцировались объемы ММ в группах, получавших УА. Данное исследование подтвердило значение терапевтических воздействий на прогестероновую регуляцию при ММ [79].

По данным Kolanska K. с соавторами [189], УА модифицировал содержание в эндометрии 59 микроРНК, участвующих в процессах клеточного цикла, воспаления и опухолевого роста. Профили экспрессии этих молекул различались в базальном и функциональном слоях. Специфические изменения наблюдались в обоих слоях эндометрия в группе УА, однако экспрессия микроРНК в базальном слое не соответствовала экспрессии в функциональном слое. Большинство процессов, на которые влиял УА в базальном слое, были связаны с клеточным циклом и иммунной регуляцией.

Среди побочных эффектов УА были головная боль и дискомфорт в молочных железах, но единичные случаи тяжелой гепатотоксичности [81] привели к запрету препарата. После периода отказа от применения УА в августе 2021 г. Минздрав России снова одобрил инструкцию по его применению [34], т. к. ранее эффективность УА была продемонстрирована многочисленными рандомизированными контролируемыми исследованиями, а проблема с медикаментозной терапией женщин с ММ не была решена [102].

В последующем было установлено, что эффективность лечения женщин с ММ с помощью УА зависит от молекулярного «паспорта» опухоли – от aberrаций в генах MED12 и HMGA2. Изменения диаметра и мутационный статус были изучены на 101 образце ММ, резецированных после предоперационного применения УА. Была обнаружена значительная разница между двумя основными подклассами ММ: мутантные MED12 имели в 4,4 раза более высокие шансы на редукцию размеров опухоли при воздействии УА по сравнению с миомами со статусом HMGA2. Таким образом, анализ экспрессии генов и метилирования ДНК выявил специфические для подклассов опухоли различия в передаче сигналов прогестерона. Получен важный вывод о том, что молекулярный «паспорт» ММ прогнозирует реакцию опухолевых клеток на УА, и дано объяснение различий «чувствительности» опухоли к УА [130].

Одним из других подходов к лечению женщин с ММ была коррекция с помощью эстрогенов [69]. Снижение уровня эстрогенов через индуцирование менопаузоподобной стадии с помощью применения антагонистов ГнРГ может приводить к сокращению опухоли, но опасно вследствие значительной деминерализации костей. Второй подход – назначение ингибиторов ароматазы, которые снижают местную концентрацию эстрогенов путем супрессии превращения андрогенов в эстрогены, но значительны побочные эффекты. Третий подход – ингибиторы дипептидилпептидазы-4 и белка активации фибробластов предотвращали фиброзирование, подавляя сигнальные пути в таких органах, как почки, легкие, печень и сердце [110].

В связи с трудностями создания принципиально новых лекарственных препаратов против ММ в США вновь исследована роль КОК у афроамериканских женщин как наиболее подверженных этому заболеванию. Исследовали связь между использованием КОК (по телефонным опросам) и 40-месячным кумулятивным риском развития ММ. Диагностику ММ проводили с помощью трансвагинального УЗИ при включении в исследование, а также через 20 и 40 мес. наблюдения. Из 1 308 участников анализируемой выборки 70 % использовали КОК, у 17 % через 40 мес. появились миоматозные узлы. Выявлена обратная связь

между использованием КОК и кумулятивной заболеваемостью ММ. Заболеваемость ММ была выше у женщин, которые начали использовать КОК после 17 лет, чем среди более молодых, хотя ограничение для тех, кто когда-либо использовал КОК, сделало эту оценку менее точной. В целом, среди когда-либо принимавших КОК никаких устойчивых закономерностей заболеваемости ММ не выявлено [66].

Релуголикс – непептидный антагонист ГнРГ, используемый для снижения секреции лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, снижающий концентрацию эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови до постменопаузальных уровней [60]. Добавление эстрадиола/норэтистерона ацетата к релуголиксу уменьшает остеопороз и приливы, что делает данный комплекс препаратов полезным среди современных вариантов фармакологического лечения женщин в пременопаузе с симптоматической ММ [168], а также при сочетании ММ с другими гиперпролиферативными процессами, в т.ч. аденомиозом [2; 37].

Таким образом, при лечении пациенток с ММ широко распространены хирургические вмешательства, включая миомэктомию. Что касается эффективности пероральных антагонистов ГнРГ, то они быстро редуцируют кровотечения у более 70 % женщин. При использовании без «прикрытия» эти препараты приводят к уменьшению объема узла примерно на 50 % от исходного уровня за 24 нед. Необходимы дальнейшие исследования для определения наилучшего протокола и оптимальной дозировки в случае бесплодия, связанного с ММ или если уменьшение объема ММ является основной целью [197]. При этом в ходе клинического применения различных препаратов уточняется роль сигнальных молекул в патоморфогенезе ММ.

1.5 Изучение миометрия при наличии миомы матки и аденомиоза

Поиск прогностических структурных маркеров рецидивирования ММ является нерешенной проблемой, поскольку независимо от количества узлов, скорости их роста и метода миомэктомии требуются динамическое наблюдение,

медикаментозная коррекция и повторные операции в большинстве случаев. Возобновление миоматозного роста в репродуктивном возрасте после миомэктомии свидетельствует о сохранении в миометрии у пациенток с ММ микроскопических узелков, либо указывает на определенные свойства миоцитов, легко подвергающихся трансформации и пролиферации с формированием новых миоматозных узлов. Это обращает научные поиски к «непораженному» миометрию как источнику формирования новых миоматозных узлов [201].

Нормальный миометрий состоит из гладких миоцитов и ВКМ, в котором локализованы коллагеновые волокна, протеогликаны и ряд гликопротеинов (фибронектин, ламинин). Продемонстрированы различия в составе клеточных элементов и матрикса между миометрием и миоматозным узлом. Миоматозные узлы чаще всего представляют собой скопление трансформированных гладких миоцитов миометрия и/или стенки его сосудов, которые обладают различной скоростью пролиферации и продукции компонентов богатого коллагеновыми белками ВКМ, что и определяет выраженность фиброза миоматозного узла [200]. При этом узлы могут быть одиночными или множественными, возникая в нескольких точках миометрия, варьируя по размерам от нескольких миллиметров до более чем 20 см [117], обуславливая варьирование клинических симптомов.

Наряду с гликопротеином коллагеном, ВКМ узлов содержит протеогликаны – сложные белково-углеводные молекулы, состоящие из сердцевинного белка и присоединенных к нему гликозаминогликанов – длинных неветвящихся цепочек дисахаров, как правило, сульфатированных. Протеогликаны взаимодействуют с другими компонентами матрикса, такими как коллагены, ламинин, фибронектин, факторами роста и цитокинами, участвуя в клеточной пролиферации, дифференцировке, миграции и ангиогенезе [149].

Макро- и микроскопически миометрий у женщин с ММ и не страдающих данной патологией не имеет гистологических и цитологических (ультраструктурных) отличий, однако на молекулярном уровне и при геномных исследованиях находят множество значимых фактов [88]. Образец ММ в научных и патоморфологических исследованиях обычно сравнивают с перифокальным

миометрием той же пациентки, т.е. изучают парные образцы, резецированные интраоперационно, однако вызывает сомнение, можно ли рассматривать миометрий пациенток с ММ действительно контрольным образцом, не пораженным патологическим процессом.

Для ответа на этот вопрос были изучены транскриптомы образцов миометрия от пациенток без ММ по сравнению с образцами узла и перифокального миометрия. Между образцами миометрия пациенток с ММ и миометрия женщин без ММ было обнаружено 1 169 по-разному экспрессируемых генов, особенно в отношении кодирования компонентов ВКМ [184].

Отличия миометрия при ММ заключались прежде всего в сигнальных путях TGF β и экспрессии молекул, участвующих в каскадах воспалительной реакции. В опухолевых образцах ММ по сравнению с миометрием выявлено несколько наборов генов, включая TGF β и гены белков воспалительной реакции, которые активно экспрессировались, однако у «непораженного» перифокального миометрия был некоторый набор активно экспрессируемых генов, аналогичных генам в ткани ММ [183].

Экспрессия гена SERPINE1 (кодирующего белок, который играет ключевую роль в системе свертывания крови и фибринолиза) может играть роль в развитии ММ, т. к. он участвует в ангиогенезе, более выраженном в опухолевой ткани ММ по сравнению с миометрием, а также в канцерогенезе [209], и этот ген считается перспективным в качестве таргета для терапии ММ.

Даже если структура миометрия у пациенток с ММ выглядит нормальной, его транскриптомный профиль отличается от миометрия без ММ и/или другого гинекологического заболевания. Если действительно соответствующий миометрий, вероятно, не является полностью интактным, сравнение этих тканей может привести к тому, что важные гены, участвующие в патогенезе или этиологии заболевания, не попадут в поле зрения ученых. Так, перифокальные ткани, прилегающие к различным злокачественным опухолям, по своим молекулярным характеристикам представляли собой уникальное промежуточное состояние между нетрансформированной и опухолевой тканью [68]. Например, у

пациенток с аденокарциномой молочной железы различия в экспрессии генов наблюдались в гистологически нормальном эпителии органа по сравнению с эпителием пациенток без рака [100].

Еще одна проверка этой гипотезы – при сравнении транскриптома миометрия пациенток без ММ с образцами ММ с наиболее распространенным подтипом MED12mt и соответствующим им «нормальным» миометрием. Было показано, что хотя эти две ткани имеют больше общих характеристик, чем отличий, по сравнению с образцами ММ, для каждой из них существует свой собственный генофенотип [48].

Интересными являются результаты по поиску новых аспектов участия стероидных гормонов в патогенезе ММ. Стероидные рецепторы, находящиеся в ядрах клеток, имеют сложный и неоднозначный механизм ответа на гормональный стимул. Например, белок FKBP51 (индуцируемый глюкокортикоидами), который связывает глюкокортикоидный рецептор (GR) и подавляет его транскрипционную активность, был обнаружен повышенным в лейомиоме матки по сравнению с миометрием той же пациентки. При этом этот белок связывается не только с GR, но и с прогестероновым и андрогеновым рецепторами, регулируя их транскрипционную активность [99]. На культурах клеток узла и миометрия той же пациентки, а также миометрия пациенток без миомы и стромальных клетках эндометрия человека, была проверена гипотеза о том [111], что повышенные уровни FKBP51 способствуют развитию ММ путем изменения сигнализации GR. Оказалось, что FKBP51 не только ингибирует, но и может усиливать транскрипцию, опосредованную GR, создавая порочный круг и изменяя транскрипцию генов ВКМ и гладких миоцитов с их дифференцировкой в миофибробласты, тем самым способствуя развитию лейомиомы.

Таким образом, был сделан вывод, что миометрий у пациенток с ММ может представлять собой переходное состояние между миометрием без миом и с ММ. Эти результаты также подтверждают гипотезу о том, что миометрий у пациенток с ММ имеет ранние признаки промиоматозного процесса, которые необходимо

выявить и использовать в будущем в качестве терапевтических и диагностических мишеней [184].

С помощью молекулярного и ИГХ исследования сравнили ткани нормального миометрия и миометрия у чернокожих и белых женщин с ММ [45]. Транскриптомный анализ выявил различные профили в нормальном и пораженном миометрии у чернокожих и белых женщин. Гены и сигнальные пути, связанные с ВКМ и механосенсорикой, были сильнее экспрессированы в нормальном миометрии у чернокожих женщин, чем у белых. Транскриптомный профиль перехода от нормального к пораженному миометрию различается у чернокожих и белых женщин. В частности, связанные с ВКМ сигнальные пути участвуют в переходе от нормального к поражённому миометрию, и эти процессы усугубляются у чернокожих женщин. В миометрии у чернокожих женщин, относящихся к группе риска, по сравнению с нормальным миометрием женщин белой расы, были обнаружены повышенные уровни экспрессии тенасцина С, альфа-1 цепи коллагена I типа, фибронектина и фосфорилированного белка p38 МАРК, тогда как в образцах от белых женщин таких различий не наблюдалось. Таким образом, было выявлено, что расовые различия в частоте возникновения ММ могут быть обусловлены повышенной выработкой компонентов ВКМ в миометрии у чернокожих женщин еще до появления узлов [45].

Внеклеточный матрикс (ВКМ) является резервуаром факторов роста и цитокинов, и его ремоделирование свойственно опухолевым тканям [44], в т. ч. ММ. Изменение компонентов ВКМ приводит к высвобождению факторов роста и цитокинов, способствующих выживанию, пролиферации, росту и биосинтетической активности трансформированных миоцитов. Внеклеточный матрикс миометрия, как и ММ, представлен белками волокон соединительной ткани и «основного, или аморфного» вещества [188]. Волокна в ММ представлены коллагенами, формирующими основу узла, имеются также фибронектин, ламинин и эластин; компонентами аморфного вещества являются протеогликаны – сложные белково-углеводные молекулы, такие как дерматан-, хондроитин- и гепарансульфаты, углеводные компоненты которых (неветвящиеся

цепочки дисахаров в разных сочетаниях) с разной степенью сульфатирования называются гликозаминогликанами (ГАГ), и гиалуроновая кислота также является ГАГ, но несulfатированным [95].

Компоненты матрикса в ММ являются продуктом биосинтетической активности трансформированных миоцитов, обладающими характеристиками и фибробластов (или миофибробластов), клетки обладают сократительной способностью благодаря актину и миозину, которые в норме содержатся только в мышечных тканях. При инфильтрации узла иммунными клетками, индуцирующими и поддерживающими хроническое воспаление, миофибробласты постоянно активируются цитокинами [134]. В конечном итоге миофибробласты выделяют избыточное количество компонентов ВКМ, замещающих исходную ткань, что приводит к деформации и нарушению функций матки [118].

При ММ повышена экспрессия генов, кодирующих коллагены; доминирующими типами коллагена в узлах являются белки I и III типа [89]. Общее количество коллагена в миометрии с ММ в 3,7 раза выше по сравнению с нормальным миометрием. Содержание лизилоксидазы и лизилгидроксилазы, ответственных за гидроксилирование остатков лизина, повышены в фиброзной ткани. Сшивание молекул коллагена положительно коррелирует с размером ММ, экспрессией маркеров клеточной пролиферации и фенотипом миофибробластов [137].

Пролиферативные эффекты эстрогенов и прогестерона при ММ в основном объясняются их способностью индуцировать экспрессию мРНК различных факторов роста. Кроме того, активируемые лигандами рецепторы эстрогена и прогестерона взаимодействуют с компонентами митогенных путей и путей выживания в цитоплазме и активируют их [155].

TGF β – цитокин и мощная молекула-хемоаттрактант [54]. В нетрансформированных клетках TGF β предотвращает деление клеток и индуцирует апоптоз. Эстрогены и прогестерон повышают экспрессию TGF β в фиброзной ткани матки в 5 раз и выше. Активация сигнального пути фосфатидилинозитол3-киназы/протеинкиназы В (PI3K/AKT) в клетках

фибробластов с помощью TGF β в первую очередь отвечает за превращение фибробластов в миофибробласты. Активация фибробластов/миофибробластов приводит к избыточной продукции и отложению матрикса [157]. «Жесткость», создаваемая избыточным количеством ВКМ, активирует сигнальные пути, способствующие росту опухоли [208].

Миома матки сочетается и с другими гинекологическими заболеваниями с гормональным дисбалансом, включая синдром поликистозных яичников (СПКЯ). Для проверки гипотезы о том, что повышенный уровень тестостерона может увеличить риск развития ММ, применили секвенирование РНК и анализ метилирования для сравнения миометрия женщин без ММ и с ММ и женщин без ММ после терапии тестостероном. Транскриптом и профили метилирования генов были близки между миометрием «с экзогенным тестостероном» и миометрием при ММ, отличаясь от нормального миометрия без ММ. По сравнению с ним, гены, ассоциированные с ММ (TGF β 3, CCND1, SERPINE1 и FGFR1), были повышены в образцах миометрия «с тестостероном» и при ММ. Эти данные свидетельствуют о том, что экзогенный тестостерон вызывает изменения транскрипции и метилирования генов в миометрии, которые аналогичны изменениям миометрия при ММ, и авторы статьи предполагают, что повышенный уровень тестостерона напрямую связан с повышенным риском развития ММ [175].

Аденомиоз характеризуется наличием доброкачественных железистых эпителиальных структур и прилежащей к ним цитогенной стромы, имплантированных в миометрий (и даже в миоматозные узлы) на разном расстоянии от эндометрия [185]. Гетеротопии различаются по клеточному составу желез, размерам и локализации. Их злокачественная трансформация может происходить под влиянием местных воспалительных, сосудистых или гормональных факторов, которые способствуют развитию гиперплазии и атипии, а затем и злокачественной трансформации, которую необходимо тщательно дифференцировать при наличии глубоко инфильтрирующих очагов.

Аденомиоз и эндометриоз не являются злокачественными заболеваниями, но некоторые характеристики гетеротопий схожи с опухолевым процессом: они формируют локальные и отдаленные очаги с инвазией в другие ткани и органы. а также устойчивы к апоптозу. Гетеротопии развиваются в условиях хронической местной и системной воспалительной среды [210]. Секвенирование генов показало злокачественные соматические драйверные мутации в 20 % случаев эндометриоза яичников и глубокого эндометриоза. Однако фокусы аденомиоза подвергаются злокачественной трансформации лишь в 1 % случаев.

Научные исследования железистой ткани гетеротопического эндометрия, а также применение новых молекулярных маркеров с помощью ИГХ [6] важны для изучения патоморфогенеза аденомиоза, а также для разработки стандартов прогнозирования и лечения. Клеточная атипия или злокачественная трансформация в очагах аденомиоза может быть индуцирована провоспалительным микроокружением, способствующим неоваскуляризации и индукции мутаций в белках-супрессорах опухолей или онкопротеинах, с сопутствующей пролиферацией клеток и ростом опухоли. Все эти локальные факторы способствуют усилению инвазивности гетеротопий аденомиоза, обострению клинических симптомов и появлению УЗИ маркеров, способствующих своевременной диагностике. Усиленная васкуляризация поддерживает пролиферацию опухоли и приводит к ее сдавливанию с усилением провоспалительных изменений и нарушений локальной тканевой архитектоники [63].

Патогенез аденомиоза связан с нарушением иммунной компоненты в микроокружении и с системными процессами. Врожденные и адаптивные иммунные реакции, включая увеличение количества макрофагов и Т-клеток, а также уровней цитокинов и других молекул, приводят к нарушению иммунной среды в эндометрии и в миометрии, с сосуществованием про- и противовоспалительных сигналов, отражающих механизмы «повреждения и восстановления тканей». Инфильтраты из иммунных клеток, секретирующих различные цитокины и факторы роста, могут быть причиной или следствием изменения уровня половых стероидов и эпителио-мезенхимального перехода, ведущих к миграции эпителиальных клеток в миометрий. Однако учитывая существование различных форм аденомиоза,

интерпретация иммунного процесса сложна, и ряд вопросов остается без ответа [83; 109; 205].

По мнению [119], на современном этапе науки секвенирование РНК и изучение транскриптома эндометрия и миометрия из очагов поражения помогло идентифицировать дисфункции стромальных и иммунных клеток, изменение активности макрофагов, которые приводят к хроническому воспалению и фиброзу. Исследования аденомиоза выявили нарушения ряда сигнальных путей, активность VEGF, а также новые популяции клеток-предшественников, связанные с инвазией тканей и нейровоспалением. Методы анализа отдельных клеток позволили охарактеризовать субпопуляции гладких миоцитов и фибробластов в ММ, выявив их роль в ремоделировании ВКМ и сигнальных путях, таких как ERK и mTOR. Авторы считают, что транскриптомные подходы на уровне отдельных клеток могут найти применение в поиске прогностических биомаркеров (Рисунок 2).

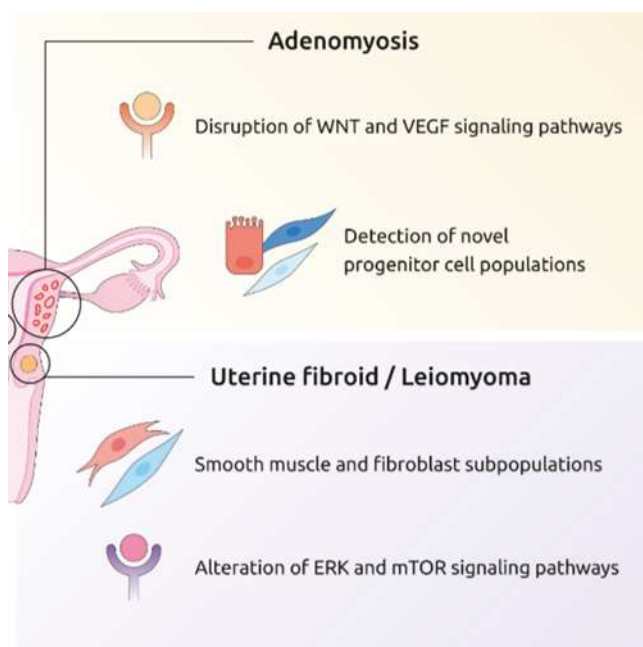


Рисунок 2 – Транскриптомный анализ отдельных клеток из патологических очагов аденомиоза и миомы матки человека. Аденомиоз: нарушения в сигнальных путях Wnt и VEGF; поиск новых популяций клеток-предшественников. Миома: субпопуляции гладких миоцитов и фибробластов; альтерация сигнальных путей ERK и mTOR [119]

Изучение с помощью ИГХ очагов аденомиоза с признаками опухолевой трансформации выявляет пролиферацию клеток желез и стромы, инактивацию генов-супрессоров опухоли, блокировку апоптоза, провоспалительное микроокружение и неоваскуляризацию [63].

Микроокружение миоцитов в миометрии обеспечивается ВКМ, стабилизирующим факторы роста и цитокины молекулами ГАГ: дерматансульфатами и менее многочисленными хондроитин- и гепарансульфатами [114; 188]. При ММ состав ВКМ изменен, содержание дерматан- и хондроитинсульфатов значительно повышено; изменение композиции молекул ВКМ высвобождает факторы роста и цитокины и приводит к активации роста узла [93]. Следует отметить, что практически не изучены при ММ гепарансульфаты ВКМ и фермент, деградирующий их углеводные цепи – гепараназа (HPSE) с эндогликозидазной активностью, которая участвует в патогенезе воспалительных и опухолевых процессов [46; 104]. После нее к дальнейшей деградации коровых белков протеогликанов приступают матриксные металлопротеиназы, более широко известные и применяемые для описания ремоделирования ВКМ в опухолях и другой патологии [156].

1.6 Резюме

Патоморфологическое исследование резецированных миоматозных узлов и очагов аденомиоза является важным диагностическим этапом в клинике, при этом ведется широкий научный поиск новых структурных и молекулярных прогностических маркеров рецидивирования и опухолевой трансформации. Миометрий пациенток реже попадает в поле зрения исследователей, в основном в фундаментальных работах.

Транскриптом миометрия у пациенток с миомами отличается от миометрия у пациенток без миом и характеризуется маркерами, аналогичными трансформированным миоцитам миоматозных узлов. Это позволяет

предположить, что миометрий у пациенток с миомами может представлять собой переходное состояние между миометрием без миом и с миомами.

Наблюдение и лечение пациенток репродуктивного возраста с ММ является актуальной медико-социальной проблемой, лечение зависит от количества, размеров и расположения узлов, а также сочетания с гетеротопиями эндометрия. В научных обзорах рекомендуют индивидуальный подход с учетом пользы фармакологических и хирургических методов лечения, кроме того, по-прежнему нужны инновации – разработка новых препаратов с долгосрочным использованием, которые могут быть альтернативой хирургическому вмешательству при ММ.

Результаты изучения роли прогестерона и эстрогенов в патогенезе ММ в настоящее время не привели к разработке принципиально новых подходов к медикаментозному лечению пациенток с ММ, продолжено изучение широкого спектра сигнальных молекул, индуцирующих провоспалительный и профиброзный фон. Поскольку не создан оптимальный медикаментозный препарат без тяжелых побочных эффектов, исследование патогенеза ММ и ее сочетания с аденомиозом, а также различная скорость прогрессирования узлов по-прежнему представляет собой широкое поле для фундаментальных исследований.

Все препараты, разрешенные для лечения пациенток с ММ, являются модуляторами женских половых гормонов. При этом цитокины и факторы роста, продуцируемые в миометрии и миоматозных узлах, способствуют взаимодействию между клеточным и внеклеточным компартментом пораженных тканей, обеспечивая прогрессирование опухолевого процесса. Большинство дифференциально экспрессируемых белков в ММ и перифокальном миометрии связаны с выработкой компонентов ВКМ, что является перспективным направлением исследований.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования и деление пациенток на группы

Проведено патоморфологическое исследование и оперативное лечение 226 женщин репродуктивного возраста – от 23 до 46 ($39,7 \pm 4,3$) лет с ММ (D25 в соответствии с МКБ 10). Набор клинических наблюдений, анализ результатов комплексного обследования и хирургического лечения были проведены в гинекологическом отделении (заведующий отделением – канд. мед. наук Л. А. Пивень) ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» (ГНОКБ), являющемся клинической базой кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. Исследование одобрено Этическим комитетом ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» (протокол № 3 от 28.11.2013). Пациентки прооперированы в 2015–2019 гг. Исследование клинического материала в научных целях одобрено Комитетом по этике ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 139 от 25.11.2021).

Общие критерии включения в исследование: клинические показания к оперативному лечению пациенток репродуктивного возраста с миоматозными узлами в матке [27], уровень фолликулостимулирующего гормона ≤ 12 мЕд/мл и информированное согласие пациентки.

Критерии невключения: проявления пременопаузы, противопоказания к хирургическому лечению, индекс массы тела (ИМТ) более 40 кг/м^2 , опухолевые процессы и декомпенсированные соматические и инфекционные заболевания.

Критерии исключения: некроз или злокачественная опухоль при гистологическом исследовании удаленных при хирургическом лечении миоматозных узлов.

Пациентки подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с законодательством РФ и этическими принципами проведения медицинских исследований, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Все 226 пациенток были обследованы на наличие гетеротопий эндометрия с помощью УЗИ и по показаниям МРТ, при этом окончательный диагноз был выставлен после гистеро- и лапароскопии, оперативного лечения и патоморфологического исследования операционного материала.

Дизайн исследования (Рисунок 3) включает в себя три блока, каждый из которых раскрывает новые аспекты патоморфогенеза ММ и ее сочетания с аденомиозом. При этом особый акцент был сделан на структурных и молекулярных маркерах миометрия.



Рисунок 3 – Дизайн исследования. Пояснения в тексте

Первый блок – исследование «случай-контроль» матрикса гетеротопий и эндометрия нормальной локализации на предмет ИГХ экспрессии молекул

гепарансульфата (HSP) и изучении эндогликозидазной активности по экспрессии гепараназы (HPSE) при сочетании ММ и аденомиоза проведено у 48 пациенток в возрасте от 25 до 45 лет ($38,90 \pm 5,87$) лет). Диагноз аденомиоза установлен по данным УЗИ, предоперационной гистероскопии с раздельным лечебно-диагностическим выскабливанием, объективного обследования и интраоперационной картины, окончательный диагноз – по результатам патогистологического исследования операционного материала; во всех случаях установлена диффузная форма аденомиоза.

Пациентки разделены на 2 репрезентативные по возрасту группы в зависимости от объема матки: 24 женщины – до 12 нед беременности (объем тела матки по УЗИ (226 ± 92) мм³) и 24 – более 12 нед ($1\,024 \pm 130$) мм³) с быстро растущей миомой при динамическом наблюдении (увеличение объема на «4 нед» в течение года, что рекомендовано [19]). Экспрессию HPSE и HSP исследовали на парафиновых срезах толщиной 5 мкм с помощью двухшагового стрептавидин-биотинового иммуногистохимического метода, в качестве первичных антител использовали моноклональные антитела к HPSE («Abnova») в разведении 1 : 200 и к HSP («Serotec») в разведении 1 : 100; продукты реакции визуализировали с помощью диаминобензида (DAB), срезы докрашивали гематоксилином. Для негативного контроля вместо первичных антител использовали 5 % бычью сыворотку, в качестве позитивного контроля – препараты аденокарциномы предстательной железы. Площадь продуктов ИГХ реакции оценивали с помощью микроскопа Axio Scope.A1 с фотокамерой AxioCam MRc5 и с использованием программного обеспечения ZEN blue (C. Zeiss), для каждого параметра оценивали по 30–35 изображений с конечным увеличением 630.

Во 2-м блоке для изучения ангиогенеза и маркеров воспаления в условиях воздействия УА (при одобренном клиническими рекомендациями применении) на содержание PgR проведено комплексное неконтролируемое исследование с помощью иммуноферментного (ИФА) и иммуногистохимического (ИГХ) анализа операционного материала 35 женщин с ММ. Критерии исключения из ИФА- и ИГХ-исследования: макроскопические дегенеративные изменения ткани узла,

гистологически выявленные фокусы аденомиоза и признаки злокачественного процесса. Контрольную – 1-ю группу – составили 23 пациентки ($40,5 \pm 3,4$) лет без УА в течение 3 мес перед операцией, 2-ю группу – случайно выбранные 12 женщин аналогичного возраста ($39,5 \pm 3,3$) лет ($p = 0,62$), которым перед операцией для снижения риска кровопотери и уменьшения болевого синдрома был рекомендован прием УА (Эсмия®) по стандартной схеме – ежедневно в течение 3 мес в дозе 5 мг [79].

В 3-м блоке работы проведено клинико-патоморфологическое исследование «случай–контроль» 38 пациенток репродуктивного возраста (от 25 до 46 лет) с клиническим диагнозом ММ с акцентом на изучении экспрессии VEGF в доминирующем опухолевом узле и перифокальном миометрии в зависимости от степени фиброза самого крупного миоматозного узла по данным ИГХ анализа операционного материала. Для этого клинические наблюдения разделены на 3 группы репрезентативного возраста в зависимости от степени фиброза самого крупного (доминирующего) миоматозного узла (см. Рисунок 3) с учетом критериев G. P. Flake и соавт. [179]. Для оценки площади фиброза на окрашенных по ван Гизону парафиновых срезах использовали автоматический анализ изображения (программа Zen blue, C. Zeiss).

2.2 Методы исследования пациенток

Перед патоморфологическим исследованием проведено общеклиническое и инструментальное изучение пациенток с ММ как ведущим клиническим диагнозом, обратившихся преимущественно по поводу маточных кровотечений и анемии, тазовой боли, а также в связи с обследованием по поводу первичного и вторичного бесплодия. Наряду с изучением жалоб и подробного акушерско-гинекологического анамнеза, было обращено внимание на экстрагенитальную патологию, и при необходимости приглашали для консультации врача-эндокринолога, уролога и др. Из 226 женщин с ММ у 119 (53 %) имелись фенотипические признаки избыточной массы тела: у 63 пациенток ИМТ составил от 25,0 до 29,9 кг/м² и расценивался как

предожирение; у 39 – ИМТ варьировался от 30,0 до 34,9 (ожирение I степени); у 17 – от 35,0 до 39,9 кг/м² (ожирение II степени).

Из гормональных препаратов, наиболее часто используемых пациентками в период 3 мес до миомэктомии, были комбинированные оральные контрацептивы (КОК): препараты Жанин, Джес плюс или Ярина – всего 36 (16 %) клинических наблюдений; реже применяли прогестагены – 22 (10 %) случая, агонисты ГнРГ – 16 (7 %) случаев, УА – 12 (5 %), и антигестагены – 5 (2 %) женщин. Следует отметить, что при самостоятельном выборе препаратов предпочтения базировались на контрацептивном и наименьших побочных эффектах (КОК), а остальные были назначены лечащими врачами при наличии меноррагий, эндометриоза, боли и анемии, исходя из экономических возможностей, опыта применения и интереса к сравнительно новому (на момент применения) препарату из группы СМПР – УА.

Пациенткам во всех случаях назначали УЗИ в динамике с цветовым доплеровским исследованием кровотока (Рисунок 4); реже назначали МРТ для уточнения локализации узлов перед операцией.

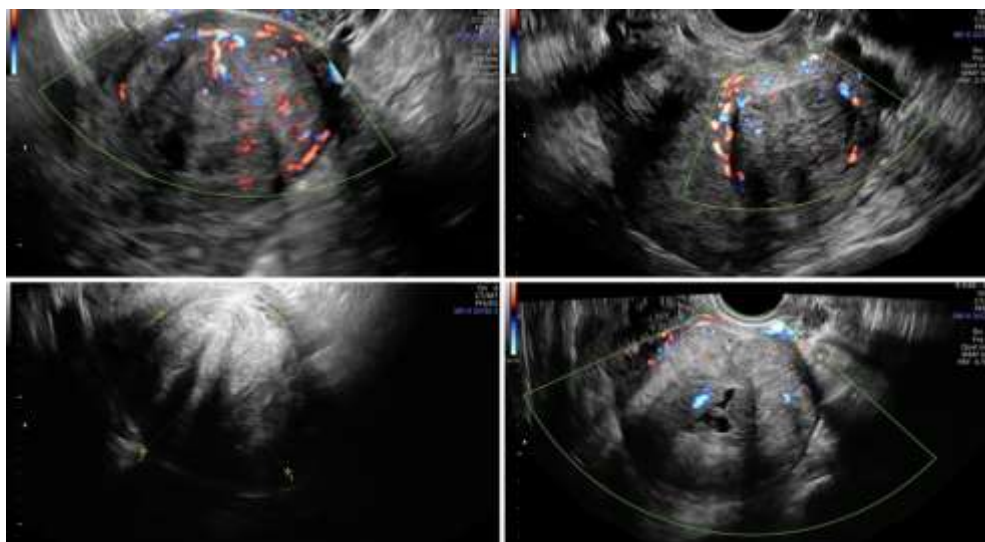


Рисунок 4 – УЗИ матки в режиме цветового доплеровского картирования. Ряд фото сверху – внутриопухолевый кровоток, ряд фото внизу – смешанный кровоток

Ультразвуковое исследование (УЗИ) с трансабдоминальным и трансвагинальным датчиками проводили в отделении ультразвуковой и функциональной диагностики; МРТ – в отделении лучевой диагностики ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница». Исследование гемограммы и гемостаза проводили в динамике – до операции и после, а в группе с предоперационным назначением УА – дополнительно до приема препарата. Перед оперативным лечением пациенткам проводили гистероскопию, что позволяло диагностировать аденомиоз; после раздельного диагностического выскабливания полости матки и цервикального канала было проведено патогистологическое исследование эндометрия.

Выбор операции основывался на клинических рекомендациях, показаниях к операции, реализации репродуктивной функции, количестве узлов и предпочтениях пациентки [27]. Решающими были анемия в связи с обильными маточными кровотечениями, большие размеры ММ, быстрый рост самого крупного узла (4 и более нед «беременности» за год), тазовая боль, бесплодие. В большинстве случаев (62 %, 140 из 226) пациенткам проведена миомэктомия.

Показания для проведения гистерэктомии сходны для показаний миомэктомии, но этот метод был выбран женщинами, не заинтересованными в сохранении репродуктивной и менструальной функции и/или имеющими патологию шейки матки, что было дополнительным показанием для расширения объема операции до тотального. Все операции прошли без интраоперационных осложнений, и выписка состоялась на 4–7-е сут после оперативного лечения в удовлетворительном состоянии.

Во время предоперационной подготовки при гистологическом исследовании биопсий эндометрия в пролиферативную фазу цикла у 136 (60 %) пациенток выявлены признаки хронического эндометрита, у 56 (25 %) – гиперплазия эндометрия без атипии, у 38 (17 %) – железистый или железисто-фиброзный полип. При анализе гинекологических заболеваний, диагностированных у пациенток с МТМ, выявлена статистически значимая корреляция между

хроническим эндометритом и гиперплазией эндометрия без атипии ($\chi^2 = 0,586$, $p < 0,0001$).

У 78 % пациенток миома была множественной, т. е. диагностировали 2 и более интерстициальных (интрамуральных), интерстицио-субсерозных или интерстицио-субмукозных узлов диаметром от 40 мм и более, с единичными субсерозными узлами диаметром около 5 мм, с сопутствующим бесплодием. У остальных 22 % женщин доминировали миоматозные узлы больших размеров, диаметром от 100 до 150 мм, при этом во время операции иногда визуализировались мелкие узлы диаметром до 10 мм, т. е. можно считать, что у подавляющего большинства пациенток миома была множественной.

Миоматозные узлы после резекции фиксировали в забуференном 10 %-ном формалине и отправляли в патоморфологическую лабораторию. При патоморфологическом исследовании во всех случаях диагноз ММ или ММ в сочетании с аденомиозом был подтвержден гистологически; также в образцах отсутствовали признаки злокачественной трансформации.

Данная работа была предварительно одобрена этическими комитетами ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» (протокол № 3 от 28.11.2013) и ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России (Протокол № 139 от 25.11.2021).

2.3 Методы гистологического, иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования образцов операционного материала

После постановки диагноза в патоморфологической лаборатории на основе изучения парафиновых срезов были выбраны блоки с фрагментом самого крупного миоматозного узла, очагами аденомиоза и прилежащего миометрия, которые были использованы для дополнительных гистологических окрасок и ИГХ исследования.

«Клеточность» опухолевого узла оценивали с помощью рутинного гистологического окрашивания гематоксилином и эозином по рекомендациям [11]: микроскопически отличия простой и клеточной миомы в препаратах ранжировали от 1 до 3 баллов. Степень воспалительно-клеточной инфильтрации также оценивали в баллах от 1 до 3 по периваскулярным скоплениям лимфоцитов, макрофагов и других клеточных элементов. Выраженность фиброзной компоненты узла оценивали при селективном окрашивании коллагеновых волокон по ван Гизону в соответствии с рекомендациями [179]: 1-я степень фиброза – площадь фиброзной ткани менее 15 %, 2-я степень – от 15 до 50 %, и 3-я степень – более 50 % площади среза.

Фрагменты образцов миоматозных узлов (самого крупного – доминантного) и перифокального миометрия размерами $5 \times 5 \times 3$ мм, зафиксированные в растворе параформальдегида, отправляли в лабораторию клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции (заведующий лабораторией – д-р биол. наук, профессор С. В. Айдагулова) Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Для электронно-микроскопического исследования операционного материала образцы 10 доминантных миоматозных узлов пациенток, принимавших или не принимавших УА перед операцией, фиксировали в течение суток в охлажденном до 4°C 4 %-ном растворе параформальдегида, приготовленном на фосфатном буфере Миллонига (pH 7,3). Перед проводкой ткань дофиксировали в 1 %-ном растворе OsO_4 в течение 2 часов, затем трижды промывали буфером, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне и заливали в смесь эпоксидных смол; блоки полимеризовали в термостате 60°C в течение 24 ч. Полутонкие (1 мкм) и ультратонкие (300–500 нм) срезы получали на ультрамикротоме LKB III (Швеция). Полутонкие срезы монтировали на обезжиренные предметные стекла и окрашивали на гистологическом столике (37°C) в капле 1 %-го водного раствора толуидинового синего, затем изучали с помощью микроскопа Axio Scope.A1 (C. Zeiss, Германия). Ультратонкие срезы

контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца в парах щелочи натрия по Рейнольдсу и исследовали в электронных микроскопах JEM 100-S и JEM 1400 (Япония) при ускоряющих напряжениях 60 и 80 кВт соответственно.

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) проводили на парафиновых срезах самого крупного (доминантного) миоматозного узла вместе с капсулой и на срезах перифокального миометрия. Экспрессию VEGF и прогестероновых рецепторов (PgR), а также гепараназы (HPSE) в операционном материале изучали с помощью двухшагового стрептавидин-биотинового метода и реактивов производства Thermo Scientific. В качестве первичных антител использовали готовые к использованию кроличьи моноклональные антитела к VEGF (IgG, клон SP28, кат. № RM-9128-R7) и к PgR (IgG, клон YR85, кат. № RM-2114-R7); а также антитела к ферменту метаболизма гепарансульфата – гепараназе (HPSE) в разведении 1 : 200 (кат. № ab85543, «Abcam»). Для вторичной детекции (как вторичные антитела) использовали набор реактивов «UltraVision Quanto Detection System HRP» с диаминобензидином (DAB); ядра клеток докрашивали гематоксилином.

С помощью ИГХ исследовали опухолевые узлы и миометрий на предмет экспрессии гепарансульфатов (HSP) в разведении 1:100 – применяли антитела к гепарин/гепаран сульфату (к углеводным цепям молекулы) производства «MILLIPORE» кат. № MAB2040 EMD, клон T320.11. Использовали набор для вторичной детекции с диаминобензидином (DAB), (кат. № ab64264, «Abcam»), а также флюоресцентные антитела Tex Red, ядра в таких случаях визуализировали DAPI.

Продукты ИГХ реакции оценивали при увеличении 400 с помощью микроскопа Axio Scope. A1 с фотокамерой AxioCam MRc5 и программного обеспечения ZEN blue (C. Zeiss) и выражали в % площади для VEGF и численной плотности меченых ядер для PgR.

2.4 Методы исследования цитокин-продуцирующего статуса клеточных элементов миоматозных узлов и миометрия

При лапароскопической миомэктомии или надвлагалищной ампутации матки из доминантного узла и перифокального миометрия иссекали по 2 макроскопически идентичных фрагмента объемом по 4 мм³ и инкубировали в термостате при 37 °С в течение 3 суток в стерильных флаконах с 2 мл питательной среды; при этом в один из флаконов была добавлена смесь поликлональных активаторов (ПА): 4 мкг/мл фитогемагглютинаина, 4 мкг/мл конканавалина А и 2 мкг/мл липополисахарида, что имело целью индуцировать продукцию цитокинов и факторов роста *ex vivo* клетками узлов и миометрия [76]. После окончания инкубации супернатанты аликвотировали, хранили при –80 °С, а фрагменты ткани фиксировали в 10 %-м забуференном формалине, проводили через гистологический автомат и заливали блоки в гистомикс.

После разморозки аликвот супернатанты изучали с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА): исследовали спонтанный (базовый) и стимулированный ПА уровни гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и 17-гидроксипрогестерона (17-ОН-Pr – продукта метаболизма прогестерона в цепочках синтеза тестостерона или кортизола). В работе использовали наборы «Цитокин-Стимул-Бест» производства ЗАО «Вектор-Бест» в соответствии с инструкцией производителя.

Содержание изучаемых молекул оценивали не по абсолютным значениям, поскольку количество клеточных элементов в образцах варьировало. В большинстве параметров сравнивали индекс влияния поликлональных активаторов (ИВПА), который выражали в условных единицах и высчитывали по формуле: $ИВПА = А / Б$, где А – уровень стимулированной поликлональными активаторами продукции цитокина, Б – уровень спонтанной (базовой) продукции цитокина [76], что позволяло нивелировать микроскопические вариации размеров образцов и содержание в них различных клеток.

2.5 Методы статистического анализа результатов исследования

При статистической обработке данных использовали программное обеспечение MedCalc Statistical Software, version 18.9.1 (<http://www.medcalc.org>; 2018) и пакет RStudio (<http://www.rstudio.com/>). Проверку нормальности распределения полученных данных в группах осуществляли с помощью критерия Шапиро – Уилка. В случае нормального распределения данные представлены в виде $M \pm \sigma$. При отсутствии нормального распределения показатели результатов представляли на графиках в виде медианы (Me) и первого и третьего квартилей (Q1; Q3), применяя для сравнения методы непараметрической статистики: внутригрупповые сравнения отсутствия/наличия статистически значимых различий между переменными внутри групп пациенток проводились с помощью критерия Вилкоксона; межгрупповые сравнения данных – с помощью критерия Манна – Уитни; корреляционные связи – с применением коэффициента корреляции Спирмена. Для оценки межгрупповых различий количественных переменных использовали тест Вальда – Вольфовитца, для сравнения дихотомических переменных – точный критерий Фишера. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

ГЛАВА 3 СТРУКТУРНОЕ И МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МИОМЕТРИЯ, МИОМАТОЗНЫХ УЗЛОВ И ОЧАГОВ АДЕНОМИОЗА

3.1 Изучение эндогликозидазной активности в очагах аденомиоза при сочетании с миомой матки разной скорости прогрессирования

Проведено «случай-контроль» клинко-патоморфологическое исследование с акцентом на ИГХ изучении эндогликозидазной активности по экспрессии гепараназы (HPSE) в эу- и гетеротопических фокусах эндометрия 48 пациенток в возрасте от 25 до 45 лет ($38,90 \pm 5,87$) лет) с клиническим диагнозом «симптомная миома матки». Диагноз установлен по данным УЗИ, предоперационной гистероскопии с раздельным лечебно-диагностическим выскабливанием, объективного обследования и интраоперационной картины.

Аденомиоз верифицирован по результатам патогистологического исследования операционного материала; во всех случаях установлена диффузная форма аденомиоза (Рисунок 5).

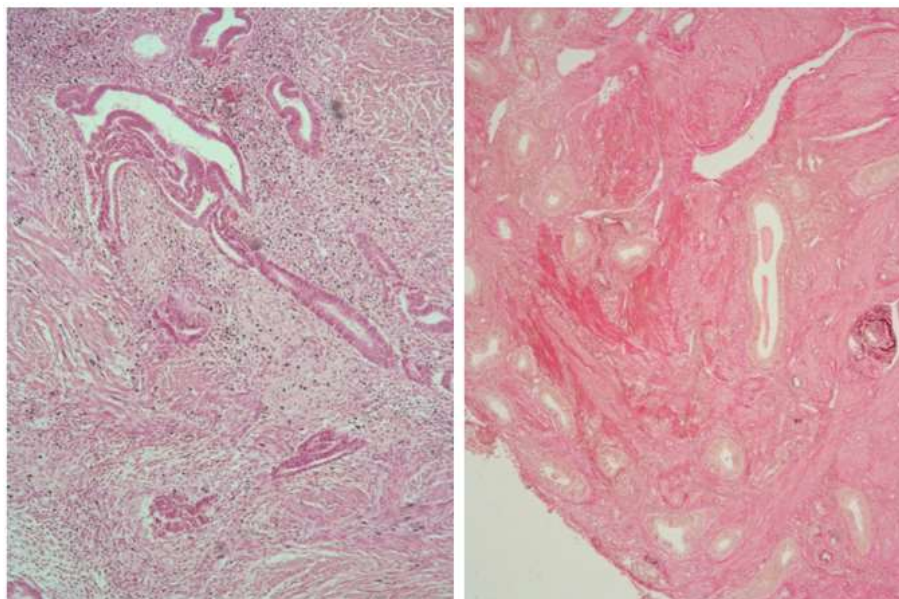


Рисунок 5 – Очаги аденомиоза у пациенток репродуктивного возраста с миомой матки. Окраска гематоксилином и эозином (слева) и по ван Гизону с докраской эластических волокон резорцин-фуксином Вейгерта (справа). Ув. 100

При постановке на парафиновых срезах ИГХ реакции на HPSE с помощью двух методов визуализации – с диаминобензидином (Рисунок 6) и флюоресцентными антителами (Рисунок 7) – оказалось, что миометрий заметно экспрессирует данный фермент, разрушающий углеводные цепи HSP; причем в фокусах аденомиоза, содержащих большее количество миоцитов, экспрессия была более выраженной.

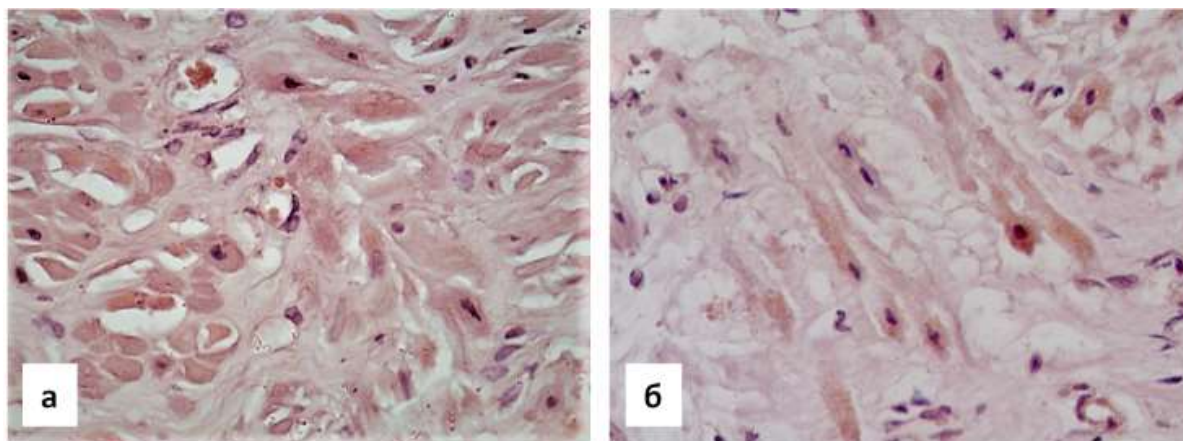


Рисунок 6 – Экспрессия гепараназы в перифокальном миометрии пациенток с аденомиозом (а) и без аденомиоза (б). Диаминобензидин, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув. 630

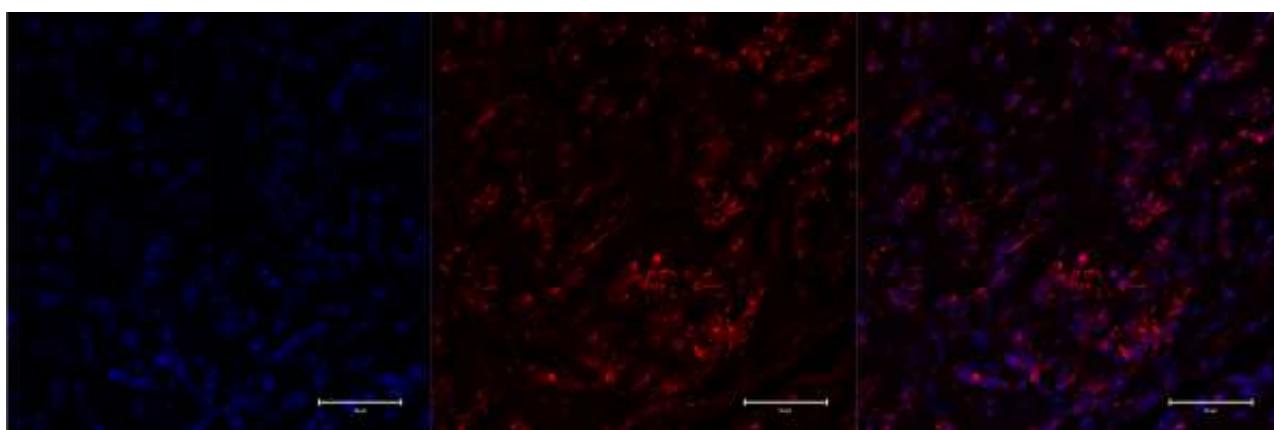


Рисунок 7 – Экспрессия гепараназы (HPSE) в перифокальном миометрии пациенток с аденомиозом. Вторичные флюоресцентные антитела Tex Red, ядра визуализированы DAPI. Бар = 50 мкм. Ув. 100

Исследование содержания HPSE в различных образцах операционного материала продемонстрировало положительный результат, причем продукты ИГХ реакции были видны преимущественно перицеллюлярно в ВКМ, а также определялись вблизи плазмолемм эпителиоцитов гетеротопического эндометрия (Рисунок 8).

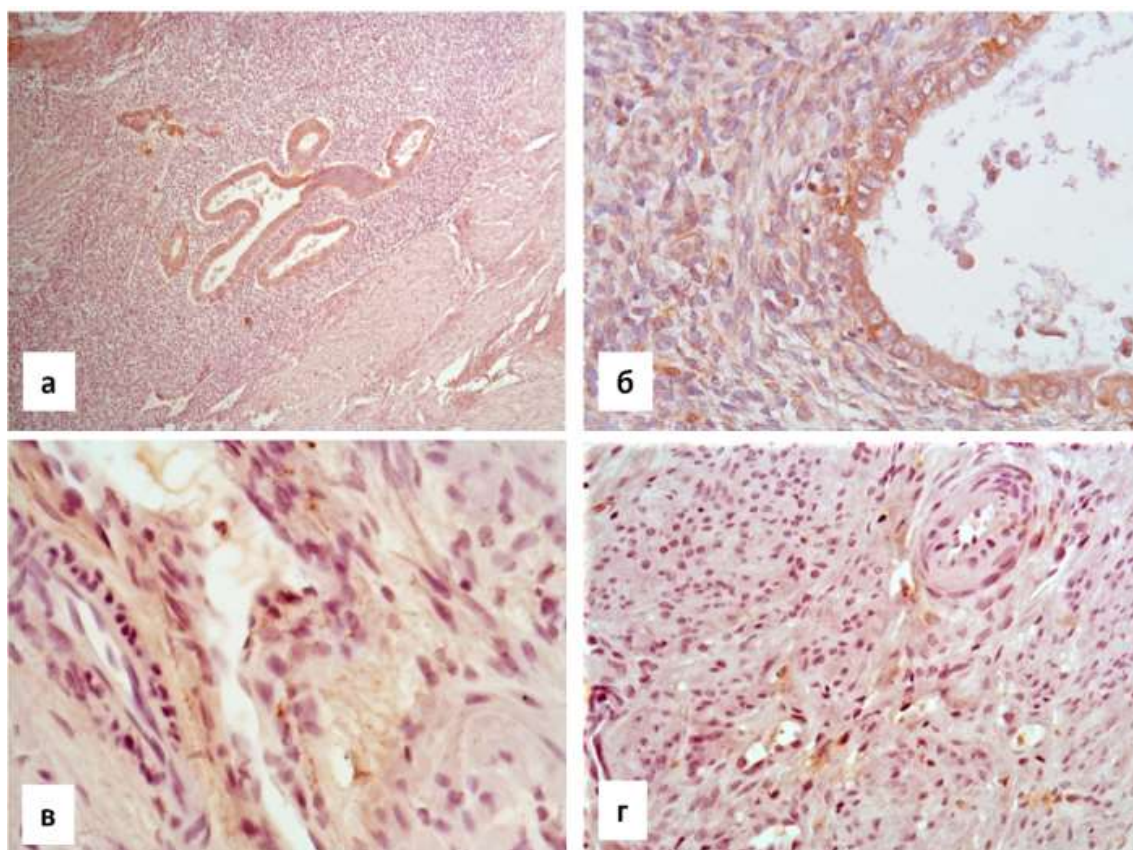


Рисунок 8 – Экспрессия гепараназы в очагах аденомиоза (а, б), в перифокальном миометрии (в) и миоматозном узле (г). Диаминобензидин, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув. а – 100, б – 400, в – 630, г – 400

Для более детального анализа влияния гепарансульфата на патоморфогенез сочетанной патологии пациентки разделены на 2 репрезентативные по возрасту группы в зависимости от объема матки: 24 женщины – до 12 нед беременности (объем тела матки по УЗИ (226 ± 92) мм³) и 24 – более 12 нед ($1\,024 \pm 130$) мм³) с быстро растущей миомой при динамическом наблюдении (увеличение объема на

4 нед в течение года). Опухолевые узлы были представлены по FIGO I и II типом субсерозных, II типом субмукозных узлов и интерстициальной локализацией. Оперативное лечение выполняли в плановом порядке на 7–12 д. м. ц. – в течение пролиферативной (т. е. фолликулярной) фазы овариально-маточного цикла.

Объем матки, косвенно свидетельствующий о скорости прогрессирования патологического процесса, лег в основу деления пациенток на 2 группы, имеющие различия и в особенностях клинической картины (Таблица 1). При отсутствии различий в возрасте пациенток и параметрах цикла, у женщин 2-й группы объем матки значимо превышал показатель 1-й группы ($p = 0,0008$), и было снижено содержание гемоглобина в крови перед операцией ($p = 0,0235$). Обращала на себя внимание тенденция более высокого ИМТ и толщины М-эхо.

Таблица 1 – Анализ клинические особенности пациенток с миомой матки и аденомиозом

Клинические особенности	Аденомиоз + Медленный рост миомы, n = 24		Аденомиоз + Прогрессирую щий рост миомы, n = 24	
	Mean $\pm$ SD	Median	Mean $\pm$ SD	Median
Возраст (годы)	38,87 $\pm$ 6,75	41,5	39,0 $\pm$ 5,23	41,0
ИМТ (кг/м ²)	27,5 $\pm$ 5,4	27,28	32,9 $\pm$ 10,2	31,88
Длительность менструации (сут)	6,25 $\pm$ 1,83	6	5,00 $\pm$ 0,81	5
Менструальный цикл (сут)	28,86 $\pm$ 0,99	28,5	29,14 $\pm$ 1,07	30
М-эхо (мм)	5,69 $\pm$ 2,08	4,8	7,08 $\pm$ 1,06	7,0
Содержание гемоглобина перед операцией (г/л)	(123,8 $\pm$ 15,3)*	126,5	103,6 $\pm$ 15,3	107,0
Примечание. * – $p = 0,0235$ между группами.				

При клиническом обследовании пациенток с большим объемом матки (2-я группа, пролиферирующая миома, или прогрессирующий рост) чаще имел место болевой синдром, в анамнезе в 3 раза чаще – воспалительные заболевания органов малого таза, обусловленные в том числе более частыми искусственными прерываниями беременности. В отличие от 2-й группы, при объеме матки до

12 нед (1-я группа) выявлено в 4 раза больше случаев с патологией шейки матки (Таблица 2).

Таблица 2 – Гинекологический статус пациенток с аденомиозом и миомой матки

Гинекологический статус	Аденомиоз + Медленный рост миомы	Аденомиоз + Прогрессирующий рост миомы
	n (%)	n (%)
Болевой синдром	18 (75 %)	24 (100 %)
НОМЦ (гиперполименорея)	21 (87,5 %)	21 (87,5 %)
НОМЦ (дисменорея)	3 (12,5 %)	3 (12,5 %)
Паритет 0	3 (12,5 %)	6 (25 %)
Паритет > 0	21 (87,5 %)	18 (75 %)
Самопроизвольные роды 1	12 (50 %)	6 (25 %)
Самопроизвольные роды > 1	9 (37,5 %)	9 (37,5 %)
Кесарево сечение	0	3 (12,5 %)
Аборты ≥ 1	18 (75 %)	21 (87,5 %)
Выкидыши > 0	3 (12,5 %)	3 (12,5 %)
Гиперплазия эндометрия	6 (25 %)	9 (37,5 %)
Киста/кистома яичника	6 (25 %)	6 (25 %)
Патология шейки матки	12 (50 %)	3 (12,5 %)
ВЗОМТ	3 (12,5 %)	9 (37,5 %)

Особенности клинической картины, характер поражения матки и репродуктивные планы пациенток обусловили выбор и объем хирургического вмешательства. В 1-й группе (объем матки до 12 нед) преобладали миомэктомии – 15 (62,5 %) случаев, надвлагалищная ампутация матки – 6 (25 %) и экстирпация матки – 3 (12,5 %). В отличие от 1-й группы, во 2-й группе с объемом матки более 12 нед доминировала надвлагалищная ампутация матки – 18 (75%) наблюдений, и лишь остальным 6 (25 %) женщинам выполнены миомэктомии.

При светооптическом исследовании операционного материала пациенток 1-й группы с медленным ростом объема матки в большинстве случаев диагностирован аденомиоз 1-й степени (21 из 24 случаев), в 3 остальных –

2-й степени. У пациенток 2-й группы степень аденомиоза чаще была более продвинутой: 1-я степень – 15 женщин, 2-я – 6 и 3-я – 3 пациентки.

Во всех клинических наблюдениях обеих групп эутопический эндометрий соответствовал морфологии пролиферативной фазы цикла, из них в 25 % случаев отмечены признаки хронического эндометрита; при этом у пациенток 2-й группы в единичных наблюдениях структурные особенности расценивали как проявления железисто-кистозной гиперплазии эндометрия.

В отличие от эуэндометрия, для патогистологии очагов аденомиоза в пролиферативную фазу цикла характерен выраженный полиморфизм эпителиального и стромального компартментов: плотность цитогенной стромы, форма и диаметр просветов желез резко варьировали; отмечена кистозная трансформация с атрофией эпителия.

По данным ИГХ исследования парафиновых срезов, экспрессия гепараназы (HPSE) в эутопическом эндометрии в обеих группах пациенток в раннюю и среднюю стадии фазы пролиферации овариально-маточного цикла была очень слабой - практически отсутствовала в эпителии желез и отмечалась в единичных стромальных клетках (Рисунок 9). Интра- и экстрацеллюлярные продукты ИГХ реакции на HPSE составили $(0,33 \pm 0,07)$ % площади в эуэндометрии женщин 1-й группы и $(0,44 \pm 0,16)$ % – 2-й группы; и соответственно, в очагах аденомиоза двух групп пациенток – $(0,24 \pm 0,05)$ % и $(2,28 \pm 0,9)$ % ($p < 0,001$).

Полученные результаты согласуются с единственным по данному вопросу исследованием X. Xu и соавт. [85]: у пациенток с генитальным эндометриозом положительная реакция на HPSE имела место в железистых и стромальных клетках эутопического эндометрия поздней стадии фазы пролиферации, а также в раннюю, среднюю и позднюю стадии фазы секреции. В наших наблюдениях в очагах аденомиоза при медленном росте объема матки (до 12 нед) в 1-й группе экспрессия HPSE также была минимальной, но при прогрессирующем росте миомы (2-я группа) – повышена в несколько раз.

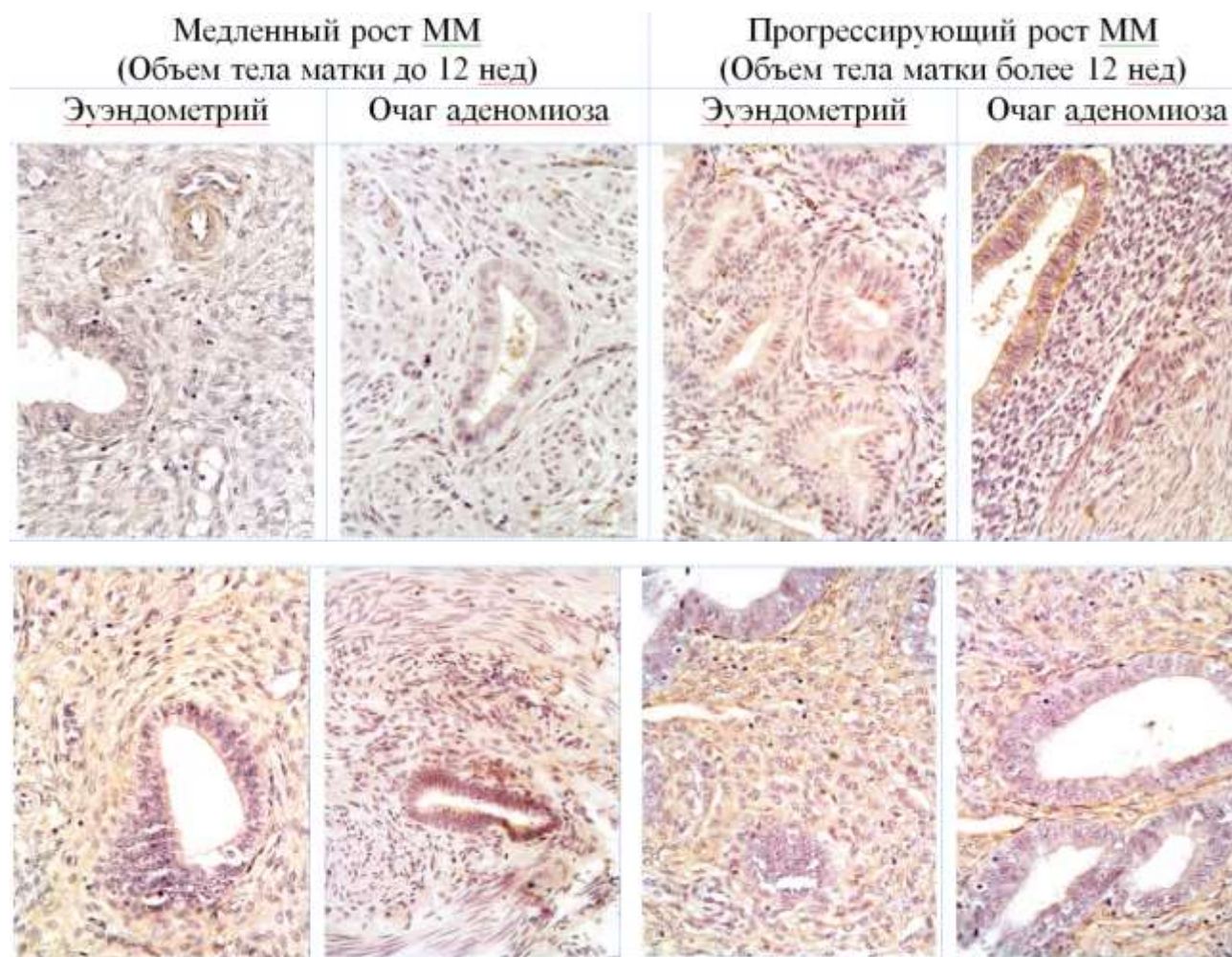


Рисунок 9 – Экспрессия гепараназы (HPSE) – верхний ряд фото и экспрессия гепарансульфатов (HSP) – нижний ряд фото в эуэндометрии и очагах аденомиоза у пациенток репродуктивного возраста с миомой матки в пролиферативную фазу цикла. Двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод, визуализация диаминобензидином. Докраска ядер гематоксилином Майера. Ув. 400

При анализе результатов ИГХ исследования экспрессии HPSE в эутопическом эндометрии и очагах аденомиоза возникает вопрос, как эти различия согласуются с содержанием гепарансульфатов (HSP) – субстрата фермента HPSE. При изучении срезов с помощью специфических антител на углеводные цепи HSP установлено, что содержание DAB-позитивных продуктов реакции на HSP обратно пропорционально экспрессии HPSE (Рисунок 10) и характеризуется минимальными показателями в очагах аденомиоза во 2-й группе

– при прогрессирующем росте миом с большим объемом матки. Так, % площади экспрессии HSP в ткани эндометрия пациенток 1-й группы составил $7,92 \pm 2,8$ и у пациенток 2-й группы – $8,64 \pm 3,88$; в очагах аденомиоза обеих групп – $(3,76 \pm 1,29) \%$ и $(2,02 \pm 0,9) \%$ соответственно.

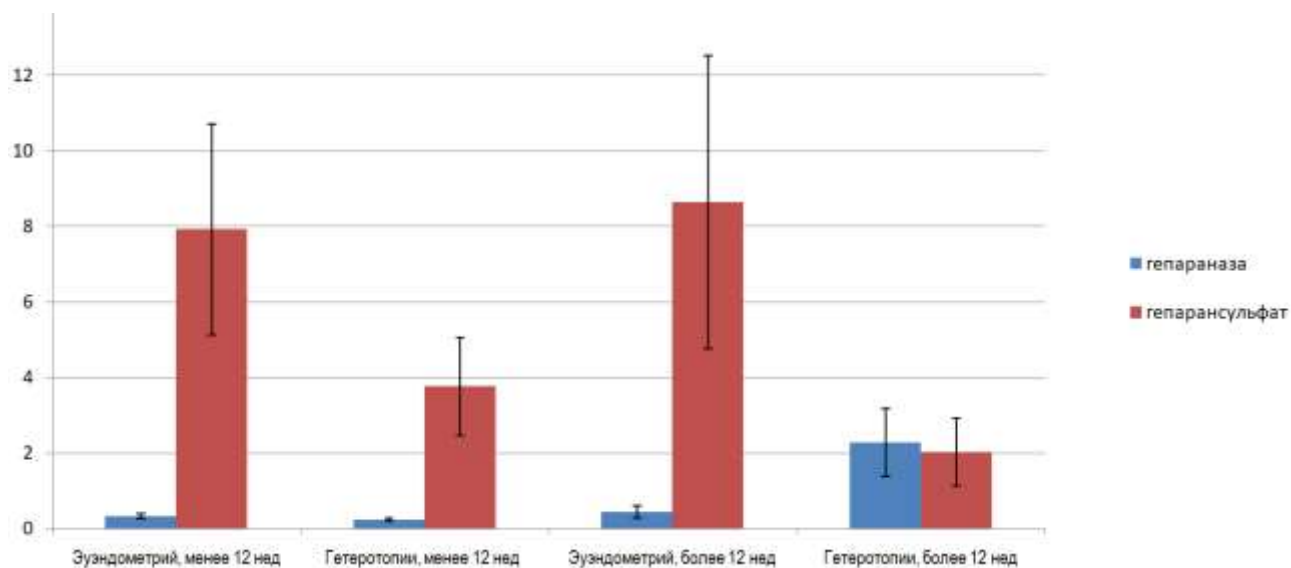


Рисунок 10 – Уровень экспрессии (% площади) гепараназы (HPSE) и гепарансульфата (HSP) в эндометрии и очагах аденомиоза у женщин репродуктивного возраста с ММ с учетом объема матки: 1-я группа – менее 12 нед, 2-я группа – более 12 нед «беременности»

Таким образом, в очагах аденомиоза HPSE экспрессируется в эпителии и субэпителиальных микрососудах, и при пролиферирующем характере роста миомы с объемом тела матки до 12 нед экспрессия HPSE статистически значимо превышает показатель 2-й группы ($p < 0,001$), что характеризуется негативной корреляцией с экспрессией HSP. Это подтверждает важную роль HPSE в деградации гепарансульфатов и изменении микроокружения, в том числе свойств ВКМ. Одновременно с этим, обращают на себя внимание аналогичные пролиферативные свойства и клеточных популяций миометрия в этой группе пациенток.

При объеме матки до 12 нед (1-я группа) при гистологическом исследовании

операционного материала обнаружены узлы различного диаметра, хорошо ограниченные, соответствующие по классификации простым миомам. Опухолевые узлы представлены переплетающимися пучками цитологически монотонных гладкомышечных клеток с умеренно эозинофильной цитоплазмой и удлинёнными ядрами без атипии и митотической активности, окруженных прослойками стромы с сосудами, матрикс-продуцирующими клетками и коллагеновыми волокнами. На поперечных срезах в небольшом числе случаев отмечена перинуклеарная оптическая прозрачность цитоплазмы опухолевых миоцитов. В 5 субмукозных узлах выявлены фокусы некроза, организуемого с участием грануляционной ткани с большим числом сидерофагов (Рисунок 11).

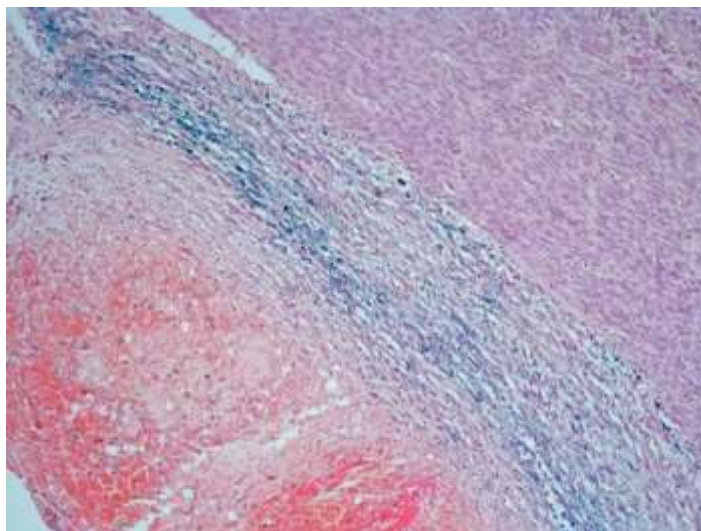


Рисунок 11 – Некроз миоматозного узла. Клеточный инфильтрат с многочисленными сидерофагами. Окраска гематоксилином и эозином в сочетании с реакцией Перлса. Ув. 100

У пациенток 2-й группы и доминирующий, и более многочисленные мелкие узлы характеризовались типичной структурой, однако у 17 из 24 пациенток отмечена повышенная «клеточность» узлов по сравнению с простыми миомами, что соответствовало патогистологии «пролиферирующей» миомы. Клетки с эухромными овальными или удлинёнными ядрами и скудной цитоплазмой

формировали плотные пучки и были ассоциированы с крупными толстостенными сосудами, а также сосудами типа синусоидов и плотной периваскулярной моноклеарной клеточной инфильтрацией. На периферии узлов опухолевые клетки незаметно интегрировались с окружающим миометрием без видимой капсулы.

Таким образом, в очагах аденомиоза пациенток репродуктивного возраста с прогрессирующим ростом миоматозных узлов и объемом тела матки более 12 нед экспрессия HPSE статистически значимо превышает соответствующие показатели пациенток с медленным ростом миомы и объемом матки до 12 нед. Сравнительный ИГХ анализ эу- и гетеротопических очагов эндометрия демонстрирует отрицательную корреляцию между экспрессией HPSE и ее субстрата HSP и свидетельствует о важной роли эндогликозидазной активности в изменениях ВКМ миометрия при прогрессировании сочетанной патологии матки – миомы и аденомиоза.

Результаты раздела 3.1 опубликованы:

1. Timofeeva, Yu. Endoglycosidase activity in adenomyosis foci of reproductive-age women with uterine leiomyoma / Yu. Timofeeva, D. A. Solyanikov // Archives of Medical Science. – 2015. – Vol. 2, Suppl. 1. – P. 124–125.
2. Особенности экспрессии эндогликозидазы в очагах аденомиоза у пациенток репродуктивного возраста с миомой тела матки / И. О. Маринкин, Л. А. Пивень, Д. А. Соляников [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 11. – С. 79–85. (Scopus)
3. Активность эндогликозидазы гетеротопического эндометрия у пациенток репродуктивного возраста с прогрессированием аденомиоза и миомы тела матки / В. М. Кулешов, И. О. Маринкин, Ю. С. Тимофеева [и др., в том числе Д. А. Соляников] // Исследования и практика в медицине. – 2018. – Спецвыпуск 1. – С. 51.
4. The role of heparan sulfate degradation in adenomyosis / S. V. Aidagulova, D. A. Solyanikov, Y. S. Timofeeva, I. O. Marinkin // International Journal of Molecular Medicine. – 2016. – Vol. 38, Suppl. 1. – P. 51.

3.2 Сравнительное гистологическое, иммуногистохимическое и ультраструктурное исследование миометрия и доминантных миоматозных узлов

В данном разделе представлены результаты комплексного патоморфологического исследования тканевых образцов операционного материала миометрия и миоматозных узлов, в том числе после инкубации образцов в питательной среде для изучения базовой продукции сигнальных молекул, а также индуцированной поликлональными активаторами (ПА). Образцы были зафиксированы в формалине и залиты в гистомикс; в т. ч. 12 парных образцов пациенток, принимавших перед операцией УА по рекомендуемой схеме в течение 3 мес по 5 мг/сут.

При светооптическом исследовании фрагментов перифокального миометрия и миоматозных узлов условия инкубации не повлияли на патогистологические особенности тканей пациенток, не принимавших УА перед операцией (Рисунок 12).

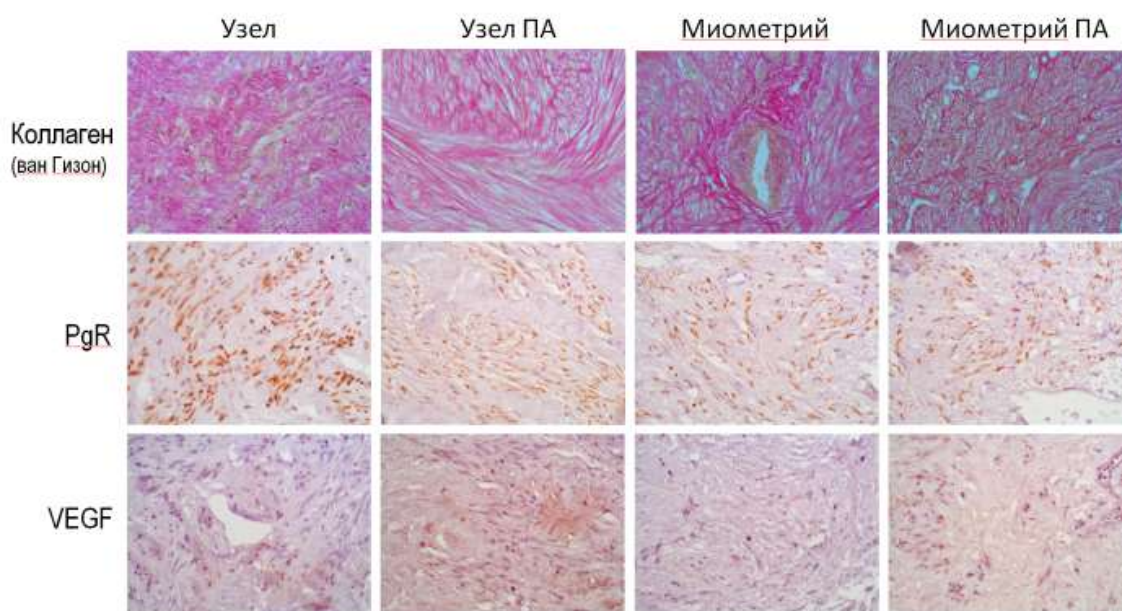


Рисунок 12 – Патогистологическое (окраска по ван Гизону) и ИГХ (экспрессия PgR и VEGF) исследование резецированных миоматозных узлов и перифокального миометрия пациенток без гормонотерапии. Отсутствие структурных различий. ПА – инкубация в питательной среде с поликлональными активаторами. Ув. 400

В отличие от операционного материала женщин без гормонотерапии УА, образцы пациенток, принимавших УА перед операцией, светооптически отличались дистрофическими изменениями трансформированных миоцитов в узлах и менее выраженной дистрофией миоцитов прилежащего к узлам миометрия. Так, обращали на себя внимание перинуклеарные просветления цитоплазмы миоцитов и даже нечеткость контуров их ядер. При этом ядра клеток инфильтрата по-прежнему были четкими (Рисунок 13).

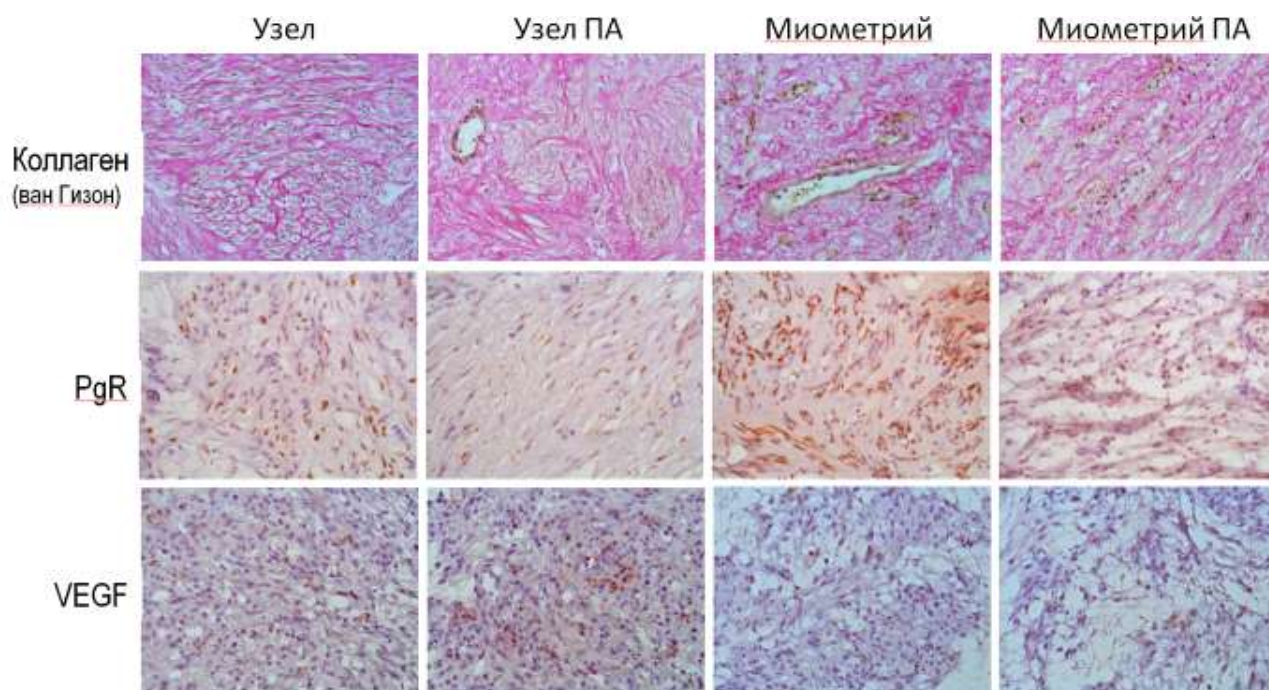


Рисунок 13 – Патогистологическое (окраска по ван Гизону) и ИГХ (экспрессия PgR и VEGF) исследование резецированных миоматозных узлов и перифокального миометрия пациенток с предоперационным применением УА в течение 3 мес. Слабо и умеренно выраженные дистрофические изменения миоцитов. ПА – инкубация в питательной среде с поликлональными активаторами. Ув. 400

Для поиска ультраструктурных эквивалентов селективной модуляции прогестероновых рецепторов в образцах миоматозных узлов и перифокального миометрия был выполнен электронно-микроскопический анализ. В образцах

узлов без гормонотерапии выражен клеточный полиморфизм с преобладанием трансформированных миоцитов (и миофибробластов) с признаками высокой биосинтетической активности: с наличием ядрышек в ядрах и многочисленными профилями гранулярной цитоплазматической сети (Рисунок 14). Перичеселлюлярный матрикс заполнен многочисленными разнонаправленными коллагеновыми волокнами с характерной мелкой исчерченностью. После применения УА обращали на себя внимание вакуолизация цитоплазмы миоцитов, редукция биосинтетических органелл, активация макрофагов с резорбцией фрагментов коллагеновых волокон и формирующимися аутофагосомами, а также поля зрения с некробиотически измененными клетками.

При анализе ультратонких срезов образцов перифокального миометрия у пациенток без гормонотерапии доминировали полиморфные гладкие миоциты с многочисленными сократительными филаментами в цитоплазме, что придавало ей высокую электронную плотность (Рисунок 15). В образцах после применения УА в большинстве случаев отмечены лишь незначительные изменения, среди которых на первый план выступали умеренное уменьшение размеров клеток и очаговая редукция биосинтетических органелл. В одном наблюдении выявлены признаки дегенерации ядер миоцитов и очень большое количество тучных клеток с крупными осmioфильными секреторными гранулами, маскирующими ядро (Рисунок 16).

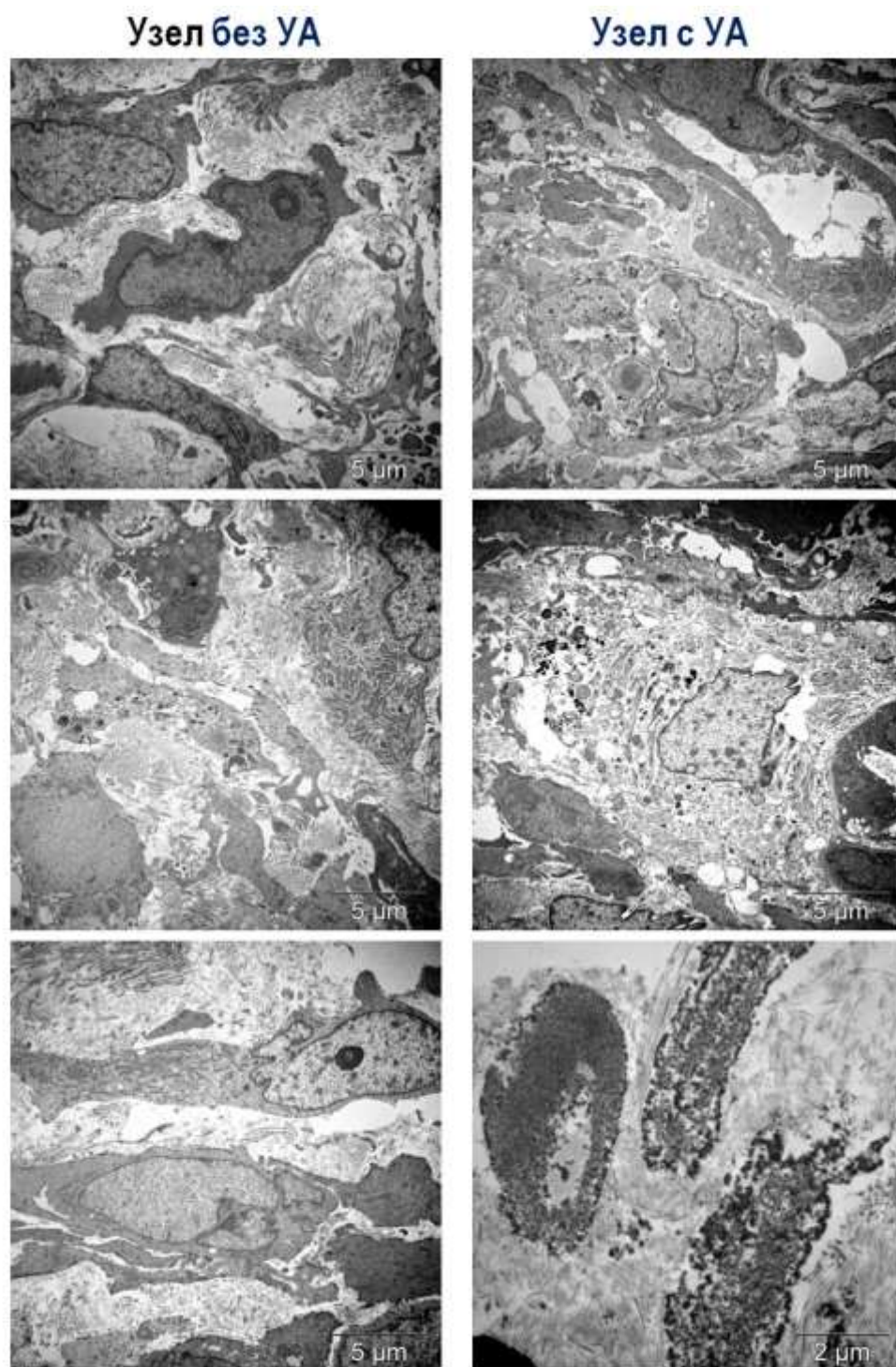


Рисунок 14 – Анализ ультраструктурных изменений трансформированных миоцитов в миоматозных узлах. Фото слева – без гормонотерапии: многочисленные профили гранулярной цитоплазматической сети, наличие ядрышек в ядрах. Справа – в условиях применения улипристала ацетата: вакуолизация цитоплазмы миоцитов, активация макрофагов, некробиотические изменения клеток

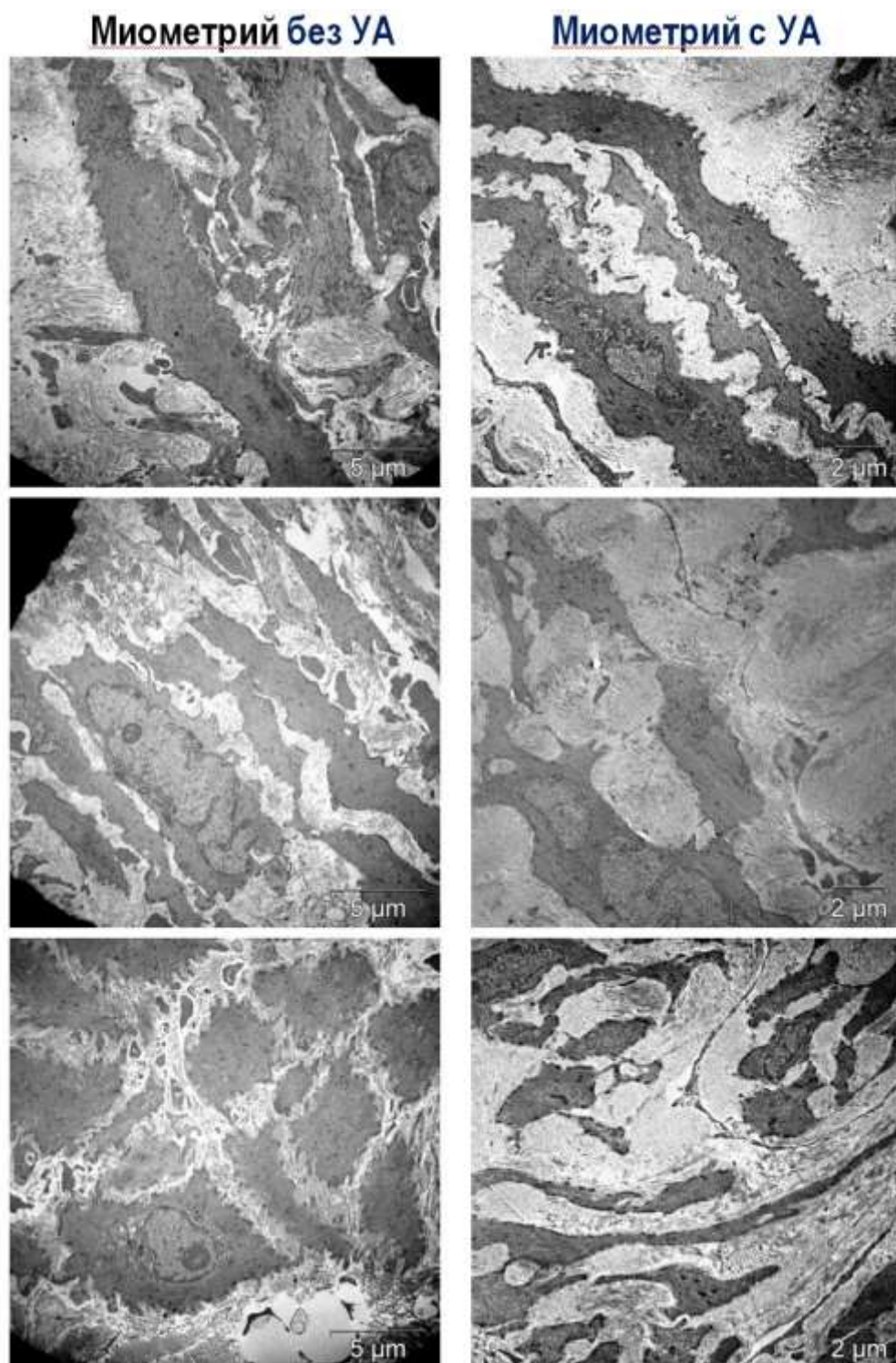


Рисунок 15 – Анализ ультраструктурных изменений клеток перифокального миометрия. Фото слева – без гормонотерапии: полиморфные миоциты с многочисленными сократительными филаментами в цитоплазме. Справа – в условиях применения улипристала ацетата: умеренное уменьшение размеров клеток

Миометрий с УА

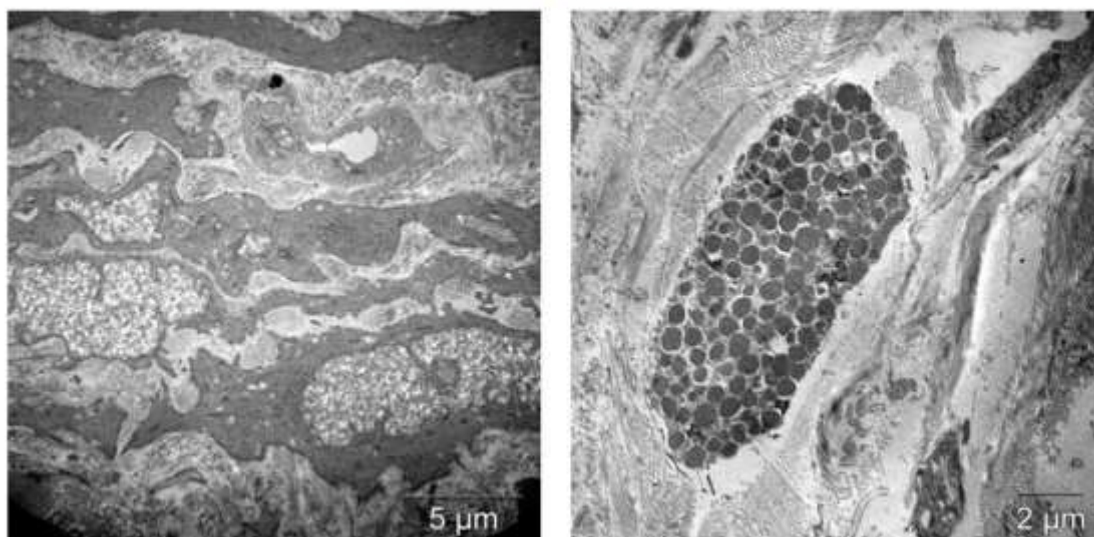


Рисунок 16 – Анализ ультраструктурных изменений миометрия после применения УА. Фото слева – хлопьевидность хроматина в ядрах миоцитов; справа – тучная клетка с крупными осмиофильными секреторными гранулами, маскирующими ядро

При постановке ИГХ реакции (двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод) для изучения экспрессии HPSE в образцах 1-й группы отмечены скопления DAB-позитивных клеток в миоматозных узлах (Рисунок 17, а), а также преимущественно в мышечной оболочке сосудов перифокального миометрия (Рисунок 17, б). По сравнению со 2-й группой пациенток, которые принимали УА в течение 3 мес перед операцией (Рисунок 17, г, д), у пациенток 1-й группы обращала на себя внимание более интенсивная позитивная ИГХ-реакция компонентов ВКМ, что можно расценивать как уменьшение стабильности молекул гепарансульфата, служащих своеобразным стабилизатором и депо широкого спектра биологически активных сигнальных молекул – цитокинов и факторов роста.

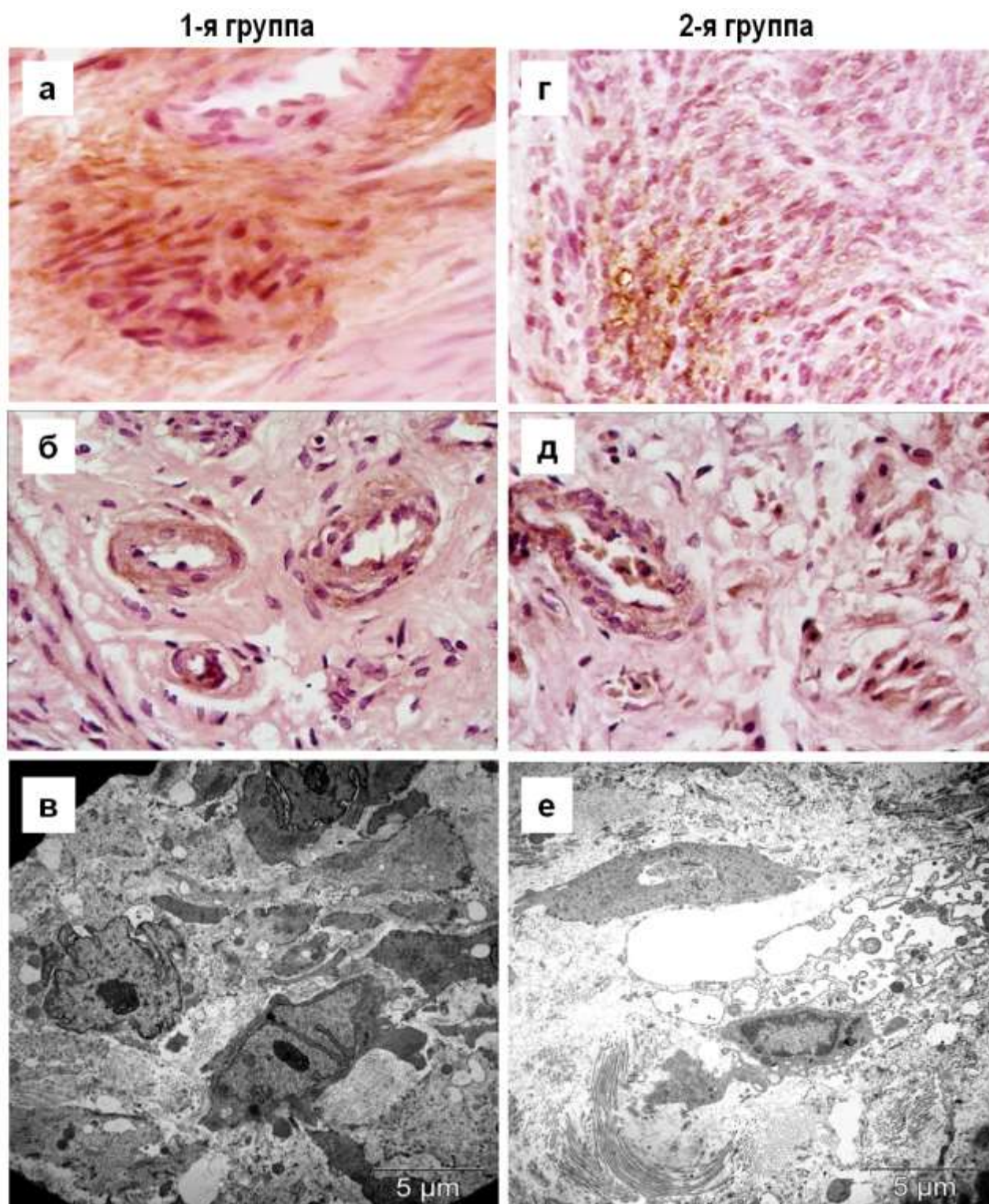


Рисунок 17 – Иммуногистохимическое (а, б, г, д) и электронно-микроскопическое (в, е) исследование миоматозных узлов (а, в, г, е) и перифокального миометрия (б, д) пациенток с ММ без предоперационной терапии (1-я группа) и после применения УА (2-я группа). Снижение экспрессии гепараназы во 2-й группе (г) по сравнению с 1-й (а). а, б, г, д – ув. 630; в, е – ув. 4 000

При электронно-микроскопическом исследовании образцов миоматозных узлов пациенток обеих групп выявлены выраженные различия ультраструктурной организации опухолевых миоцитов. У пациенток 1-й группы доминировали миоциты с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением и признаками высокой биосинтетической активности (см. Рисунок 17, в). Ядра всех клеток были эухромны, с неровным контуром, способствующим увеличению площади контакта с цитоплазматическим компартментом, а также содержали крупные осмиофильные ядрышки, что свидетельствовало об активности транскрипции. У пациенток 2-й группы ядра опухолевых клеток имели относительно ровные контуры, маргинальный гетерохроматин, редко встречающиеся мелкие ядрышки. Часто встречались деградирующие клетки с вакуолизированной цитоплазмой, что свидетельствовало о цитопатическом эффекте УА.

Таким образом, при сравнительном гистологическом, иммуногистохимическом и электронно-микроскопическом исследовании миометрия и доминантных миоматозных узлов, в том числе после инкубации образцов в питательной среде, выявлены структурные отличия, обусловленные прежде всего приемом УА перед операцией.

Результаты раздела 3.2 опубликованы:

Изучение маркеров ангиогенеза и воспаления в доминантных миоматозных узлах и миометрии / Д. А. Соляников, И. О. Маринкин, А. В. Волчек [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2022. – № 6. – С. 93–102. (Scopus).

3.3 Особенности фиброза и ангиогенеза при сочетании миомы матки и гетеротопий эндометрия

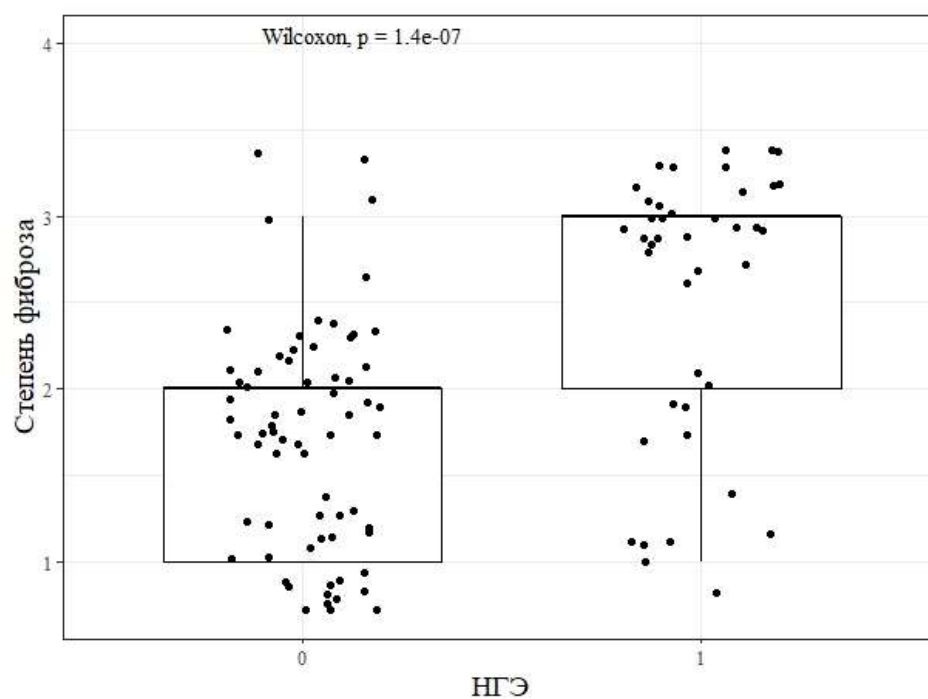
У женщин репродуктивного возраста с ММ с помощью статистических методов проанализированы особенности клинических проявлений множественной миомы матки, составивших 78 % от всех наблюдений. Длительность заболевания ММ (по данным историй болезни и анамнезу), как и ожидалось, не коррелировала с суммой диаметров миоматозных узлов по данным УЗИ (коэффициент корреляции Кендалл $\tau = -0,101$, ДИ $[-0,229; 0,03]$; $p = 0,044$). Количество узлов не

коррелировало с суммой их диаметров (Кендалл $\tau = -0,222$, ДИ $[-0,343; -0,094]$; $p < 0,0001$). При этом сумма диаметров узлов положительно, но не сильно, коррелировала с диаметром наибольшего узла (Кендалл $\tau = 0,59$, ДИ $[0,498; 0,67]$; $p < 0,0001$), а этот диаметр слабо отрицательно коррелировал с количеством узлов (Кендалл $\tau = -0,421$, ДИ $[0,523; 0,307]$; $p < 0,0001$).

У пациенток с ММ и выявленными гетеротопиями эндометрия при исследовании корреляций между клиническими характеристиками и молекулярно-биологическими параметрами их операционного материала, инкубированными *in vitro*, выявлен ряд статистически значимых результатов.

Аденомиоз был обнаружен у 52 (23 %) пациенток с ММ, в т. ч. в 4 случаях интраоперационно и патоморфологически диагностирован сочетанный внутренний и наружный эндометриоз. Наличие аденомиоза статистически значимо (критерий Манна – Уитни) влияло на следующие клинические показатели: количество случаев с полипами эндометрия и НОМЦ было больше при наличии аденомиоза ($p < 0,0001$ и $p = 0,0025$ соответственно). У женщин с аденомиозом было больше миоматозных узлов ($p = 0,0192$), но, как и ожидалось, наибольший диаметр узла был у женщин без аденомиоза ($p = 0,0397$). Степень фиброза самого крупного (доминантного) узла была больше при отсутствии аденомиоза ($p = 0,0344$) (Рисунок 18).

а



б

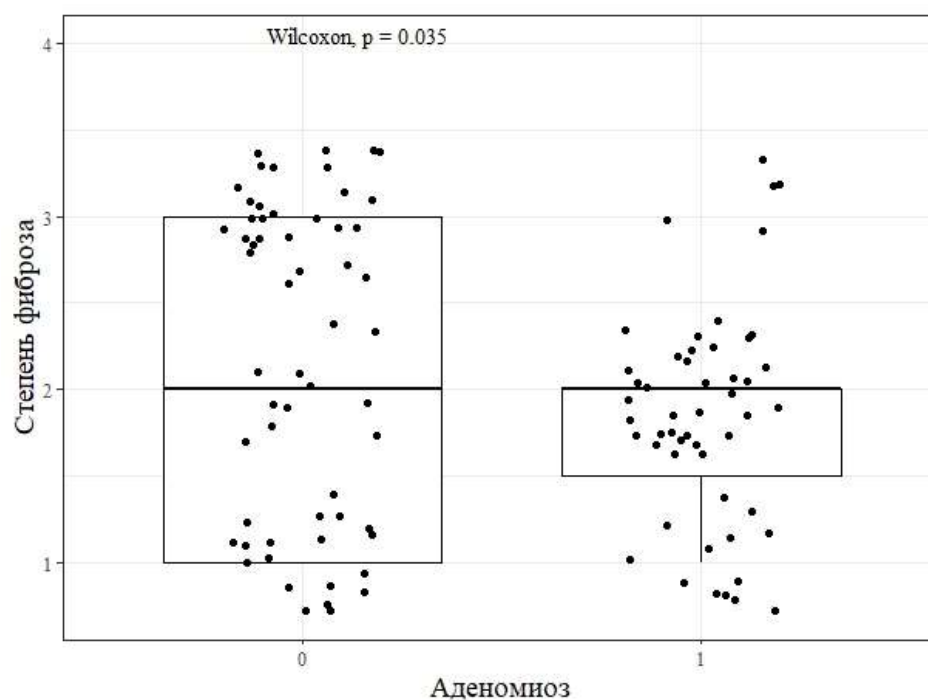


Рисунок 18 – Степень фиброза в баллах самого крупного (доминантного) миоматозного узла статистически значимо больше при наличии наружного генитального эндометриоза (НГЭ) (а, 1) и меньше – при наличии аденомиоза (б, 1) (критерий Вилкоксона). 0 – нет гетеротопий, 1 – наличие очагов гетеротопий эндометрия

Наряду с ММ, у 62 (27 %) женщин диагностирован наружный генитальный эндометриоз (НГЭ), причем у 6 из них показанием к оперативному вмешательству явилась резекция эндометриоидных гетеротопий при подготовке к ЭКО, и синхронно была выполнена миомэктомия узлов диаметром менее 50 мм.

Наружный генитальный эндометриоз статистически значимо (критерий Манна – Уитни) влиял на клинические показатели следующим образом: количество случаев с медицинскими абортами было больше при отсутствии НГЭ (что закономерно для бесплодия при НГЭ), ($p < 0,011$). У женщин без НГЭ чаще встречались гиперплазия эндометрия без атипии ($p < 0,0001$) и НОМЦ ($p < 0,0007$), однако ХЭ – чаще при наличии НГЭ ($p < 0,0001$).

Характеристики доминантного миоматозного узла в зависимости от наличия НГЭ: степень фиброза узла была больше при НГЭ ($p < 0,0001$).

Таким образом, наличие НГЭ или аденомиоза влияло на клинические проявления ММ и ряд показателей тканей узлов и миометрия, что поддерживает мнение о разном патогенезе двух форм эндометриоидной болезни несмотря на их исходно «гиперпролиферативный характер» [120].

Экспрессия PgR в перифокальном миометрии больше у женщин без аденомиоза, а для миоматозных узлов и образцов с наличием НГЭ статистической значимости отличий на данной выборке не установлено.

Далее был проведен поиск закономерностей между фенотипическими характеристиками пациенток и молекулярно-биологическими показателями образцов их операционного материала. У большинства пациенток ИМТ был менее 30 кг/м^2 , и экспрессия VEGF на парафиновых срезах миометрия составляла от 1,5 до 4,5 % площади. Ожирение чаще сопровождалось более высокой экспрессией, но линейность зависимости редуцировалась. Поэтому показатель ИМТ слабо положительно коррелировал с экспрессией VEGF и только в перифокальном миометрии (коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,265$, ДИ 0,0341; 0,47; $p = 0,0253$) (Рисунок 19).

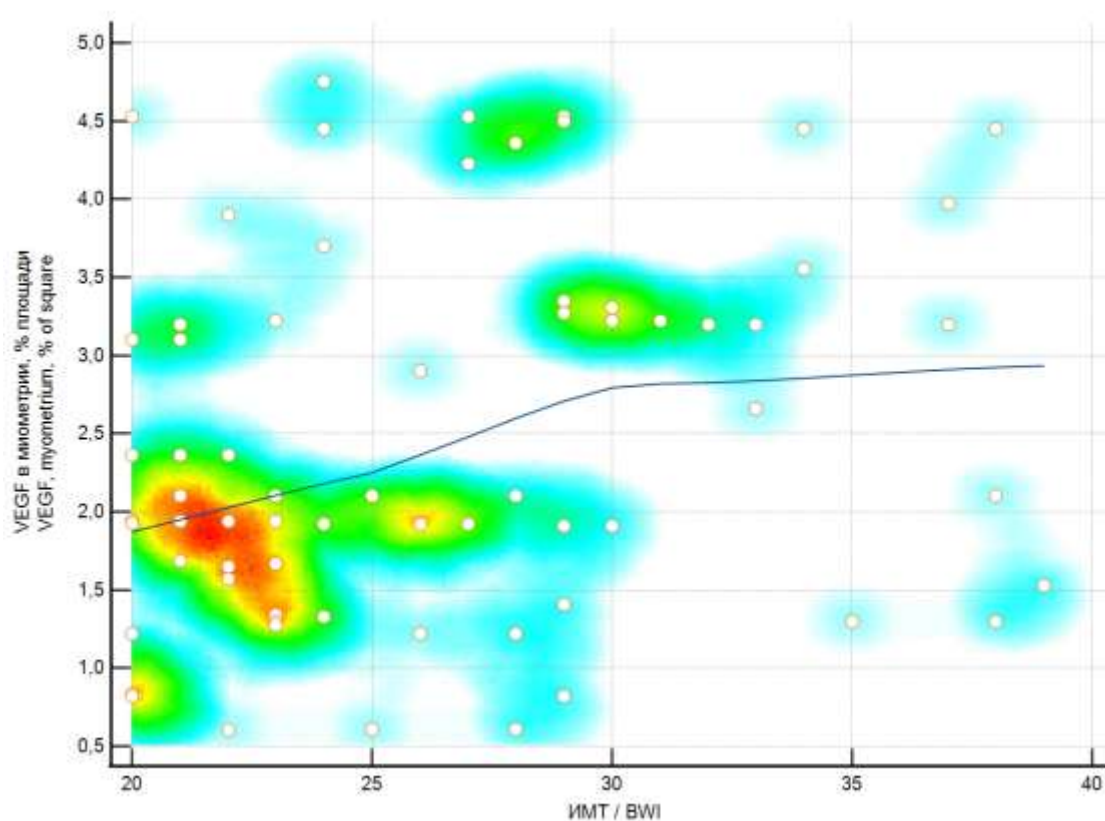


Рисунок 19 – Экспрессия VEGF в перифокальном миометрии пациенток с ММ слабо положительно коррелирует с их индексом массы тела (ИМТ, кг/м²) ($r_s = 0,265$, ДИ [0,0341; 0,4700]; $p = 0,0253$)

Женщины с ожирением чаще других страдают от нескольких гинекологических заболеваний, таких как нарушения овариально-маточного цикла, эндометриоз, бесплодие, ММ и синдром поликистозных яичников. В нескольких эпидемиологических исследованиях у женщин ММ в пременопаузе изучали корреляцию с ИМТ, в результате была выявлена либо повышенная прямая, либо нелинейная связь [155]. Этой связи способствуют несколько факторов, включая изменения метаболизма эстрогенов, резистентность к инсулину и усиление процессов воспаления, фиброза и ангиогенеза [43].

Ангиогенез принято считать одним из ведущих факторов прогрессирования опухолевого роста, однако для ММ данные противоречивы. В данной работе показано, что отношение стимулированного ПА и базового уровня продукции

VEGF в доминантном узле (ИБПА) слабо положительно коррелировало с количеством миоматозных узлов ($r_s = 0,451$, ДИ [0,139; 0,682]; $p = 0,006$) (Рисунок 20). Поскольку ИБПА является соотношением спонтанной и экзогенно индуцированной неспецифической продукции факторов роста и цитокинов, он позволяет нивелировать существующие различия между содержанием клеток в образце опухоли, которые невозможно нивелировать при инкубации *in vitro*.

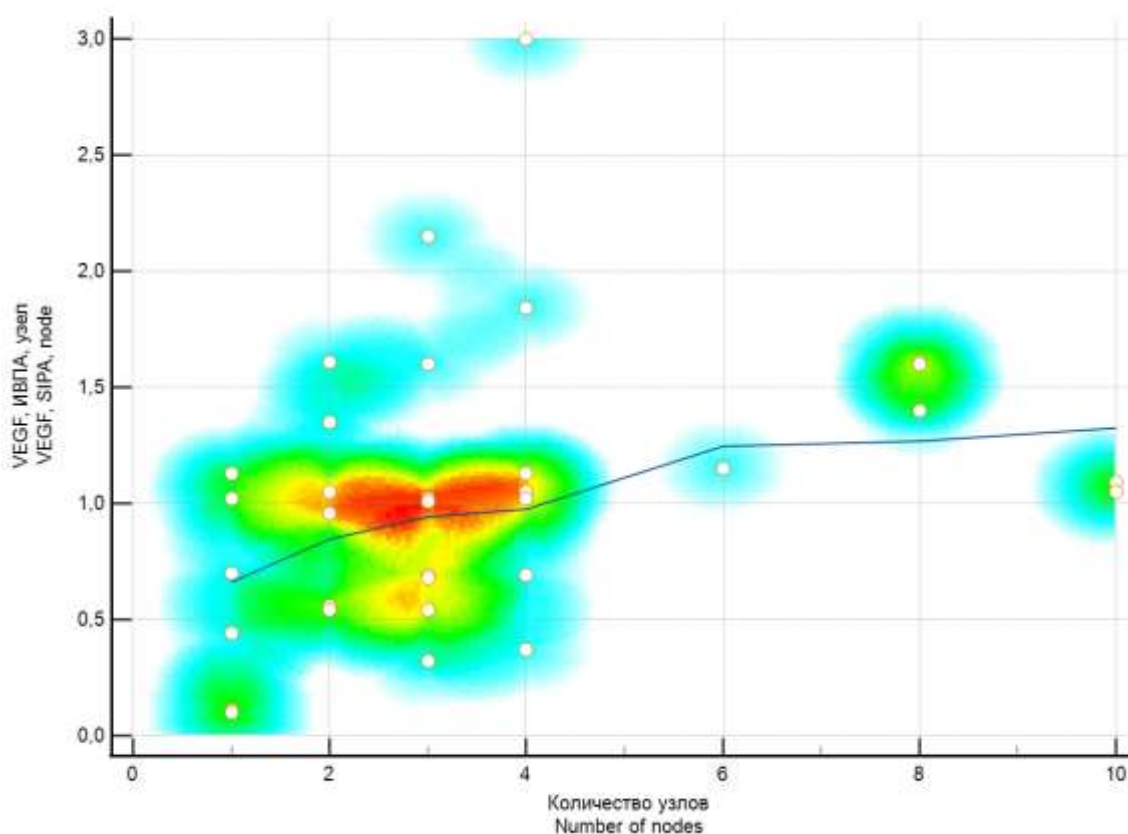


Рисунок 20 – Количество миоматозных узлов слабо положительно коррелировало с индексом влияния поликлональных активаторов (ИБПА) на продукцию VEGF в доминантном узле *in vitro* ($r_s = 0,451$, ДИ [0,139; 0,682]; $p = 0,006$)

Невысокий индекс корреляции (см. Рисунок 20) может свидетельствовать о стабильности продукции VEGF в условиях гипоксии миоматозного узла. Гипоксия индуцирует опосредованную транскрипционным фактором HIF1 активацию генов VEGF, аденомедулина и эндотелина-1 в клетках миомы [203];

и опухолевые миоциты могут пролиферировать в условиях гипоксии, в отличие от нетрансформированных клеток миометрия.

Таким образом, выявлен ряд корреляций между клинико-лабораторными показателями и VEGF как одним из маркеров ангиогенеза в операционном материале пациенток с ММ. Степень фиброза в доминантном миоматозном узле статистически значимо больше при наличии НГЭ и меньше – при наличии аденомиоза. Экспрессия VEGF в перифокальном миометрии пациенток с ММ слабо положительно коррелирует с их ИМТ. Количество миоматозных узлов слабо положительно коррелировало с ИВПА на продукцию VEGF в доминантном узле *in vitro*.

Результаты раздела 3.3 опубликованы:

1. Корреляции между клинико-лабораторными показателями и маркерами ангиогенеза и фиброза в операционном материале при миомэктомии / Д. А. Соляников, Л. А. Пивень, А. В. Волчек [и др.] // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2023. – Т. 7, № 3. – С. 109–122.

2. Исследование влияния ожирения на маркеры ангиогенеза в миометрии у пациенток с миомой матки / В. К. Бабичев, Д. А. Соляников, И. О. Маринкин, С. В. Айдагулова // Материалы I Всероссийской науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, посв. памяти акад. Г. М. Савельевой : Савельевские чтения, 15 нояб. 2024 г. – Москва, 2025. – С. 88.

3.4 Продукция *in vitro* фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в миометрии и миоматозном узле при использовании селективного модулятора прогестероновых рецепторов

Данный раздел работы посвящен ИФА-изучению продукции VEGF в доминантном миоматозном узле и перифокальном миометрии у пациенток репродуктивного возраста с множественной симптомной ММ без гормонотерапии (1-я группа) и в условиях предоперационного применения УА (2-я группа).

У женщин 1-й группы, по данным историй болезни, в клинической картине без гормонотерапии доминировали нарушения цикла – преимущественно АМК, которые сопровождались болевым синдромом и анемией средней степени тяжести (Таблица 3). Как и ожидалось, объем матки и диаметр доминирующего узла у женщин 1-й группы (без назначения УА) перед операцией не изменились. После оперативного лечения среди пациенток 1-й группы значительно уменьшилось число женщин с АМК, однако снижение содержания гемоглобина крови и редукция болевого синдрома не были статистически значимыми.

Таблица 3 – Характеристика пациенток с множественной симптомной миомой матки до и после применения УА

Клинические особенности пациенток	Группа 1 (без гормонотерапии), n = 23		Группа 2 (терапия УА), n = 12		p между группами после операции
	перед операцией	после операции	перед операцией	после операции	
Возраст, лет	40,5 ± 3,40		39,5 ± 3,32		p = 0,624
Нарушения менструального цикла, n (%)	20 (86,9 %)	8 (34,7 %)	10 (83,3 %)	2 (16,7 %)	0,2359
	p = 0,0003		p = 0,0017		
Содержание гемоглобина в крови, г/л	96,0 ± 6,1	101,3 ± 4,2	94,3 ± 4,8	116,0 ± 4,2	p = 0,002
	p = 0,12		p = 0,004		
Болевой синдром, n (%)	18 (78,3 %)	12 (52,2 %)	9 (75,0 %)	2 (16,7 %)	p = 0,045
	p = 0,060		p = 0,006		
Параметры матки:	до терапии	перед операцией	до терапии	перед операцией	p между группами перед операцией
- объем матки (см ³)	620 ± 112	602 ± 78	623 ± 106	582 ± 82	p = 0,004
	p=0,62		p=0,001		
- диаметр самого крупного (доминантного) узла (см)	6,2 ± 2,1	5,9 ± 3,2	6,0 ± 1,5	4,9 ± 2,0	p = 0,019
	p = 0,628		p = 0,031		

Во 2-й группе пациенток, применявших УА в течение 3 мес перед миомэктомией, уменьшились не только показатели нарушений цикла, но также болевого синдрома и анемии (см. Таблицу 3), которые аналогичны результатам [133]. В отличие от 1-й группы, по данным УЗИ перед операцией объем матки и диаметр доминирующего миоматозного узла статистически значимо уменьшились по сравнению с показателями до лечения. Важно отметить, что терапия УА во 2-й группе привела к статистически значимым различиям между 1-й и 2-й группами в данной выборке пациенток по объему матки и диаметру наибольшего миоматозного узла перед плановым оперативным вмешательством.

При светооптическом исследовании доминирующие миоматозные узлы пациенток 1-й группы (без гормонотерапии) соответствовали фенотипу «простой миомы» [11] с разнонаправленными пучками опухолевых миоцитов и варьирующим количеством внеклеточного матрикса. У пациенток 2-й группы, применявших перед операцией УА, фрагменты доминирующего узла представлены пучками дистрофически измененных миоцитов с оптически светлой цитоплазмой и кариорексисом. Перифокальный миометрий в образцах обеих групп пациенток был представлен пучками гетерогенных гладкомышечных клеток с различной долей соединительной ткани и варьирующей по плотности периваскулярной клеточной инфильтрацией с доминированием макрофагов и лимфоцитов (Рисунок 21).

При балльной оценке количества миоцитов (или «клеточности опухолевого узла») сравнительный анализ двух групп по Манну – Уитни не выявил статистически значимых различий ($p = 0,684$). Не выявлены различия по выраженности фиброзной компоненты миоматозных узлов, оцениваемой на окрашенных по ван Гизону препаратах ($p = 0,075$), хотя медиана 2-й группы (2,25) была несколько выше, чем в 1-й (2,00). При балльном сравнении степени воспалительно-клеточной инфильтрации (ВКИ) выявлена ее меньшая плотность у пациенток 2-й группы, использовавших перед операцией УА ($p = 0,020$).

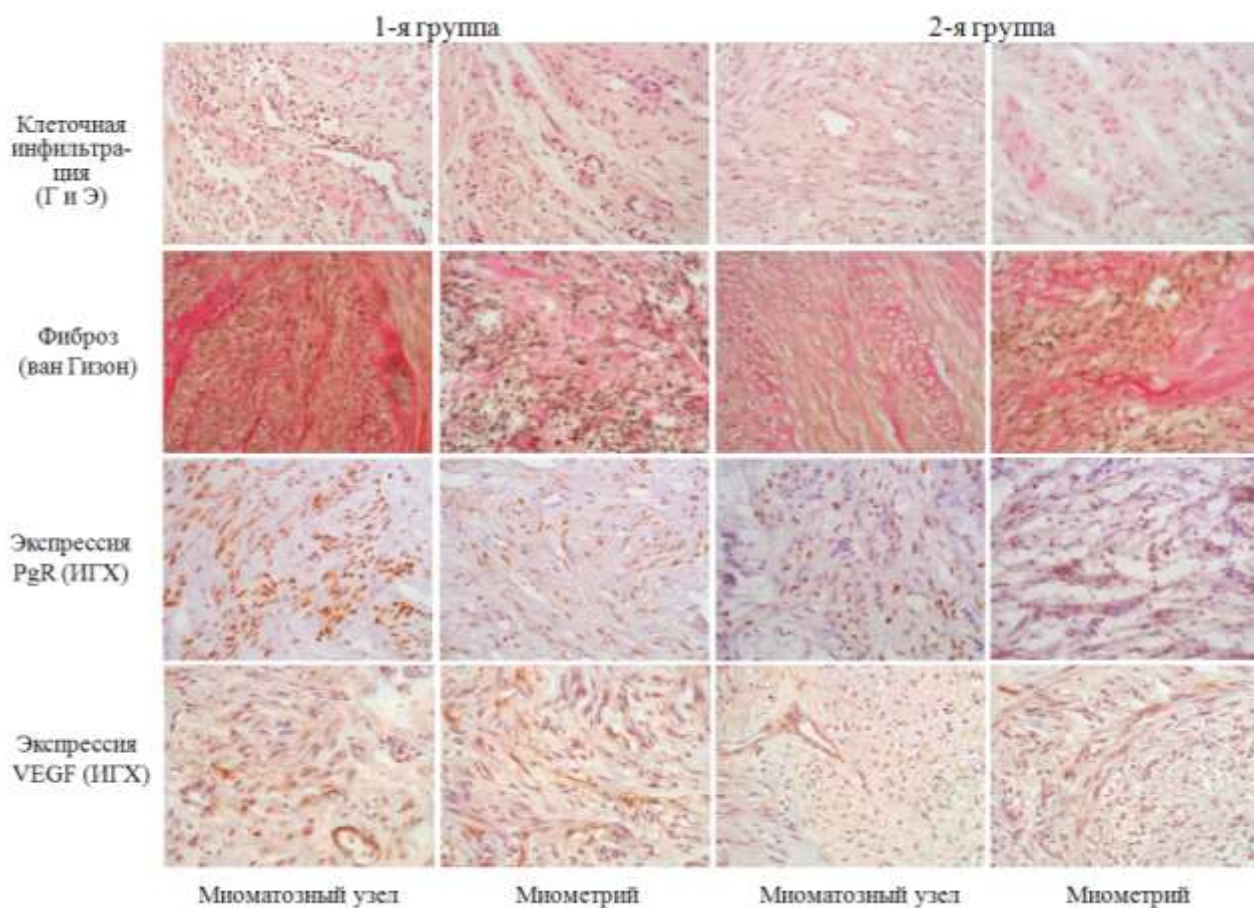


Рисунок 21 – Патогистологическое (окраска гематоксилином и эозином (Г и Э) и по ван Гизону – коллагеновые волокна красного цвета) и иммуногистохимическое (экспрессия PgR и VEGF, продукты реакции коричневого цвета) исследование образцов доминантных миоматозных узлов и перифокального миометрия у пациенток репродуктивного возраста с ММ без гормонотерапии (1-я группа) и в условиях применения УА - селективного модулятора PgR (2-я группа). Ув. 400

В 1-й группе корреляционный анализ по Спирмену выявил закономерную сильную отрицательную корреляцию между «клеточностью» узла и его фиброзом: $r_s = -0,813$ ($p < 0,0001$; ДИ от $[-0,918; -0,603]$) и положительную средней силы – между «клеточностью» узла и наличием воспалительной инфильтрации: $r_s = 0,613$ ($p = 0,002$; ДИ $[0,269; 0,819]$). При этом фиброз и инфильтрация имели обратную умеренную корреляцию между собой: $r_s = -0,618$ ($p = 0,002$; ДИ $[-0,821; -0,276]$). Во 2-й группе, как и в 1-й, с близкими

значениями выявлена отрицательная корреляция между «клеточностью» узла и его фиброзом: $r_s = -0,877$ ($p < 0,001$; ДИ $[-0,973; -0,692]$); но в отличие от 1-й группы, корреляции с инфильтрацией и другие зависимости между гистологическими характеристиками отсутствовали.

Иммуноферментное исследование продукции VEGF клеточными элементами доминирующих миоматозных узлов и перифокального миометрия во всех случаях продемонстрировало, что содержание VEGF в супернатантах среды инкубации превышало нижний предел чувствительности используемых наборов реагентов. В 1-й группе ИВПА в среде инкубации миоматозного узла был достоверно меньше, чем в среде перифокального миометрия. Аналогичные данные получены во 2-й группе пациенток, принимавших УА в течение трех овариально-менструальных циклов перед миомэктомией (Таблица 4).

Таблица 4 – Показатели продукции VEGF (ИВПА) в доминантном миоматозном узле и перифокальном миометрии

Показатели	Группа 1 (без гормональной терапии)		Группа 2 (терапия УА)	
	Узел	Миометрий	Узел	Миометрий
$M \pm SD$	$1,10 \pm 0,66$	$1,25 \pm 0,70$	$0,77 \pm 0,43$	$(1,33 \pm 0,77)^*$
Min	0,10	0,12	0,32	0,21
Max	3,0	2,53	1,35	2,3
Me (Q_1 – Q_3)	1,02 (0,68–1,55)	1,08 (0,76–1,75)	0,44 (0,35–1,09)	0,93 (0,31–1,80)
Примечание: * – отличие от величины ИВПА в доминантном миоматозном узле статистически значимо при $p = 0,026$; Me – медиана, Q_1 – нижний квартиль, Q_3 – верхний квартиль.				

Далее сравнили показатели продукции VEGF (по содержанию в среде инкубации) в зависимости от отсутствия/наличия влияния УА. По сравнению с контрольной 1-й группой, во 2-й группе продукция VEGF была достоверно меньше в миоматозных узлах, однако в среде инкубации перифокального миометрия влияние УА не выявлено – показатели 1-й и 2-й групп не различались ($p = 0,84$).

Полученные нами результаты свидетельствуют о вероятном сохранении проопухолевого потенциала миометрия у пациенток с множественной симптомной ММ. Применение пациентками репродуктивного возраста селективного модулятора прогестероновых рецепторов по стандартной схеме перед оперативным лечением вызывает снижение продукции VEGF клетками миоматозных узлов и не влияет на перифокальный миометрий, что наряду с другими факторами лежит в основе мультифокального роста ММ.

По итогам данного раздела опубликовано:

Клинические и гистологические особенности миомы матки у женщин репродуктивного возраста в условиях применения селективного модулятора прогестероновых рецепторов / И. О. Маринкин, Л. А. Пивень, А. В. Волчек, [и др., в том числе Д. А. Соляников] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2020. – Т. 40, № 1. – С. 39–44.

3.5 Продукция цитокинов *in vitro* в доминантных миоматозных узлах и миометрии у пациенток репродуктивного возраста с миомой матки

В разделе представлены результаты статистического анализа взаимосвязей между продукцией ГМ-КСФ, VEGF и содержанием 17-ОН-Pr в доминантных миоматозных узлах и перифокальном миометрии в условиях спонтанной (базовой) и стимулированной ПА продукции *in vitro*, т. е. при инкубации фрагментов нативной ткани, а также взаимосвязей экспрессии VEGF и 17-ОН-Pr в этих компартментах матки.

С помощью критерия Спирмена изучены взаимосвязи между гистологическими и молекулярно-биологическими параметрами миоматозных узлов и миометрия в каждой группе. Важно отметить, что показатели базовой продукции ГМ-КСФ и VEGF в миоматозных узлах и перифокальном миометрии, оцениваемые по супернатантам, очень редко демонстрировали взаимозависимости и корреляционные связи с другими данными, и наибольшее количество прямых и отрицательных корреляций имели показатели стимулированной ПА продукции

сигнальных молекул и их ИВПА.

В 1-й группе имела место умеренная отрицательная корреляция между «клеточностью» миоматозного узла и экспрессией в нем PgR: $r_s = -0,493$ ($p = 0,017$; ДИ $[-0,752; -0,101]$), при этом клеточная инфильтрация в узле положительно коррелировала с экспрессией PgR, но не в узле, а в миометрии пациенток данной группы: $r_s = 0,460$ ($p = 0,027$; ДИ $[0,058; 0,733]$). Выраженность фиброза в миоматозном узле умеренно отрицательно коррелировала с содержанием VEGF в супернатанте узла: $r_s = -0,497$ ($p = 0,016$; ДИ $[-0,755; -0,107]$). Содержание в супернатанте миометрия стимулированной ПА продукции ГМ-КСФ умеренно положительно коррелировало с ИВПА VEGF в супернатанте миометрия: $r_s = 0,464$ ($p = 0,026$; ДИ $[0,064; 0,736]$). Другие пары показателей характеризовались еще более низкими значениями коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Во 2-й группе «клеточность» миоматозного узла прямо коррелировала и с базовым содержанием VEGF в супернатанте узла ($r_s = 0,858$, $p < 0,001$; ДИ $[0,241; 0,914]$), и в супернатанте индуцированного ПА миометрия ($r_s = 0,706$, $p = 0,01$; ДИ $[0,434; 0,943]$). Соответственно, поскольку выше отмечена сильная отрицательная корреляция между «клеточностью» узла и его фиброзом, то степень фиброза миоматозного узла отрицательно коррелировала и с базовым содержанием VEGF в супернатанте узла ($r_s = -0,824$, $p = 0,001$; ДИ $[-0,914; -0,241]$), и с показателем в супернатанте индуцированного ПА миометрия ($r_s = -0,802$, $p < 0,001$; ДИ $[-0,943; -0,433]$); в свою очередь, содержание стимулированного ПА VEGF в супернатанте миометрия имело сильную положительную корреляцию с его фоновым показателем в узле: $r_s = 0,895$, $p < 0,001$; ДИ $[0,766; 0,981]$.

Кроме того, во 2-й группе выявлена прямая умеренная зависимость между ИВПА на продукцию ГМ-КСФ в опухолевом узле и перифокальном миометрии: $r_s = 0,655$ ($p = 0,021$; ДИ $[0,273; 0,919]$), а также между ИВПА на продукцию VEGF в опухолевом узле и перифокальном миометрии: $r_s = 0,800$ ($p = 0,018$; ДИ $[0,418; 0,942]$).

Экспрессия PgR в парафиновых срезах миоматозных узлов отрицательно коррелировала с ИВПА на продукцию VEGF в опухолевом узле: $r_s = -0,648$

($p = 0,023$; ДИ $[-0,891; -0,118]$) и, как следовало ожидать, со стимулированной ПА продукцией VEGF в опухолевом узле: $r_s = -0,853$ ($p < 0,001$; ДИ $[-0,958; -0,547]$). Наряду с этим, экспрессия PgR имела сильную обратную зависимость от содержания стимулированного ПА уровня ГМ-КСФ в супернатантах перифокального миометрия: $r_s = -0,874$ ($p < 0,001$; ДИ $[-0,970; -0,659]$), а также от ИВПА ГМ-КСФ в миометрии: $r_s = -0,825$ ($p = 0,001$; ДИ $[-0,955; -0,523]$).

Экспрессия PgR в парафиновых срезах перифокального миометрия отрицательно коррелировала с ИВПА ГМ-КСФ в миометрии: $r_s = -0,608$ ($p = 0,036$; ДИ $[-0,876; -0,053]$) и с ИВПА на продукцию VEGF в опухолевом узле: $r_s = -0,583$ ($p = 0,047$; ДИ $[-0,867; -0,013]$), а также прямо коррелировала с базовой продукцией VEGF в миометрии, оцениваемой по супернатантам инкубированных образцов ткани: $r_s = 0,608$ ($p = 0,036$; ДИ $[0,053; 0,876]$).

Взаимосвязи между стимулированными ПА цитокинами и показателями их ИВПА были сильно положительными для ГМ-КСФ в миометрии, для VEGF в миоматозном узле; кроме того, умеренно отрицательными для ИВПА и базовой продукции VEGF в миометрии.

ИВПА ГМ-КСФ в миометрии положительно коррелировал с ИВПА ГМ-КСФ в узле: $r_s = 0,680$ ($p = 0,015$; ДИ $[0,273; 0,919]$), с ИВПА VEGF в узле: $r_s = 0,625$ ($p = 0,029$; ДИ $[0,239; 0,914]$) и со стимулированным ПА содержанием VEGF в супернатанте узла: $r_s = 0,713$ ($p = 0,009$; ДИ $[0,236; 0,913]$). Как и следовало ожидать, стимулированная ПА продукция ГМ-КСФ в миометрии положительно коррелировала с ИВПА VEGF в миоматозном узле ($r_s = 0,583$, $p = 0,047$; ДИ $[0,241; 0,914]$) и с уровнем его стимулированной ПА продукции ($r_s = 0,748$, $p = 0,005$; ДИ $[0,306; 0,925]$); кроме того, выявлена положительная умеренная корреляция с ИВПА ГМ-КСФ в узле: $r_s = 0,680$ ($p = 0,015$; ДИ $[0,173; 0,902]$).

Стимулированная ПА продукция ГМ-КСФ в узле положительно коррелировала с ИВПА VEGF в миометрии ($r_s = 0,691$, $p = 0,013$; ДИ $[0,194; 0,906]$), а также с ИВПА VEGF в узле: $r_s = 0,734$ ($p = 0,006$; ДИ $[0,028; 0,871]$) и со стимулированным ПА содержанием VEGF в супернатанте

узла: $rs = 0,580$ ($p = 0,047$; ДИ $[0,009; 0,866]$).

С помощью критерия Вилкоксона в 1-й группе без предоперационной гормонотерапии статистически значимые попарные различия между миоматозным узлом и миометрием выявлены для стимулированной ПА продукции ГМ-КСФ (в 2 раза меньше в узле, чем в миометрии, $p = 0,045$) (Рисунок 22); а также для ИГХ экспрессии VEGF (почти в 2 раза выше в узле, чем в миометрии, $p = 0,001$) (Рисунок 23). Для остальных сравниваемых параметров, в т. ч. для содержания 17-ОН-Pr и экспрессии PgR, существенные различия не выявлены.

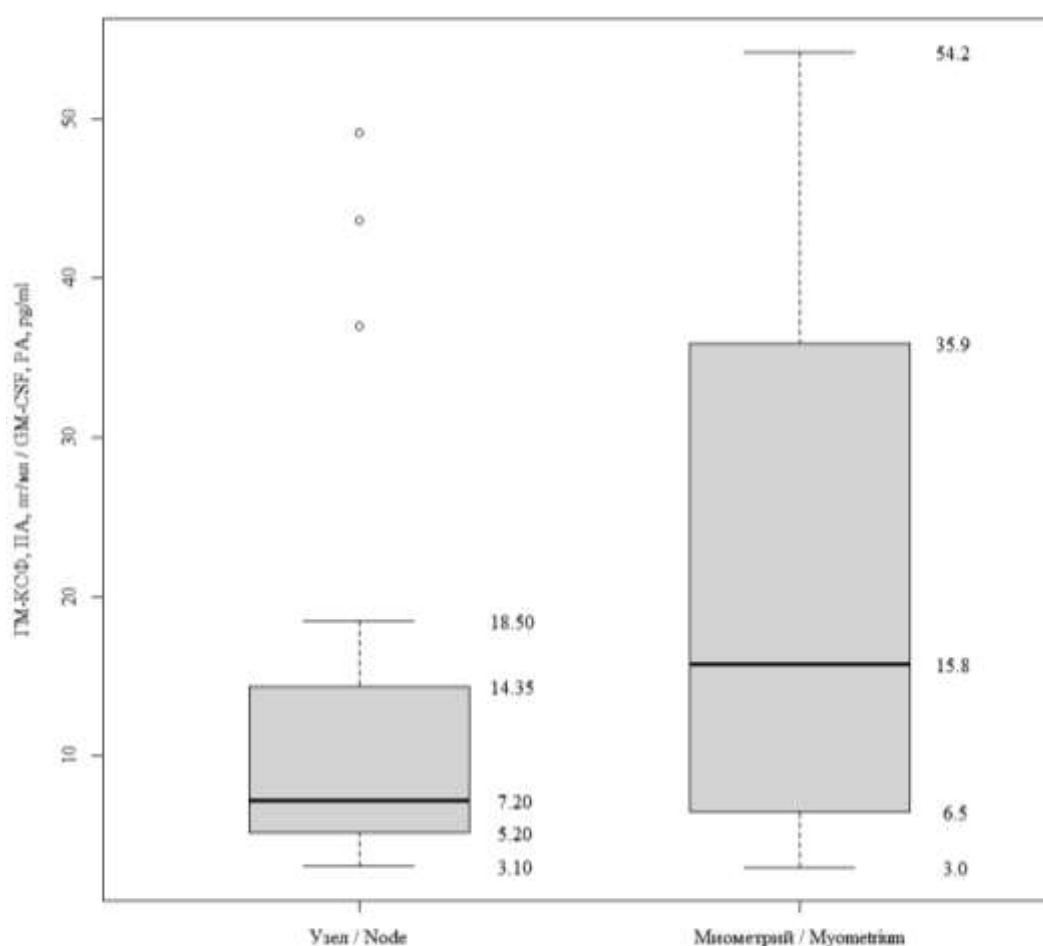


Рисунок 22 – Содержание гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) в супернатантах в условиях стимулированной поликлональными активаторами (ПА) продукции *in vitro* в 1-й группе без предоперационной гормонотерапии: в 2 раза меньше в миоматозном узле, чем в миометрии (t-критерий Вилкоксона для парных переменных, $p = 0,045$)

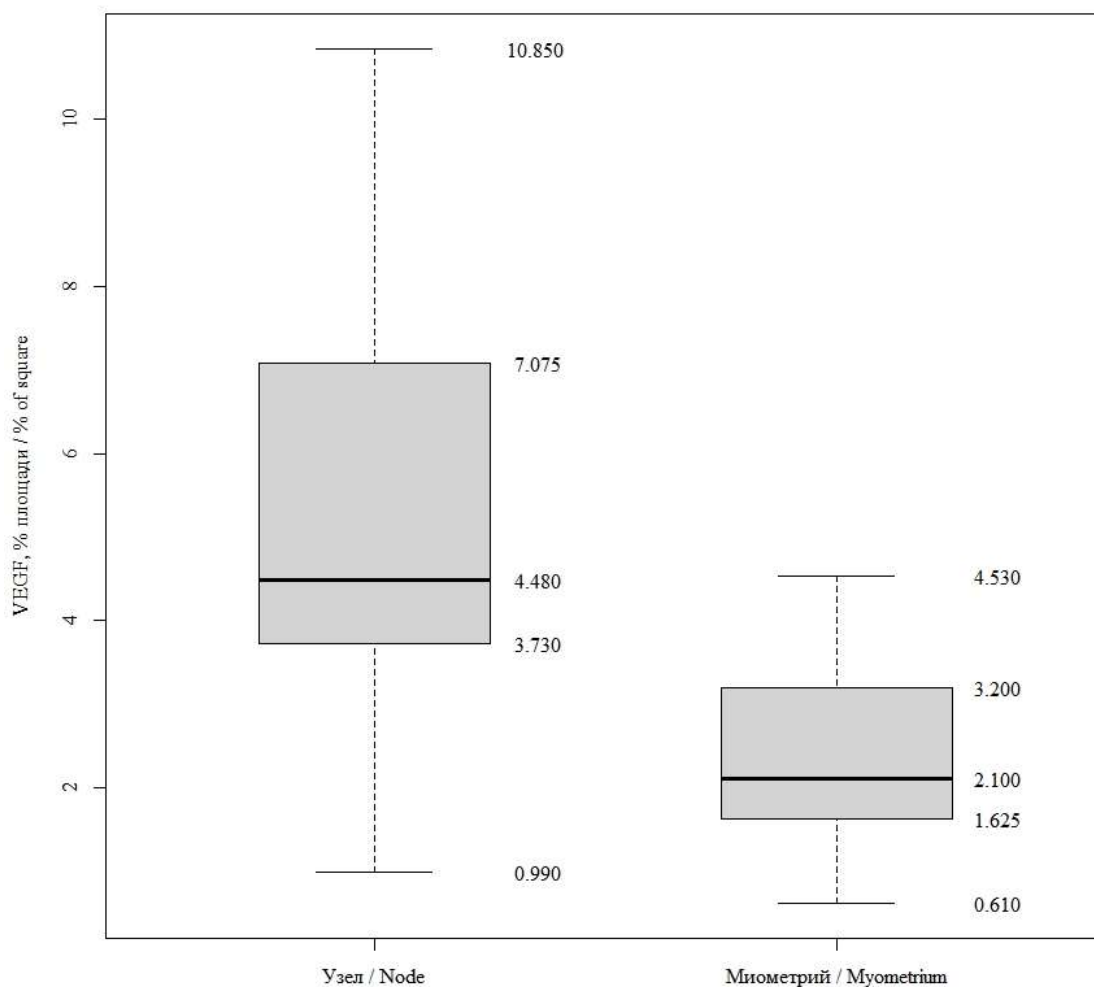


Рисунок 23 – Экспрессия VEGF в операционном материале после *in vitro* стимуляции поликлональными активаторами (ПА) 1-й группе без предоперационной гормонотерапии почти в 2 раза выше в миоматозном узле, чем в перифокальном миометрии (t-критерий Вилкоксона для парных переменных, $p = 0,001$)

У женщин 2-й группы статистически значимые попарные различия между миоматозным узлом и миометрием также выявлены для стимулированной ПА продукции ГМ-КСФ (почти в 7 раз меньше в узле, чем в миометрии, $p < 0,001$), что определило значимые различия ($p < 0,001$) при сравнении ИВПА ГМ-КСФ между показателями узла и миометрия. Другие показатели во 2-й группе при

попарном сравнении с помощью критерия Вилкоксона не имели статистической значимости.

С помощью критерия Манна – Уитни для независимых выборок проведено сравнение 1-й и 2-й групп между собой по 16 параметрам, полученным с помощью ИФА супернатантов инкубируемых образцов и ИГХ исследования парафиновых срезов операционного материала. Выявлено всего 4 статистически значимых пар различий. Наиболее показательным стало почти 2-кратное уменьшение стимулированной ПА продукции ГМ-КСФ клетками миоматозных узлов после применения УА женщинами 2-й группы по сравнению с 1-й ($p < 0,001$) (Рисунок 24), что определило и статистическую значимость отличий для ИВПА ГМ-КСФ ($p = 0,008$).

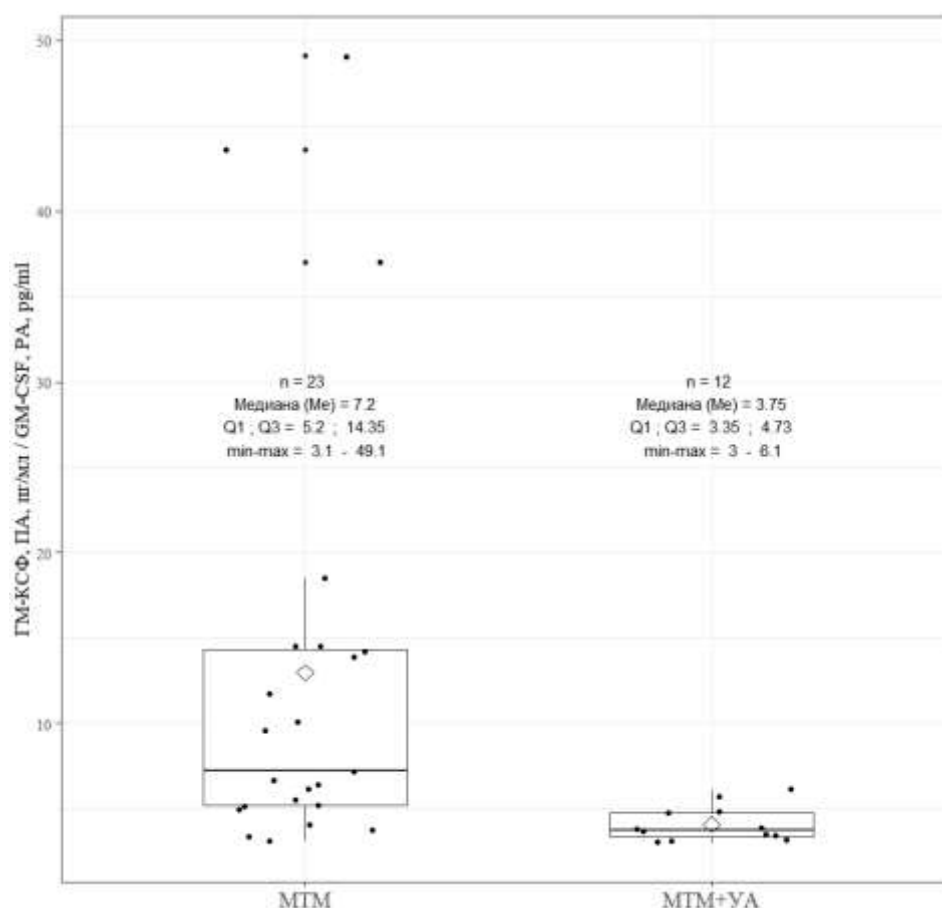


Рисунок 24 – Продукция ГМ-КСФ клетками миоматозных узлов после *in vitro* стимуляции поликлональными активаторами статистически значимо меньше во 2-й группе (MTM+УА) после применения УА по сравнению с 1-й группой (MTM – без гормонотерапии). Критерий Манна – Уитни, $p < 0,0001$

Экспрессия VEGF при ИГХ-исследовании была выше в 1-й группе по сравнению со 2-й ($p = 0,009$), но только в миоматозном узле (Рисунок 25); при этом показатели миометрия во 2-й группе после применения УА слегка превышали экспрессию в 1-й группе. И последний показатель, демонстрирующий значимые отличия 1-й и 2-й групп, – это метаболит прогестерона: ИВПА 17-ОН-Pr был ниже в образцах миометрия у женщин, применявших УА перед миомэктомией ($p = 0,002$) (Рисунок 26), однако показатели миоматозных узлов в двух группах не отличались.

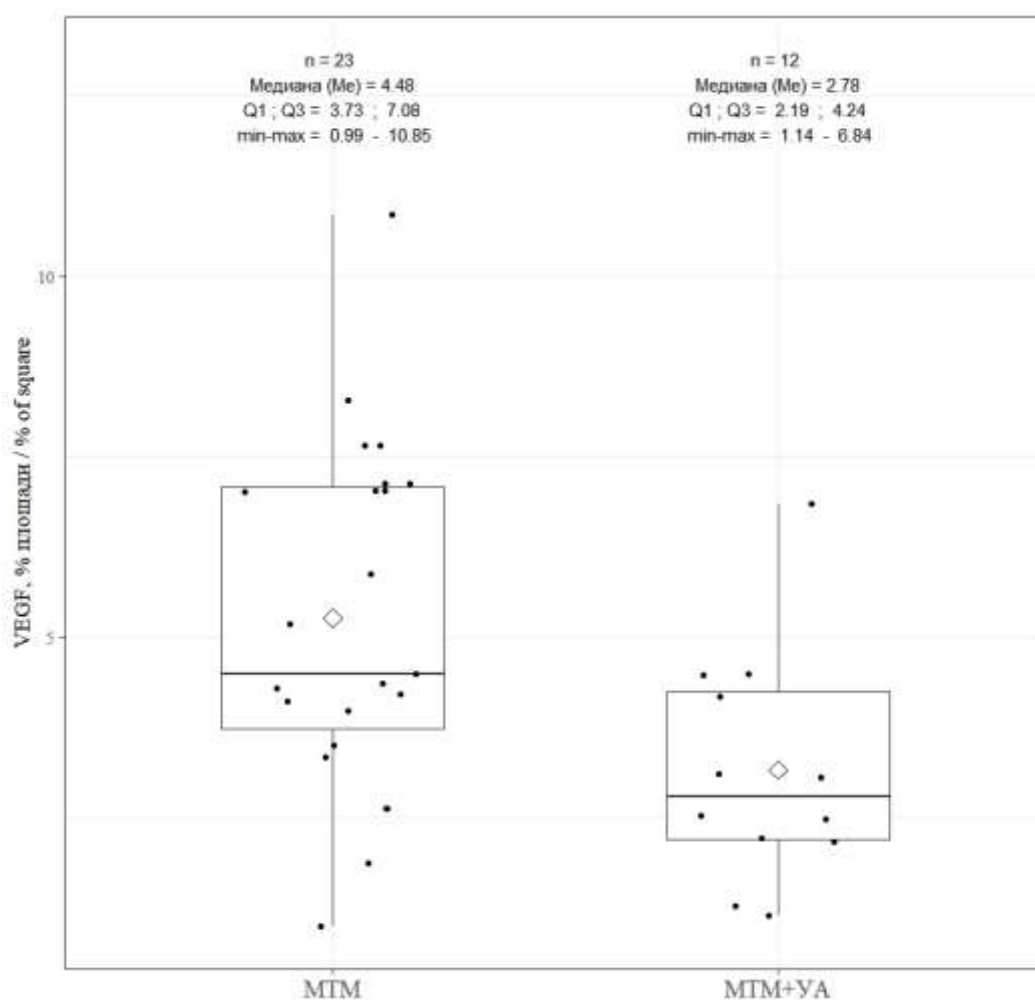


Рисунок 25 – Экспрессия VEGF в миоматозном узле при ИГХ исследовании была выше в 1-й группе (MTM) по сравнению со 2-й (MTM + УА).

Критерий Манна – Уитни, $p = 0,009$

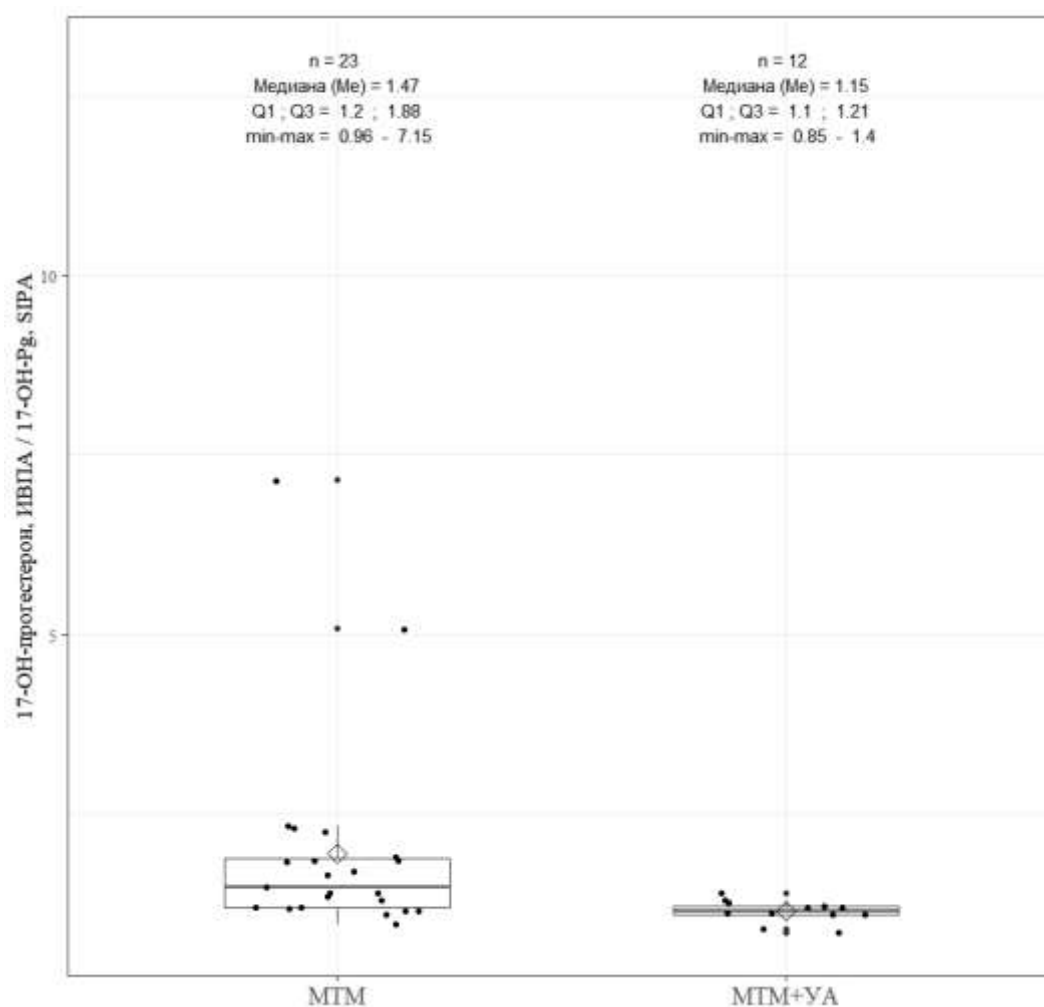


Рисунок 26 – Индекс влияния поликлональных активаторов (ИВПА) на содержание *in vitro* 17-ОН-Pr ниже в образцах миометрия у пациенток 2-й (MTM + YA) группы. Критерий Манна – Уитни, $p = 0,002$

В целом, инкубация образцов операционного материала в питательной среде с ПА позволила выявить особенности цитокинопродукции клеточных элементов лейомиом и миометрия. У пациенток без гормонотерапии выявлены статистически значимые различия для стимулированной ПА продукции ГМ-КСФ (в 2 раза меньше в узле, чем в миометрии), а также для экспрессии VEGF в тканевых образцах (в 2 раза больше в узле, чем в миометрии). Экспрессия PgR в миометрии прямо коррелировала с воспалительной инфильтрацией лейомиомы. Ответ на YA и уменьшение объема миомы может быть связан со снижением числа макрофагов и снижением иммуноэкспрессии TGF β , IL6 и IL10, что

рассматривается как важный компонент суммарного действия УА на ткань миомы матки без влияния на васкуляризацию миомы. Применение селективного модулятора PgR способствовало снижению продукции ГМ-КСФ и экспрессии VEGF в узле при отсутствии влияния на миометрий; кроме того, выявлено снижение 17-ОН-Pr в миометрии без изменения в узлах и отрицательная корреляция между экспрессией PgR и продукцией VEGF в лейомиомах.

Многочисленные исследования патогенеза миомы матки убедительно демонстрируют роль стероидного гормона прогестерона и его рецепторов, а также эстрогенов, с помощью различных методов, в частности, новых, с помощью протеомного анализа [39]. По данным С. В. Шрамко с соавт. [14], уровни экспрессии генов стероидных рецепторов в миоматозных узлах в 2–9 раз превышали их показатели в миометрии, при этом экспрессия генов PgR в узлах и миометрии была наибольшей у пациенток с «клеточной» миомой и наименьшей при наличии аденомиоза. В нашем исследовании статистически значимые отличия в экспрессии PgR между группами, а также между узлом и миометрием в каждой группе и с другими изучаемыми маркерами, не выявлены, по-видимому, в связи с доминированием «простой» миомы, а не «клеточной»; отмечен лишь более высокий ИВПА для 17-ОН-Pr в 1-й группе для миометрия по сравнению со 2-й (см. Рисунок 26) при отсутствии различий для узлов.

Выявление статистически значимо более высоких показателей стимулированной продукции ГМ-КСФ в миоматозных узлах у женщин 1-й группы по сравнению со 2-й отражает противовоспалительное воздействие УА, доказанное ранее, но отсутствие его влияния на показатели миометрия свидетельствует о торпидности и проопухолевом потенциале перифокальной мышечной ткани.

Определенные надежды на регулирование роста миоматозных узлов были связаны с подавлением экспрессии VEGF [203]. Было показано повышение экспрессии VEGF в лейомиоме по сравнению с перифокальным миометрием и миометрием женщин репродуктивного возраста без миоматозных узлов [91]. С другой стороны, опубликованы результаты ПЦР и ИФА об отсутствии различий в

уровне VEGF в миоматозных узлах массой менее 10 г и более 100 г по сравнению с перифокальным миометрием [74].

Нами у пациенток репродуктивного возраста с ММ выявлены статистически значимые реципрокные отношения между экспрессией VEGF в доминирующем узле и перифокальным миометрием, что отражает системность миоматозной трансформации с мультифокальностью опухолевого роста и потенциалом прогрессирования патологического процесса с образованием новых миоматозных узлов [26]. Кроме того, выявлена обратная зависимость между экспрессией VEGF в доминирующем узле и степенью его фиброза, что может свидетельствовать о вовлечении данного фактора роста в пролиферацию опухолевых миоцитов с ведущей ролью клеточной компоненты в противовес биосинтетической активности с продукцией компонентов ВКМ.

Результаты раздела 3.5 опубликованы:

Изучение маркеров ангиогенеза и воспаления в доминантных миоматозных узлах и миометрии / Д. А. Соляников, И. О. Маринкин, А. В. Волчек [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2022. – № 6. – С. 93–102. (Scopus).

3.6 Сравнительное исследование содержания цитокинов при инкубации ткани миометрия и миомы в условиях применения селективного модулятора пргестероновых рецепторов

Исследованы показатели продукции цитокинов в доминантном миоматозном узле и перифокальном миометрии у пациенток репродуктивного возраста на основе расчетов ИВПА.

У пациенток 1-й группы (без применения УА до оперативного лечения) в миоматозном узле и миометрии индексы влияния Ил-1 β (Рисунок 27), Ил-6 (Рисунок 28) и Ил-10 (Рисунок 29) не имели статистически значимых различий; при этом с пограничным уровнем вероятности показатели Ил-18 (Рисунок 30) и 17-оксипрогестерона (Рисунок 31) были выше в миометрии по сравнению с узлом тех же пациенток ($p = 0,046$ и $p = 0,049$ соответственно).

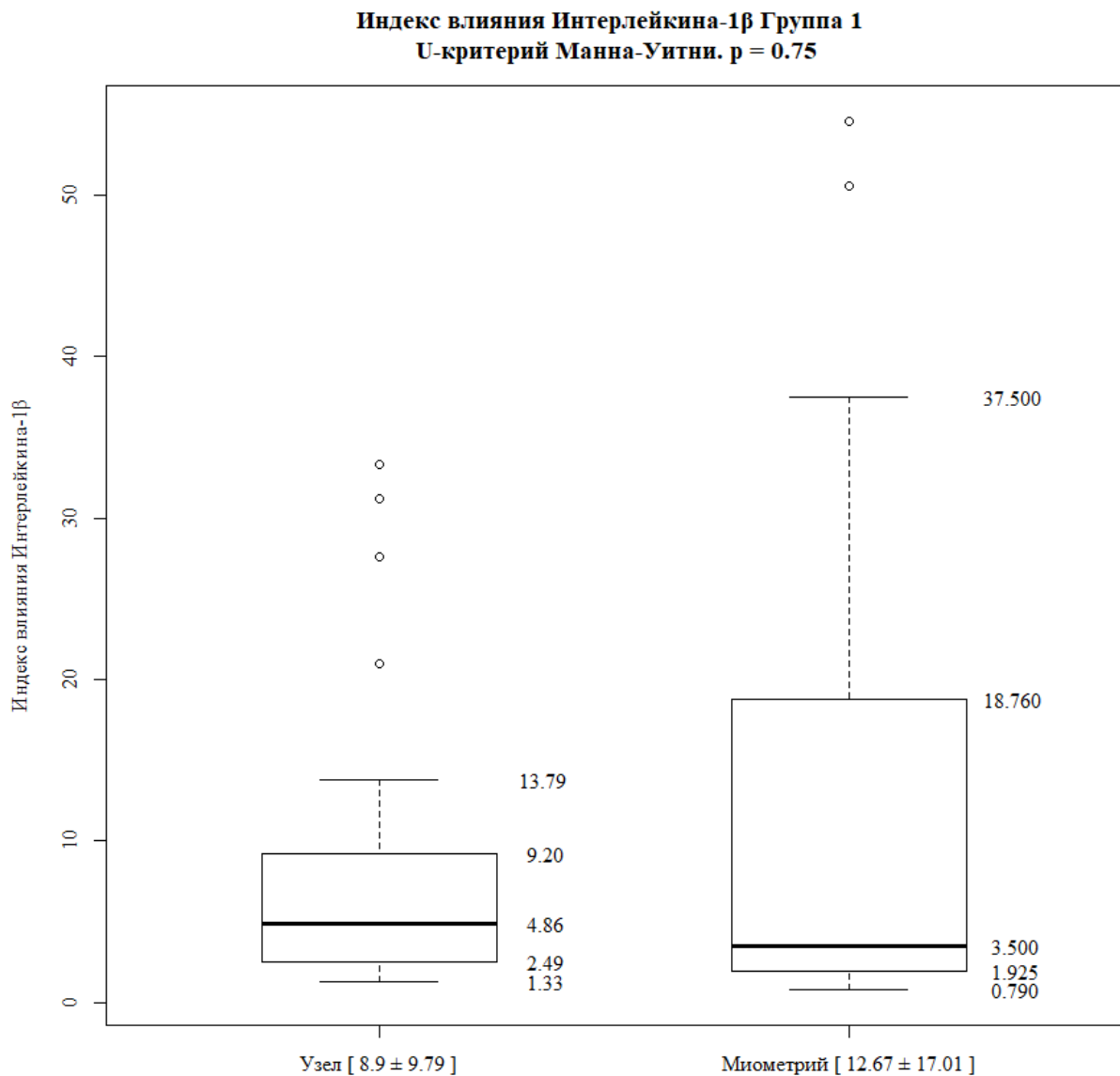


Рисунок 27 – Показатели индекса влияния для Ил-1 β у пациенток 1-й группы без предоперационной терапии. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием

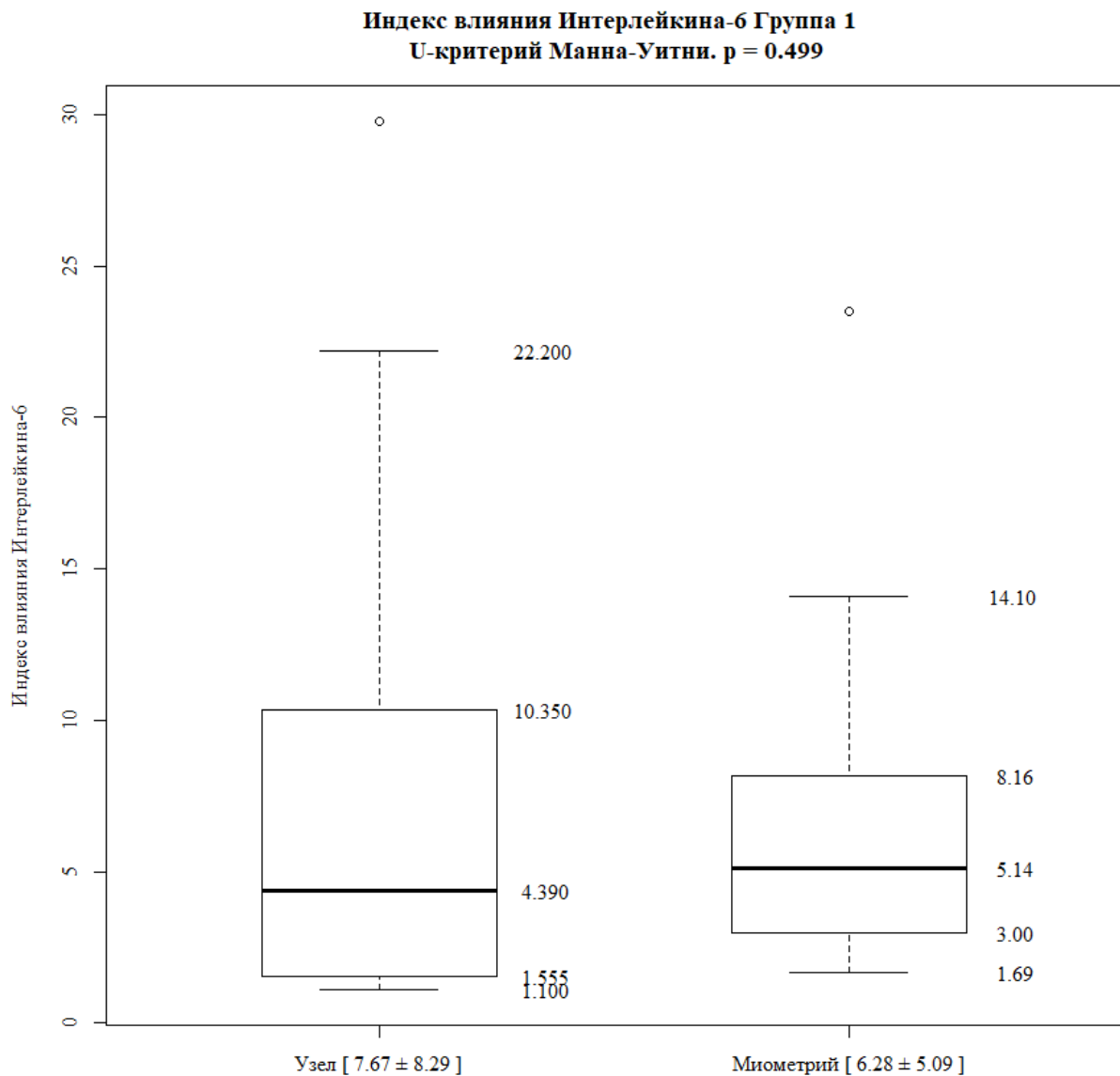


Рисунок 28 – Показатели индекса влияния для Ил-6 у пациенток 1-й группы без предоперационной терапии. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием

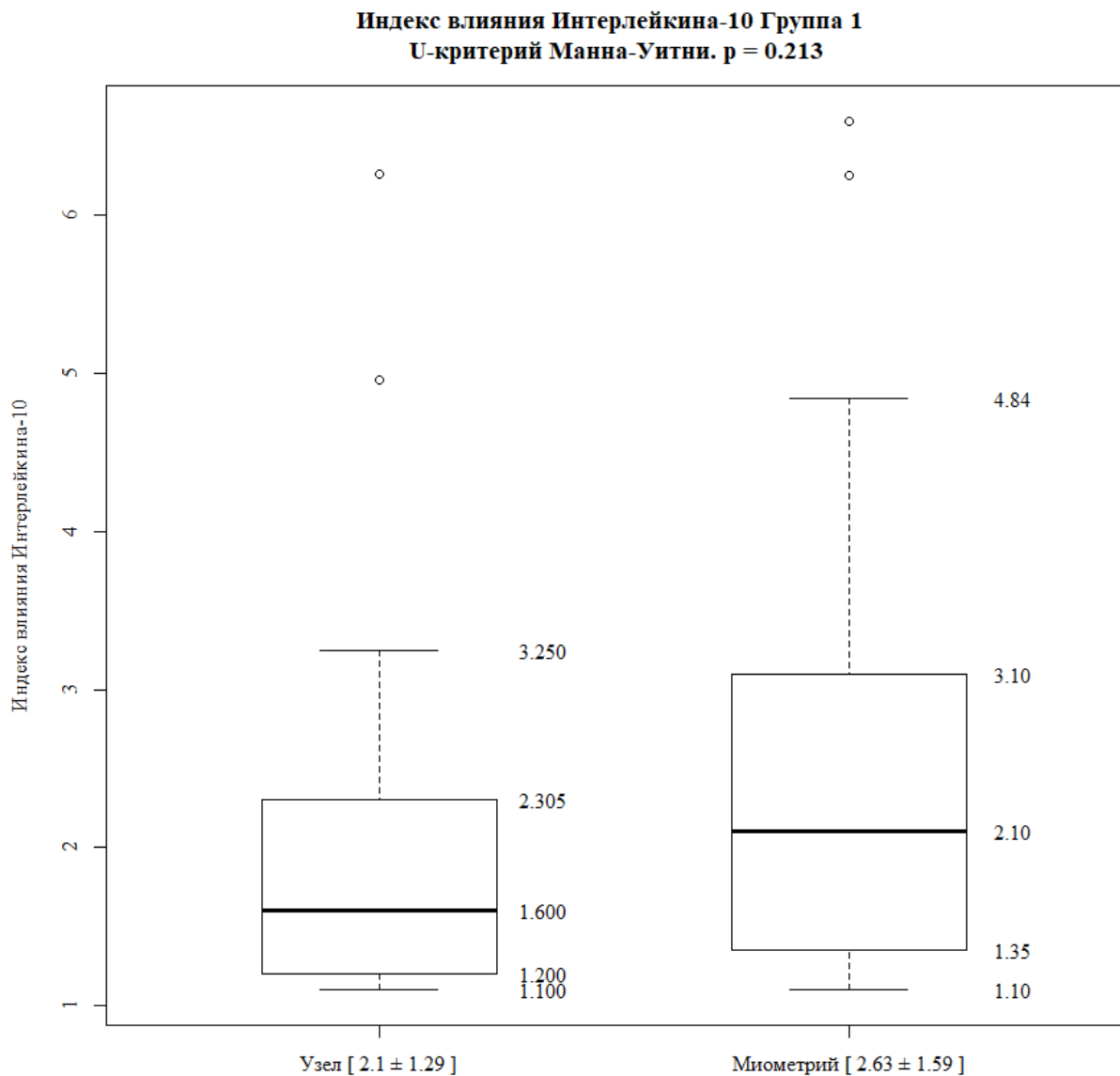


Рисунок 29 – Показатели индекса влияния для Ил-10 у пациенток 1-й группы без предоперационной терапии. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием

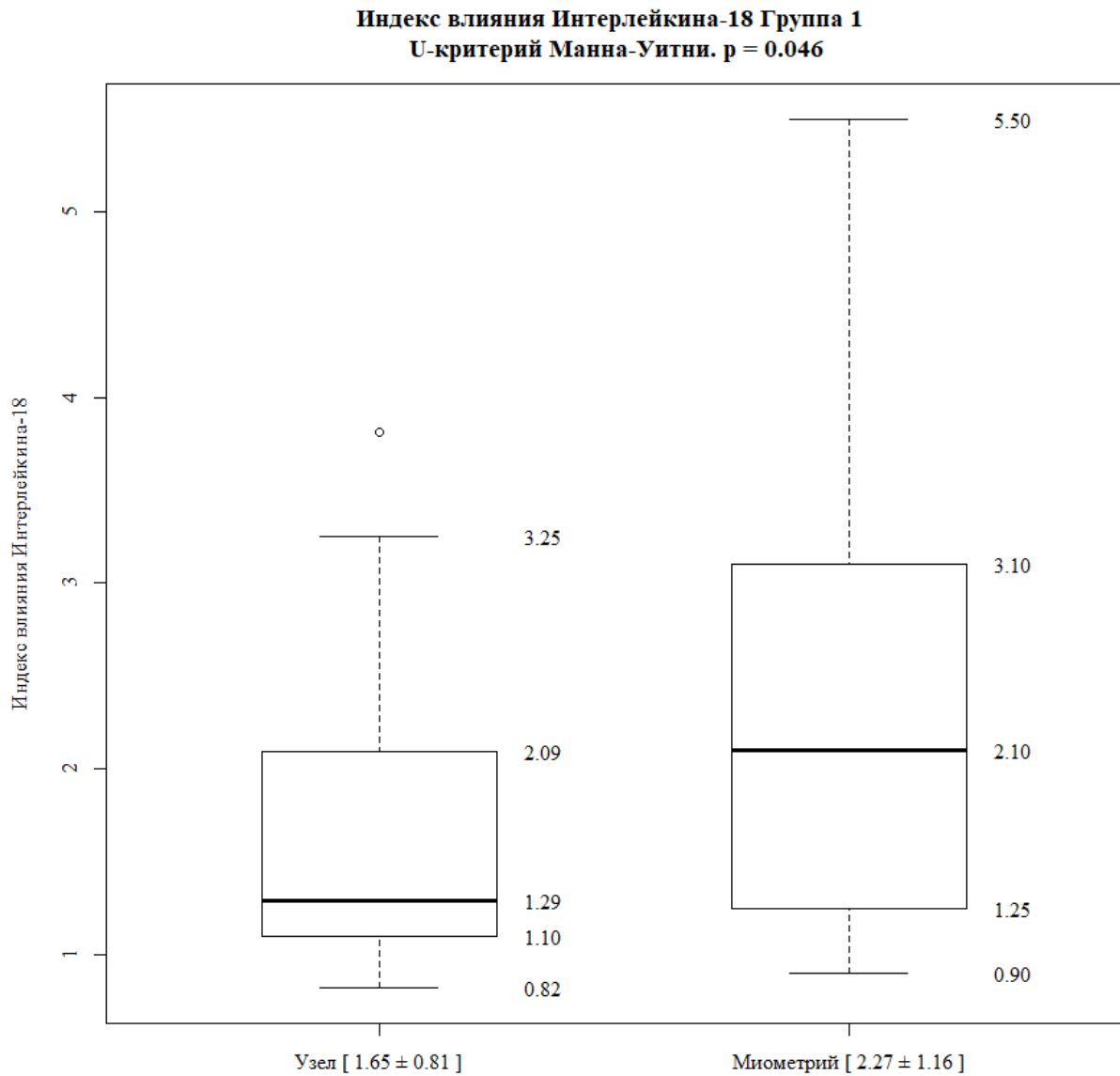


Рисунок 30 – Показатель индекса влияния для Ил-18 клеток перифокального миометрия у пациенток 1-й группы без предоперационной терапии статистически значимо превышают показатель миоматозного узла

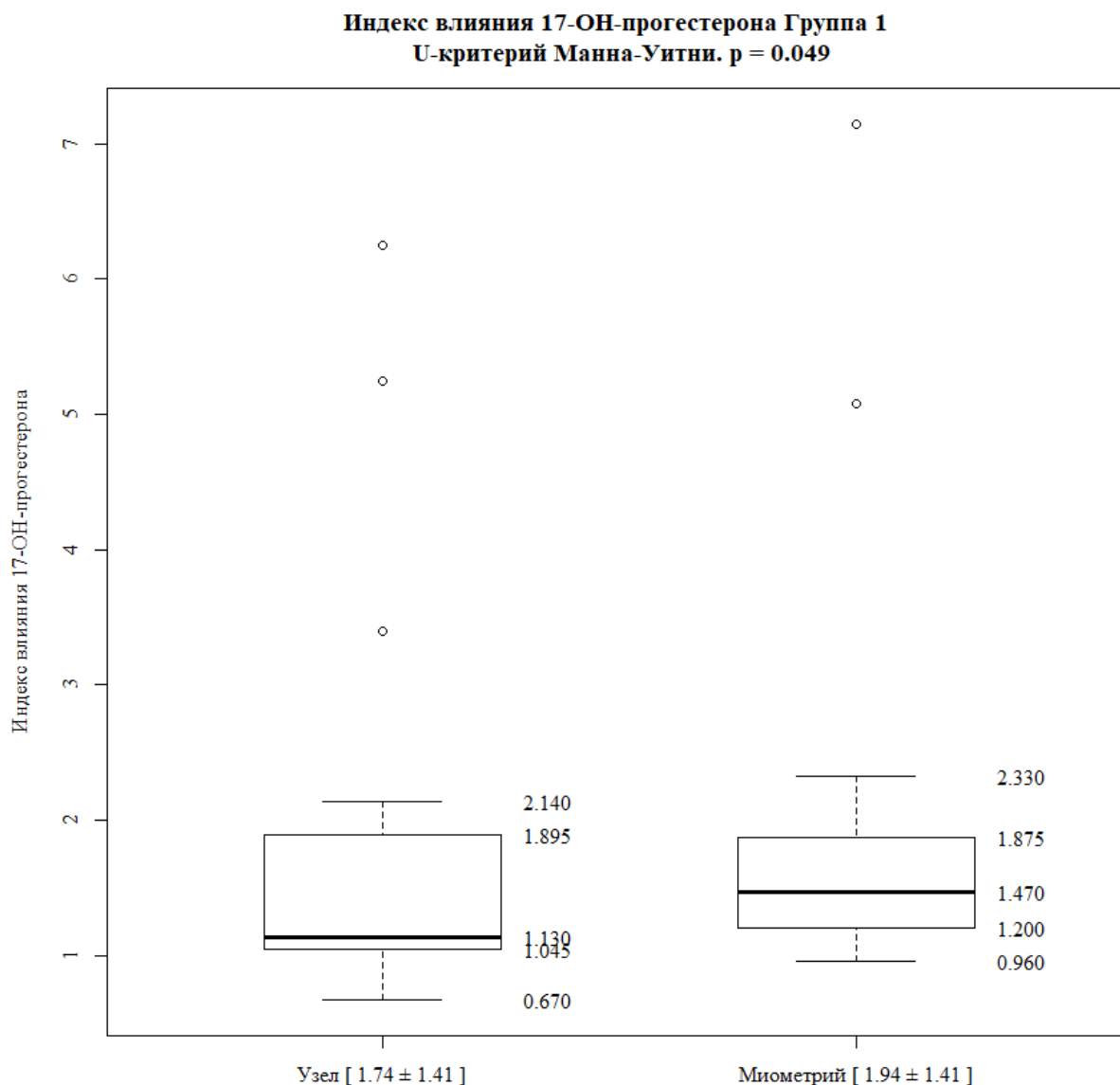


Рисунок 31 – Показатель индекса влияния для 17-ОН-прогестерона клеток перифокального миометрия у пациенток 1-й группы без предоперационной гормонотерапии статистически значимо превышали показатель миоматозного узла

У пациенток 2-й группы, принимавших УА перед миомэктомией, в миометрии по сравнению с доминантным узлом тех же пациенток статистически значимо был выше индекс влияния Ил-6 ($p < 0,001$) и Ил-10 ($p = 0,002$) (Рисунки 32, 33, 34, 35 и 36).

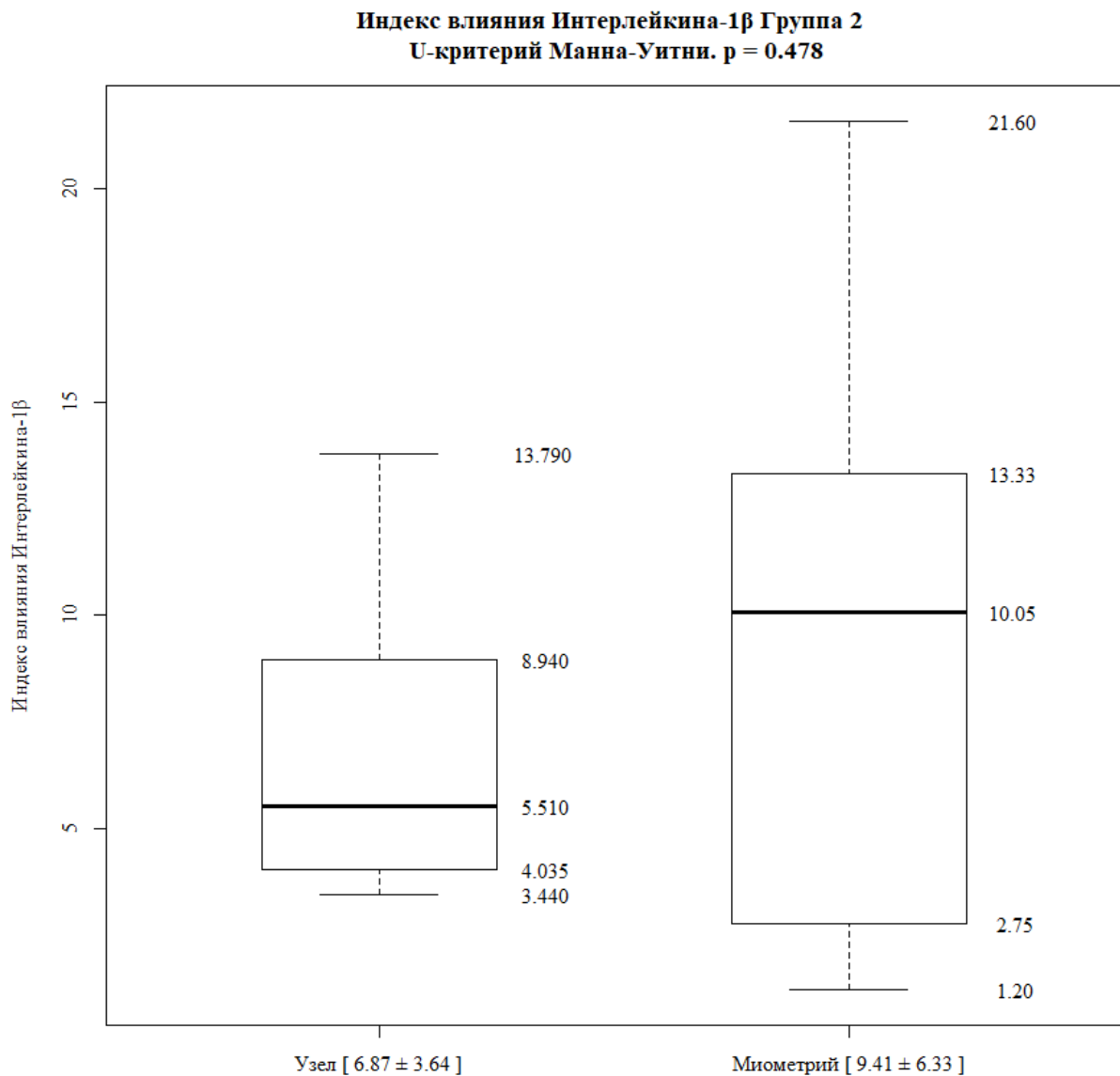


Рисунок 32 – Показатели индекса влияния для Ил-1 β у пациенток 2-й группы, принимавших УА в качестве предоперационной подготовки. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием

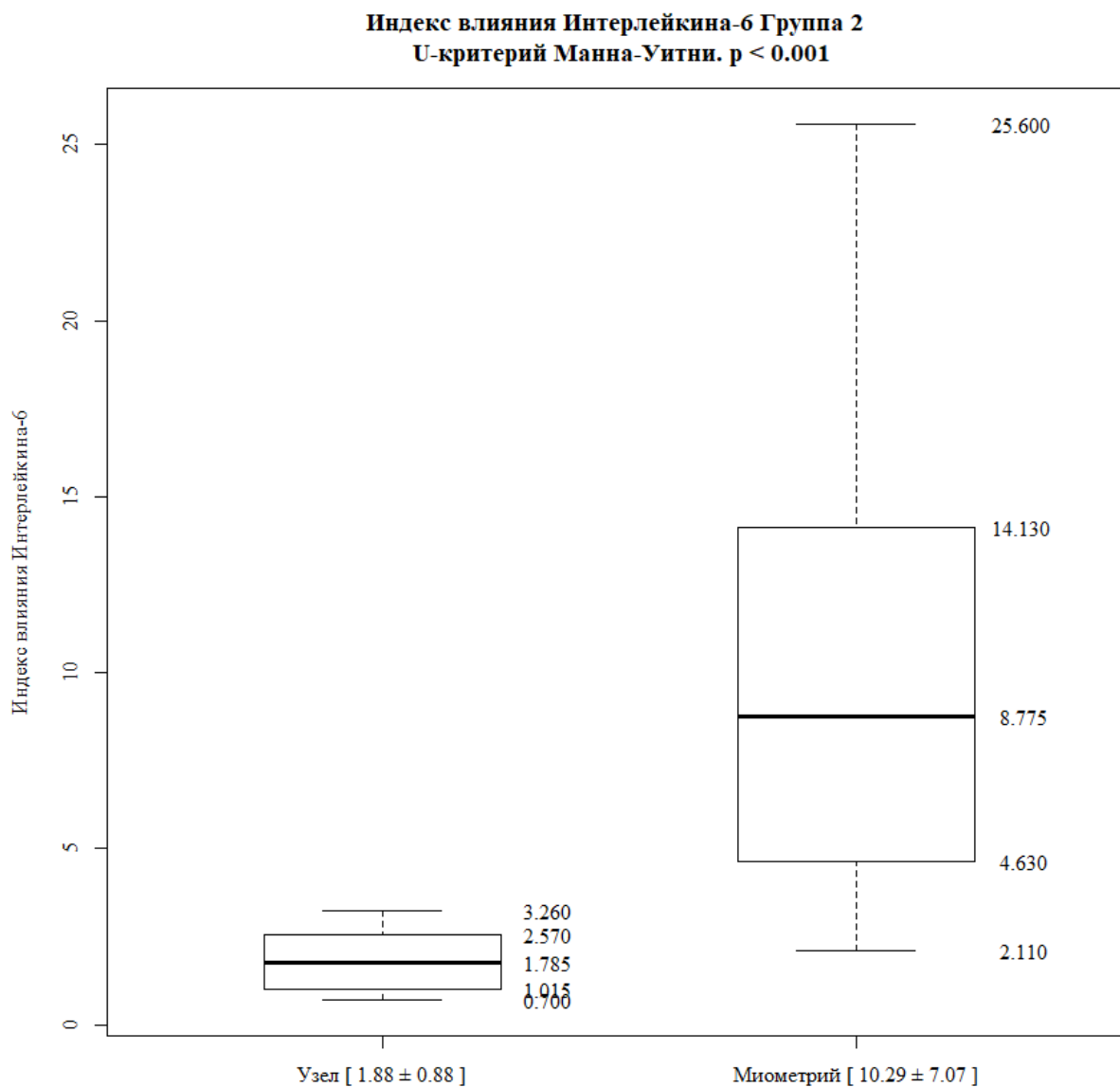


Рисунок 33 – Показатели индекса влияния миометрия для Ил-6 у пациенток 2-й группы, принимавших УА в качестве предоперационной подготовки, статистически значимо превышают показатель миоматозного узла

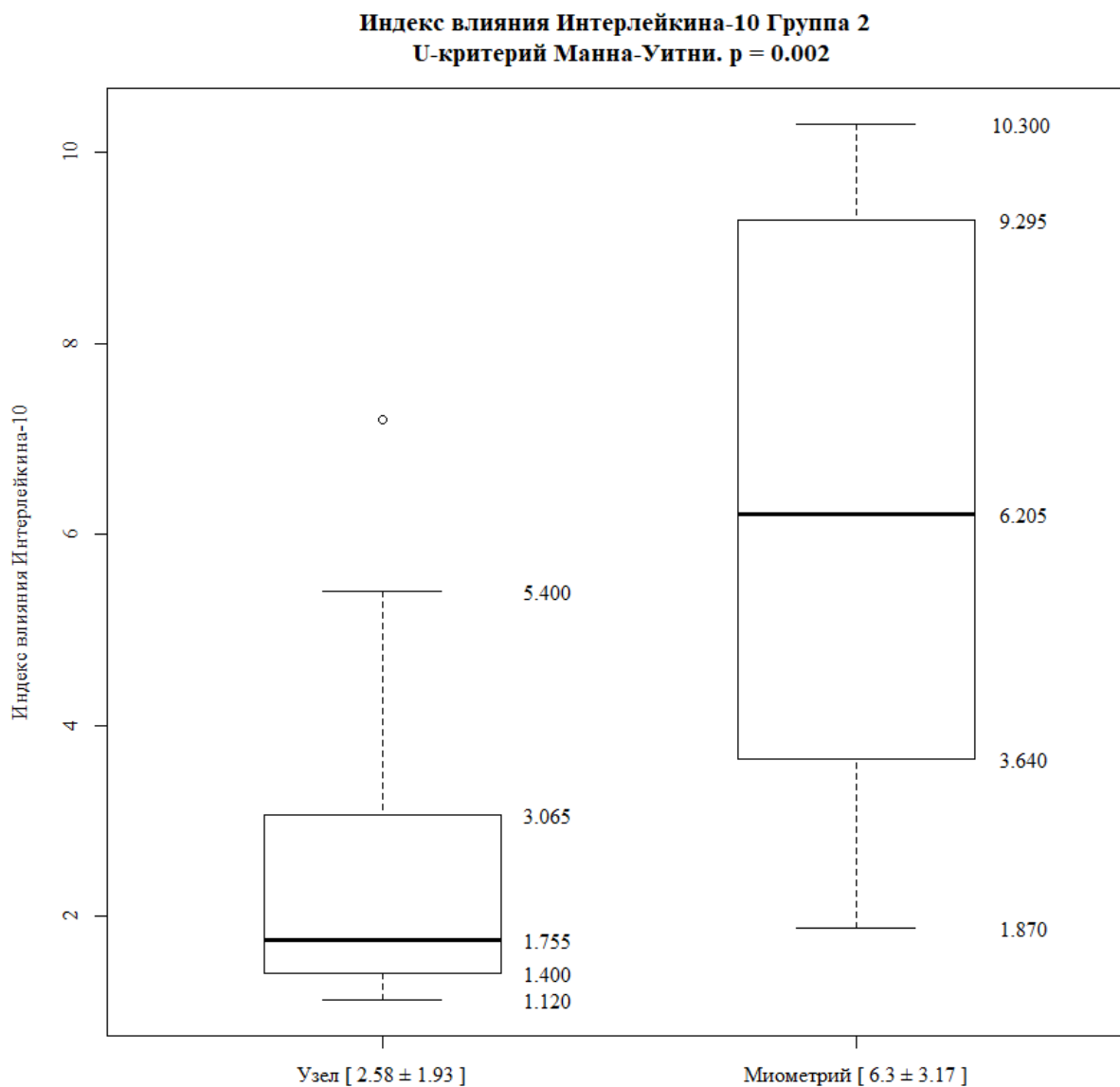


Рисунок 34 – Показатели индекса влияния миометрия для Ил-10 у пациенток 2-й группы, принимавших УА в качестве предоперационной подготовки, статистически значимо превышают показатель миоматозного узла

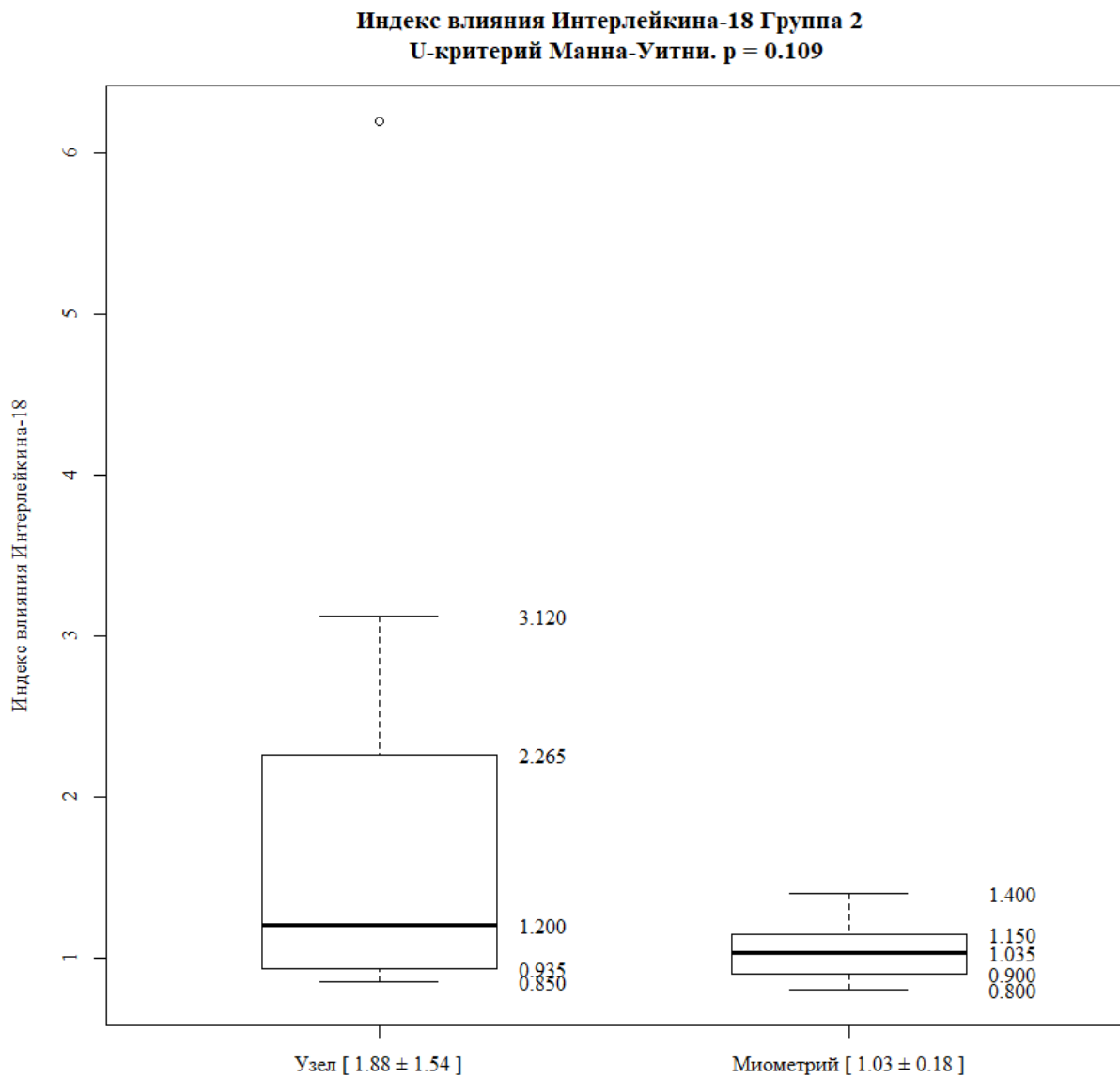


Рисунок 35 – Показатели индекса влияния для Ил-18 у пациенток 2-й группы, принимавших УА в качестве предоперационной подготовки. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием

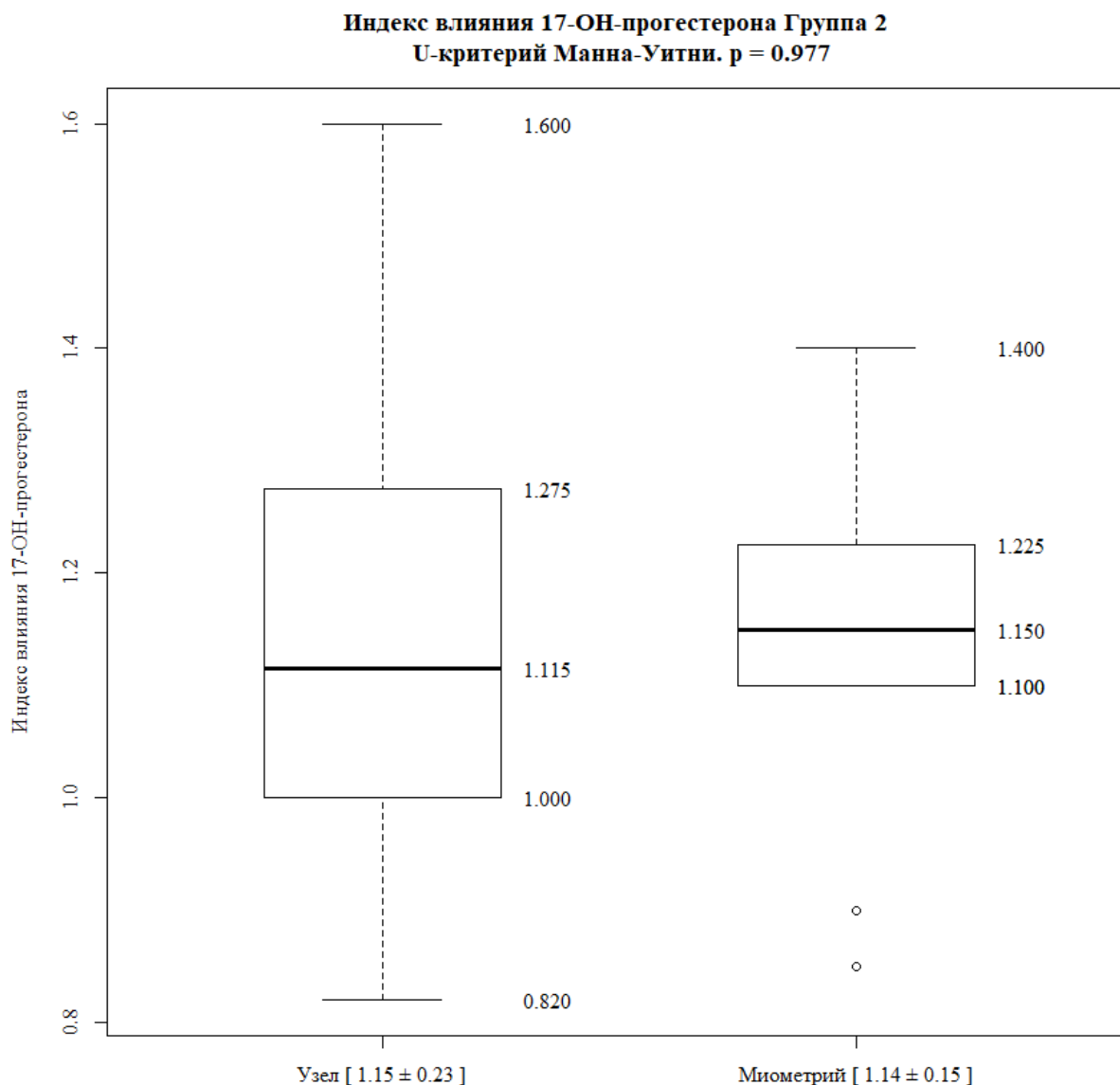


Рисунок 36 – Показатели индекса влияния для 17-ОН-Pg у пациенток 2-й группы, принимавших УА перед операцией. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием

Далее проведено попарное сравнение 1-й и 2-й групп по показателям содержания цитокинов в среде инкубации образцов миоматозных узлов и миометрия.

После применения УА в супернатантах миоматозных узлов из 5 изученных параметров статистически значимо уменьшился индекс влияния Ил-6 ($p = 0,013$) –

провоспалительного цитокина (Рисунок 37), продуцируемого активированными макрофагами и Т-клетками, а также фибробластами и эндотелиоцитами. Важно отметить, что в перифокальном миометрии при сравнении двух групп Ил-6 имел тенденцию к повышению, по крайней мере, будучи необходимым как миокин в гладкомышечной ткани.

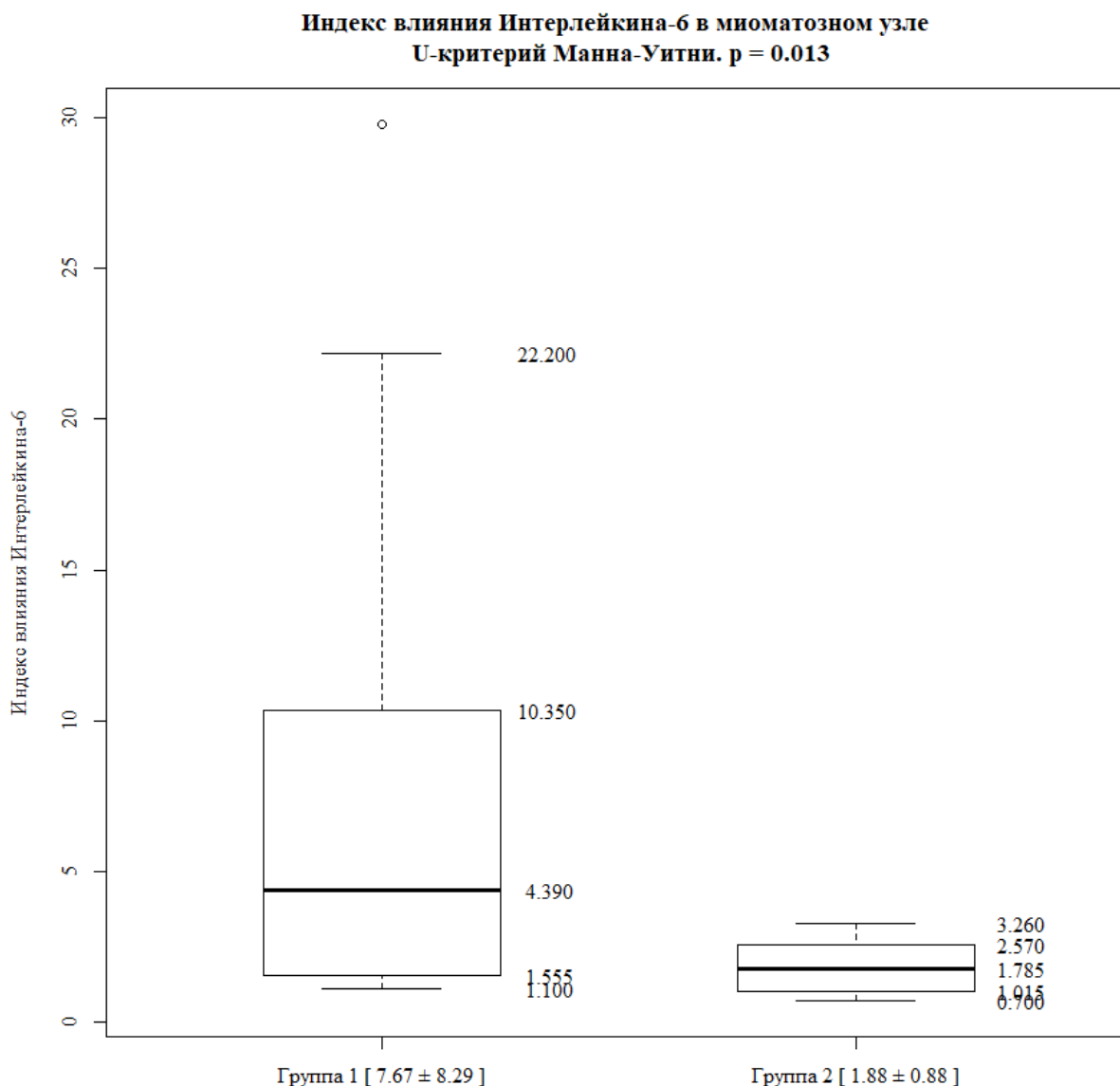


Рисунок 37 – Статистически значимое уменьшение продукции провоспалительного цитокина Ил-6 в миоматозных узлах (по индексу влияния) после применения УА (2-я группа)

Наряду со снижением продукции провоспалительного цитокина в миоматозных узлах после применения УА, в миометрии пациенток этой группы статистически значимо возросла продукция противовоспалительного цитокина Ил-10 (Рисунок 38). Он продуцируется преимущественно моноцитами, Т-хелперами и тучными клетками.

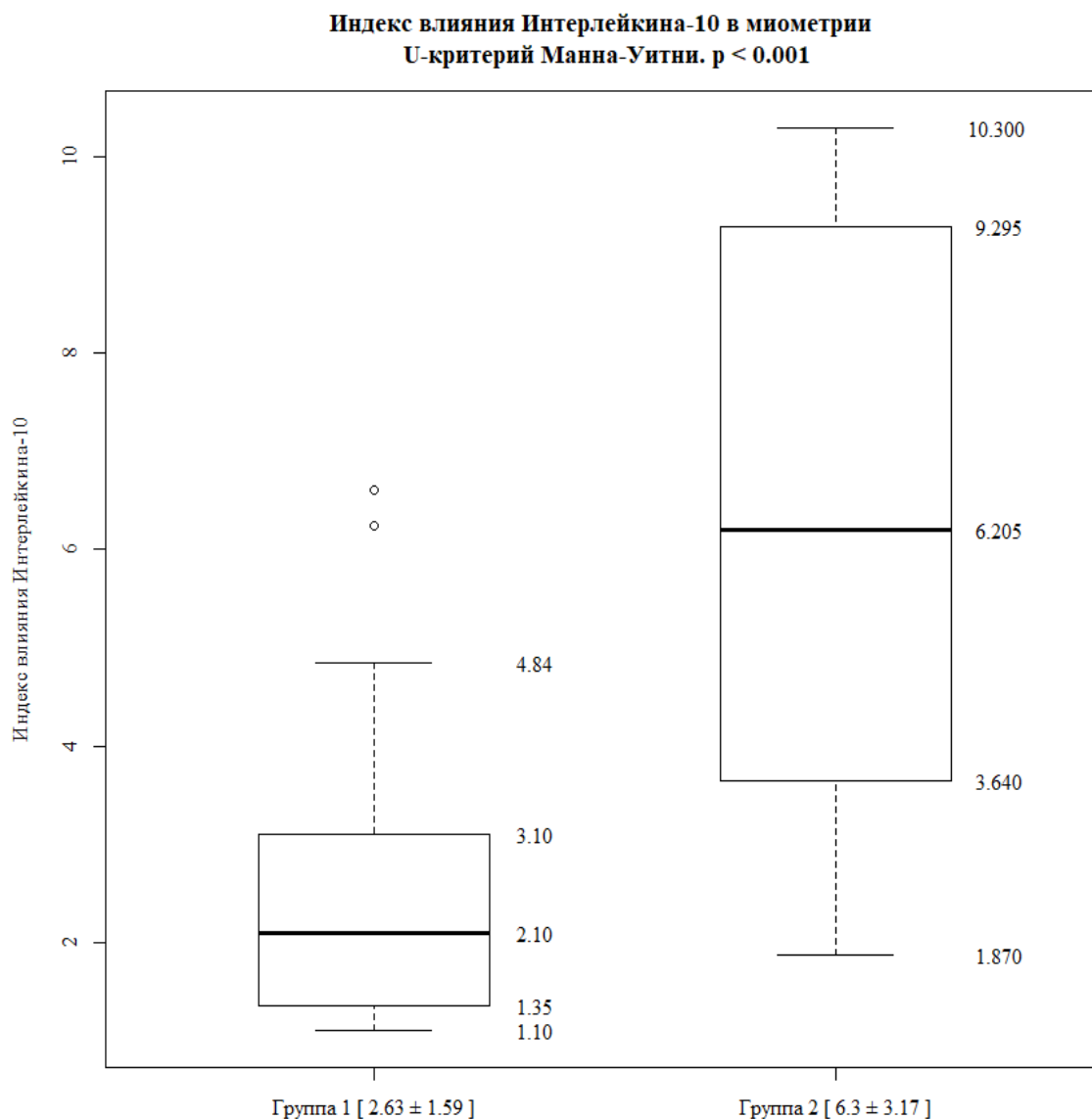


Рисунок 38 – Статистически значимое увеличение продукции противовоспалительного цитокина Ил-10 в перифокальном миометрии (по индексу влияния) после применения УА (2-я группа)

Продукция Ил-18 (из семейства молекул Ил-1) в миоматозных узлах двух групп не отличалась, однако для перифокального миометрия выявлено статистически значимое снижение у пациенток 2-й группы (Рисунок 39).

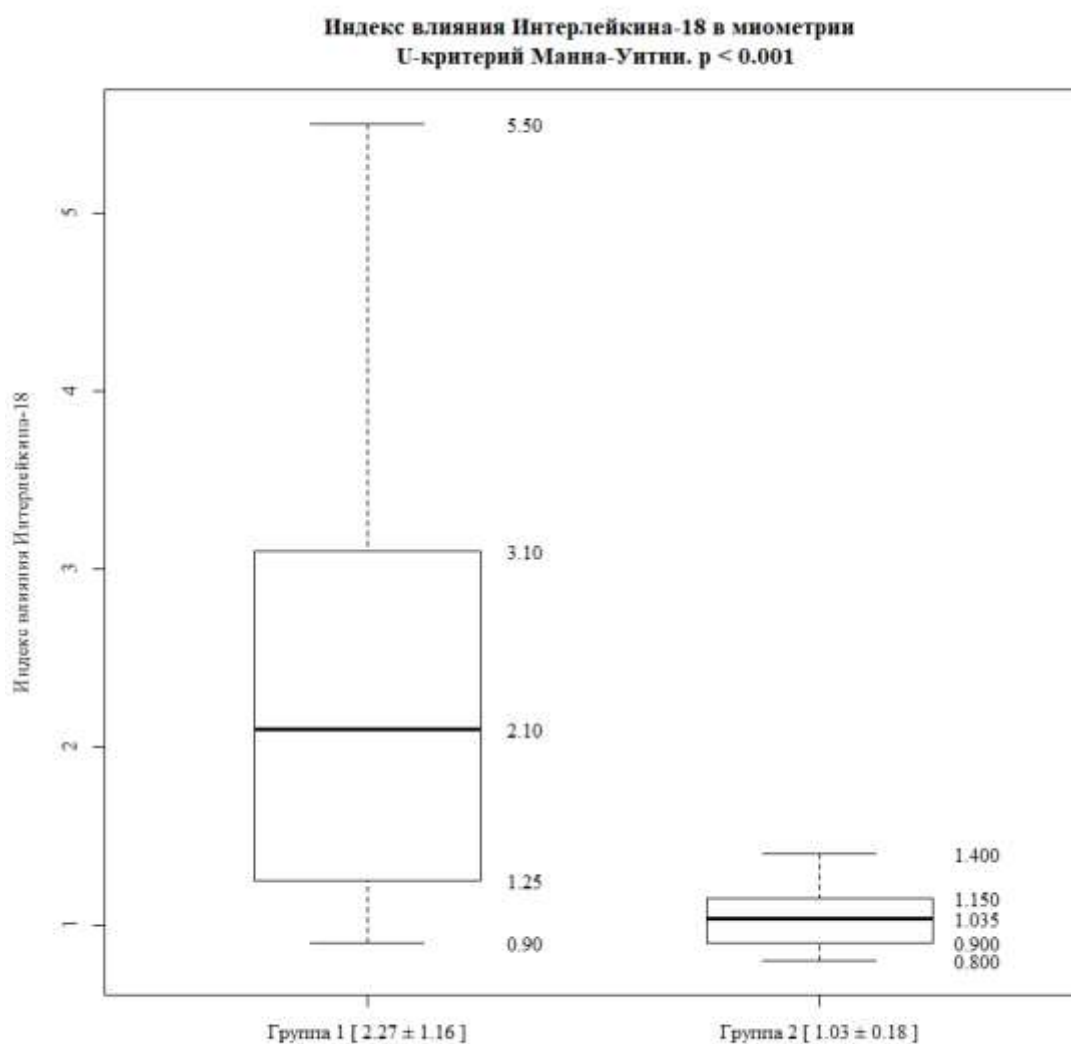


Рисунок 39 – Статистически значимое уменьшение продукции провоспалительного цитокина Ил-18 в перифокальном миометрии (по индексу влияния) у пациенток после применения УА (2-я группа)

После приема УА для продукта метаболизма гормона прогестерона выявлено статистически значимое уменьшение в образцах миометрия (Рисунок 40).

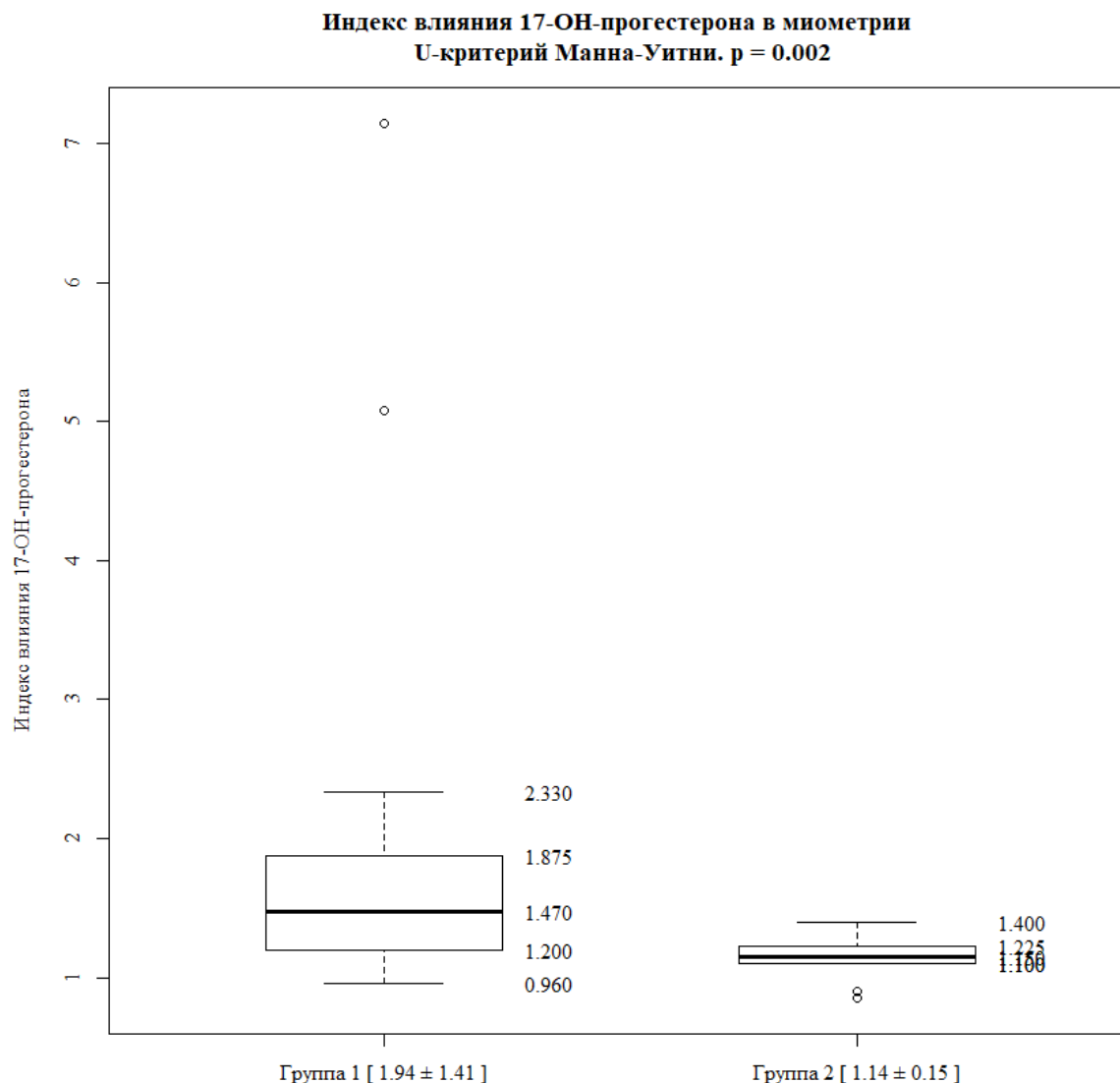


Рисунок 40 – Статистически значимое уменьшение содержания 17-ОН-Pg в перифокальном миометрии (по индексу влияния) у пациенток после применения УА (2-я группа)

В целом, в супернатантах фрагментов перифокального миометрия при сравнении 1-й и 2-й групп статистически значимо изменилось содержание трех из 5-и изучаемых молекул: повысился индекс влияния противовоспалительного Ил-10 ($p < 0,001$), снизился показатель провоспалительного Ил-18 ($p < 0,001$), и уменьшился индекс влияния 17-ОН-Pg ($p = 0,002$).

По итогам данного раздела опубликовано:

Иммуноферментное исследование содержания интерлейкинов в опухолевых супернатантах у пациенток с множественной миомой матки / И. О. Маринкин, Д. А. Соляников, А. В. Волчек [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2021. – Т. 20, № 6. – С. 51–56.

3.7 Роль фактора роста эндотелия сосудов в прогрессировании фиброза миоматозного узла

При ММ у женщин репродуктивного возраста исследован характер экспрессии VEGF по данным ИГХ анализа операционного материала в зависимости от степени фиброза доминирующего узла. Проведено клинко-патоморфологическое исследование «случай – контроль» 38 пациенток репродуктивного возраста (от 25 до 46 лет) с ММ с акцентом на изучении экспрессии VEGF в перифокальном миометрии и доминирующем узле.

Интраоперационно определяли диаметр доминирующего узла, иссекали не менее пяти фрагментов (в т. ч. из центра и псевдокапсулы), забирали также фрагмент перифокального макроскопически интактного миометрия. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином в комбинации с реакцией Перлса и по ван Гизону с докраской эластических волокон резорцин-фуксином Вейгерта. Клинические наблюдения разделены на 3 группы репрезентативного возраста в зависимости от степени фиброза доминирующего миоматозного узла с учетом критериев G. P. Flake и соавт. [179]: 1-я степень – площадь фиброзной ткани менее 15 % (16 клинических наблюдений), 2-я степень – от 10 до 50 % (13 случаев) и 3-я степень – более 50 % площади среза (9 пациенток). Чтобы определить процент фиброза в поле зрения, применяли программу Zen Blue (C. Zeiss) с анализом изображения по красной окраске коллагеновых волокон с помощью метода ван Гизона (Рисунок 41).

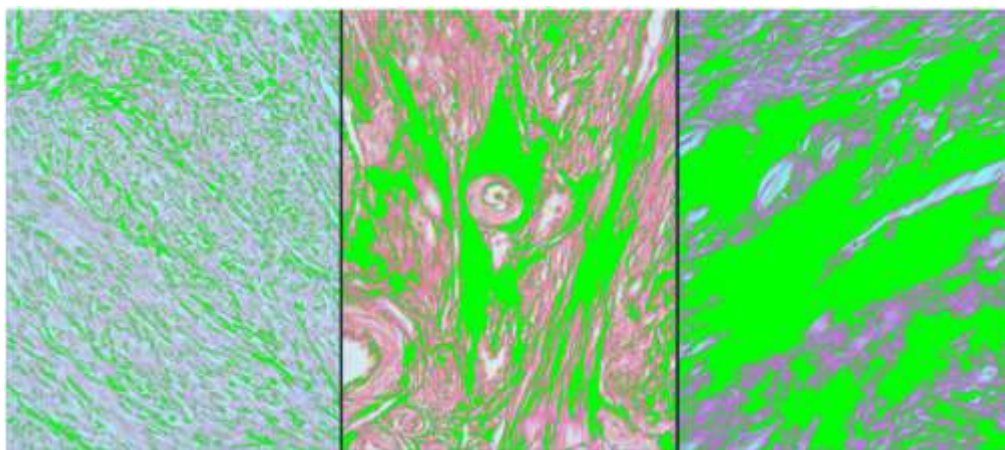


Рисунок 41 – Площадь фиброза I–III степени по анализу изображения. Ув. 400

Экспрессию VEGF изучали в парафиновых срезах не менее чем в 5 образцах 9, 7 и 5 пациенток каждой из групп соответственно с помощью двухшагового стрептавидин-биотинового метода. В качестве первичных антител использовали кроличьи поликлональные антитела (anti-human) к фактору роста эндотелия сосудов (VEGFA) («ThermoScientific» PA1-21796) в разведении 1 : 200; в качестве системы визуализации – SuperPicture 3rd Gen IHC Detection Kit («Invitrogen», № 87-9673); продукты реакции визуализировали с помощью диаминобензида (DAB), срезы докрашивали гематоксилином Майера. В негативном контроле вместо первичных антител использовали 5 % фетальную бычью сыворотку. Площадь продуктов ИГХ оценивали с помощью микроскопа AxioScope.A1 с фотокамерой AxioCamMRc5 и программного обеспечения ZENblue (C. Zeiss), для каждого параметра оценивали минимум по 35 изображений на группу суммарной площадью 1 120 мм².

Во всех 3 исследуемых группах возраст пациенток существенно не отличался ($p > 0,05$) и варьировал от 25 до 46 лет (средний возраст $(39,6 \pm 3,8)$ лет).

При анализе клинической картины 38 пациенток в 25 (65,8 %) случаях выявлены АМК (из них у 7 женщин в сочетании с анемией средней степени тяжести); в остальных 13 случаях нарушения менструального цикла отсутствовали.

В группе с I-й степенью фиброза доминирующего миоматозного узла нарушения менструального цикла имели место у 12 женщин, со II степенью – у 9, и с III степенью фиброза – у 4 пациенток. Длительность заболевания достоверно не отличалась и составила $(4,1 \pm 4,5)$ года. Болевой синдром отмечен у 28 из 38 женщин: в 1-й группе – у 14, во 2-й – у 9, и в 3-й группе – у 5 пациенток (Таблица 5).

Таблица 5 – Клинические особенности пациенток с лейомиомой матки в зависимости от степени фиброза доминирующего узла

Клинические особенности	I степень фиброза, n = 16	II степень фиброза, n = 13	III степень фиброза, n = 9
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
Возраст (лет) ($p > 0,05$)	$37,56 \pm 5,60$	$41,85 \pm 2,32$	$40,20 \pm 3,28$
Нарушения менструального цикла (мено-, метроррагии), абс.*	12 ($p < 0,00001$)	9 ($p < 0,0001$)	4 ($p < 0,02$)
Уровень Нб до оперативного лечения (г/л) ($p > 0,05$)	$83,0 \pm 9,1$	$78,3 \pm 12,9$	$121,0 \pm 13,8$
Болевой синдром, абс.*	14 ($p < 0,015$)	9 ($p < 0,015$)	5 ($p < 0,01$)
Объем матки (см^3) ($p = 0,008$)**	235 ± 25 (215–260)	610 ± 44 (550–670)	895 ± 68 (810–980)
Диаметр доминирующего узла (см) ($p = 0,021$)**	$8,40 \pm 3,38$	$13,60 \pm 4,23$	$17,40 \pm 5,40$
Примечание. * – сравнение с помощью критерия χ^2 , ** – сравнение с помощью критерия Краскела – Уоллиса.			

В гинекологическом статусе наряду с ММ имелись другие гинекологические заболевания, среди которых чаще встречались патология эндометрия, образования придатков и ВЗОМТ.

Объем матки варьировал от 215 до 980 см³, прямо коррелируя с диаметром доминирующего миоматозного узла ($p = 0,008$): у пациенток 1-й группы объем матки колебался в пределах 215–260 см³ (в среднем (235 ± 25) см³), во 2-й группе 550–670 см³ (610 ± 44) см³ и в 3-й группе – от 810 до 980 см³ (895 ± 68) см³). В 1-й группе диаметр доминирующего узла составил $(8,40 \pm 3,38)$ см, во 2-й – $(13,60 \pm 4,23)$ см и в 3-й – $(17,40 \pm 5,40)$ см ($p = 0,021$) (см. Таблицу 5). По локализации доминирующего и других узлов достоверных отличий между группами не выявлено.

При гистологическом исследовании операционного материала структурная организация доминирующего миоматозного узла была обусловлена различной степенью фиброза. В 10 из 16 случаев 1-й группы доминирующий узел представлен простой миомой, состоящей из разнонаправленных пучков опухолевых клеток гладкомышечного фенотипа со слабо-эозинофильной цитоплазмой и удлинёнными умеренно эухромными веретеновидными ядрами. В остальных случаях структура узла соответствовала клеточной, или пролиферативной, лейомиоме – варианту миомы с минимальной долей ВКМ, с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением клеточных элементов с преимущественно эухромными базофильными ядрами без атипии и митотической активности. На препаратах, окрашенных по ван Гизону, коллагеновые волокна локализовались вдоль опухолевых миоцитов и практически не формировали толстые пучки (Рисунок 42, а). По данным автоматического анализа изображения, доля коллаген-содержащего ВКМ составляла $(13,50 \pm 2,08)$ %.

Во всех клинических наблюдениях 2-й группы доминирующий миоматозный узел представлен простой миомой с почти мономорфными клеточными элементами, при этом их ядерно-цитоплазматическое соотношение варьировало, как и степень базофилии и эухромности ядер. По сравнению с узлами 1-й группы, коллаген-содержащий матрикс выглядел не тонко-сетчатой структурой, а грубыми широкими пучками и почти бесклеточными участками (Рисунок 42, б). Доля полей фиброза в опухолевых узлах составила $(39,54 \pm 4,32)$ %.

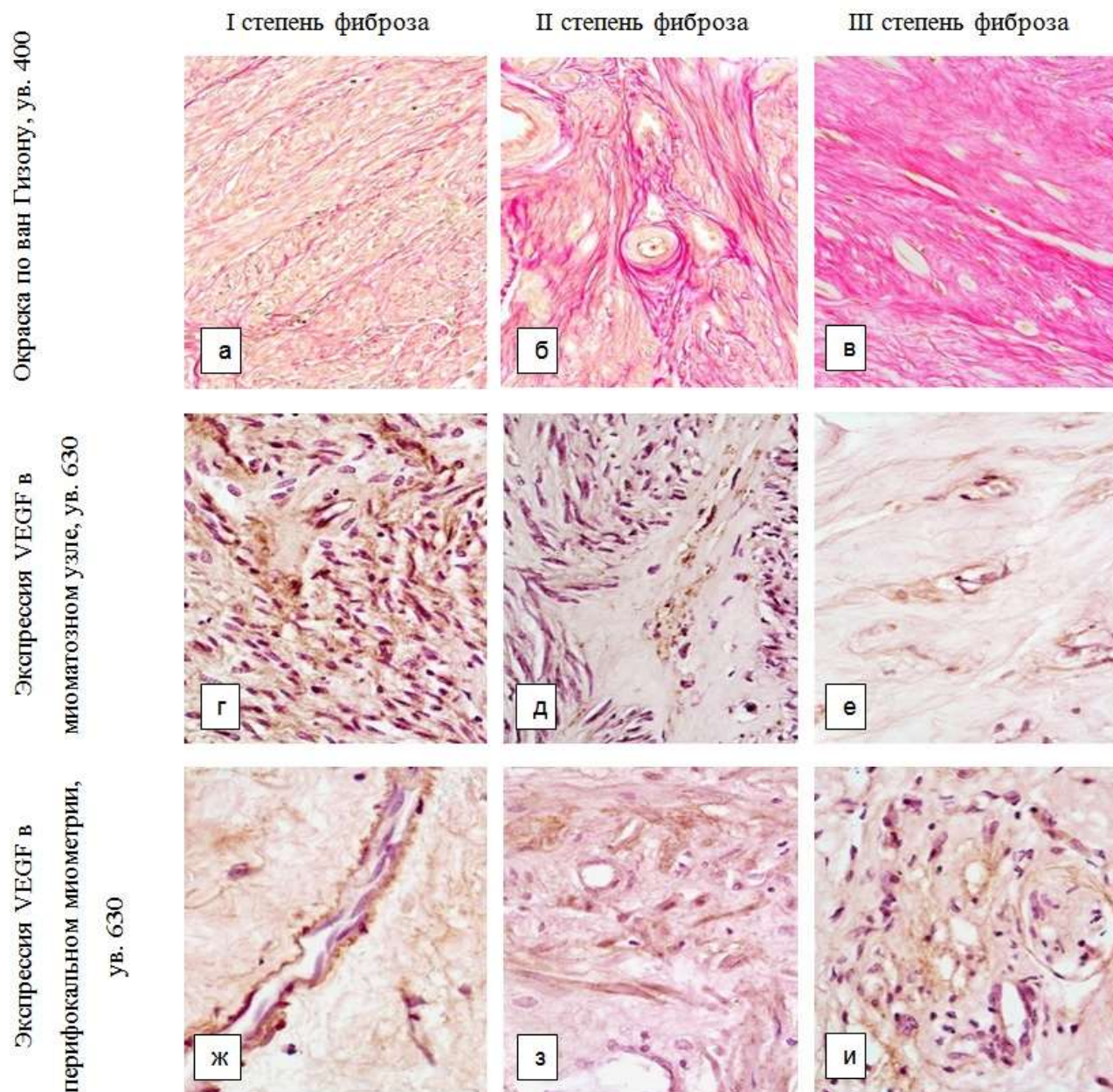


Рисунок 42 – Гистологические и иммуногистохимические особенности доминирующего миоматозного узла и перифокального миометрия:

а, б, в – ув. 400; г, д, е, ж, з, и – ув. 630

Гистологическое строение доминирующих миоматозных узлов в 3-й группе соответствовало характеристикам простой миомы, однако обращала на себя внимание гетерогенность структурной организации с преобладанием полей фиброза-гиалиноза и сохранившихся между ними пучков опухолевых миоцитов (см. Рисунок 42, в). Последние отличались в различной степени выраженным

анизокарицитозом с наличием как эухромных, так и пикнотичных ядер, а также скудной эозинофильной либо вакуолизированной цитоплазмой. Оцениваемая с помощью автоматического анализа изображения площадь фиброзной стромы составляла $(84,79 \pm 6,42) \%$.

Во всех группах приуроченный к опухолевым узлам миометрий представлен пучками гетерогенных гладкомышечных клеток с различной долей перицеллюлярного и межпучкового соединительнотканного компонента, в котором доминировали коллагеновые волокна при отсутствии резорцин-фуксин-позитивных эластических волокон. Последние в большом количестве локализовались не только в интима артериол и артерий, но также в гипертрофированной меди клубков артериального сосудистого русла с миоэластофиброзом и гиалинозом. Большинство миоцитов были в состоянии дистрофии, при этом встречались участки миометрия с признаками пролиферации и миоматозной трансформации, особенно в случаях ее клеточного варианта. В периваскулярной строме выражены отек и очаговая слабо выраженная лимфоцитарная инфильтрация.

При ИГХ исследовании выявлена обратно пропорциональная зависимость между экспрессией VEGF в доминирующем лейомиоматозном узле и степенью его фиброза (см. Рисунок 42, г–е). Уровень экспрессии VEGF наибольший при I степени фиброза – $(5,81 \pm 1,19) \%$ с постепенным уменьшением по мере склерозирования опухолевого узла: при II – $(3,90 \pm 0,34) \%$; при III – $(3,40 \pm 0,47) \%$ ($p = 0,021$). Экспрессия VEGF в перифокальном миометрии достоверно ($p = 0,008$) возрастала с увеличением степени фиброза опухолевого узла (см. Рисунок 42, ж–и): при I степени – $(1,94 \pm 0,6) \%$, при II – $(2,60 \pm 0,83) \%$, и при III степени фиброза – $(3,58 \pm 0,63) \%$ (Рисунок 43).

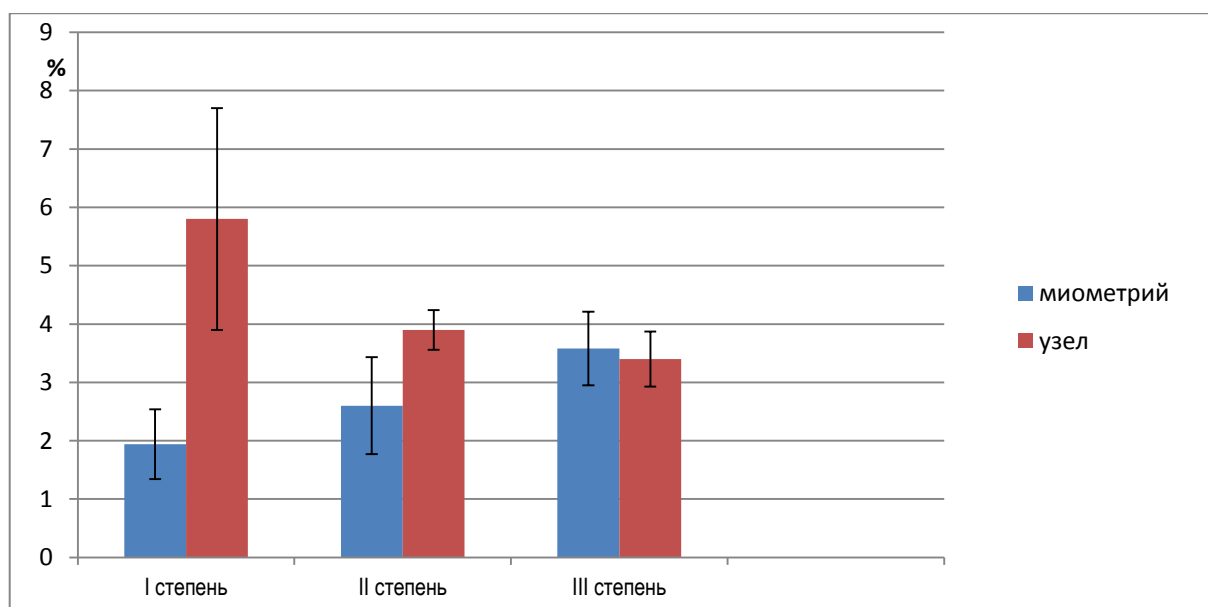


Рисунок 43 – Экспрессия VEGF в опухоли и перифокальном миометрии в зависимости от степени фиброза доминирующего миоматозного узла

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) – гепарин-связывающий гомодимерный белок 46 kDa, который состоит из 6 изоформ и оказывает свои биологические эффекты путем связывания с одним из двух рецепторов тирозинкиназы [170]. Среди членов семейства факторов роста VEGF – необходимый фактор роста и потенциальный митоген для эндотелиальных клеток сосудов, один из наиболее важных факторов роста в регуляции физиологического и патологического ангиогенеза [203].

mPНК и белок VEGF, а также его рецепторы VEGFR-1 and VEGFR-2 идентифицированы в эндотелиальных клетках и миоцитах в миометрии и миоматозных узлах [170]. Продемонстрировано повышение экспрессии VEGF в лейомиоме по сравнению с перифокальным миометрием и миометрием женщин репродуктивного возраста без миоматозных узлов [91]; кроме того, экспрессия VEGF и двух его рецепторов резко повышена в лейомиосаркоме по сравнению с лейомиомой [108], что свидетельствует о вовлечении данного фактора роста в опухолевый рост гладкомышечных клеток.

С другой стороны, опубликованы результаты real-time ПЦР и иммуноферментного анализа об отсутствии различий в уровне VEGF в миоматозных узлах массой менее 10 г и более 100 г по сравнению с соседним

миометрием [74]. Еще в одном ПЦР-исследовании транскрипционной активности VEGF отсутствие достоверных различий между миомой с диаметром узлов от 3 до 12 см и миометрием у 18 женщин в возрасте от 32 до 70 лет расценивают как проявление низкой пролиферативной активности эндотелиоцитов [101].

В целом, не вызывает сомнений, что ангиогенез и васкуляризация контролируют рост как злокачественных, так и доброкачественных опухолей. По результатам классических исследований, миоматозные узлы имеют аномальную и менее развитую сосудистую сеть, чем у окружающего миометрия, что приводит к тяжелой гипоксии фиброзной ткани [97]. Однако стадии фиброза предшествуют стадии пролиферации и роста опухолевых миоцитов [179], сопровождающиеся активным участием ангиогенных факторов.

Используемые в настоящее время стратегии лечения миомы матки направлены на уменьшение объема миоматозных узлов и редукцию их кровотока [197], достигаемую хирургическим методом либо с помощью биологически активных средств. Так, механизм действия агонистов GnRH обусловлен в т.ч. снижением экспрессии VEGF [139].

Более высокие показатели VEGF в доминирующем узле при I степени фиброза свидетельствовали о более выраженном ангиогенезе на стадии клеточной пролиферации. Наши результаты подтверждают различия экспрессии VEGF в доминирующем миоматозном узле по сравнению с перифокальным миометрием, однако характер различий определяется стадией фиброза.

Таким образом, по данным проведенного ИГХ-исследования экспрессии VEGF и автоматического анализа изображения продуктов реакции, наибольший уровень экспрессии VEGF в эндотелии и опухолевых миоцитах выявлен при I степени фиброза и минимальный – при III степени ($p = 0,021$). Экспрессия VEGF в перифокальном миометрии статистически значимо ($p = 0,008$) возрастала с увеличением степени фиброза узла.

В целом, у пациенток репродуктивного возраста с ММ выявлена обратная зависимость между экспрессией VEGF в доминирующем узле и степенью его фиброза. Это может свидетельствовать о вовлечении данного фактора роста в пролиферацию опухолевых миоцитов с ведущей ролью клеточной компоненты в противовес биосинтетической активности с продукцией компонентов ВКМ.

В ИГХ исследовании нами установлено, что степень фиброза доминантного миоматозного узла умеренно положительно коррелировала с экспрессией VEGF в перифокальном миометрии ($r_s = 0,521$, ДИ [0,327; 0,672]; $p < 0,0001$) (Рисунок 44). Это свидетельствует о компенсаторном увеличении проангиогенного потенциала визуально не измененной ткани миометрия в условиях, когда замедляется ангиогенез, и увеличиваются отложения ВКМ в наибольшем по объему узле.

Выявлены статистически значимые противоположные (но независимые) отношения между экспрессией VEGF в доминирующем узле и перифокальном миометрии, что отражает системность миоматозной трансформации с мультифокальностью опухолевого роста и потенциалом прогрессирования патологического процесса – с образованием новых миоматозных узлов.

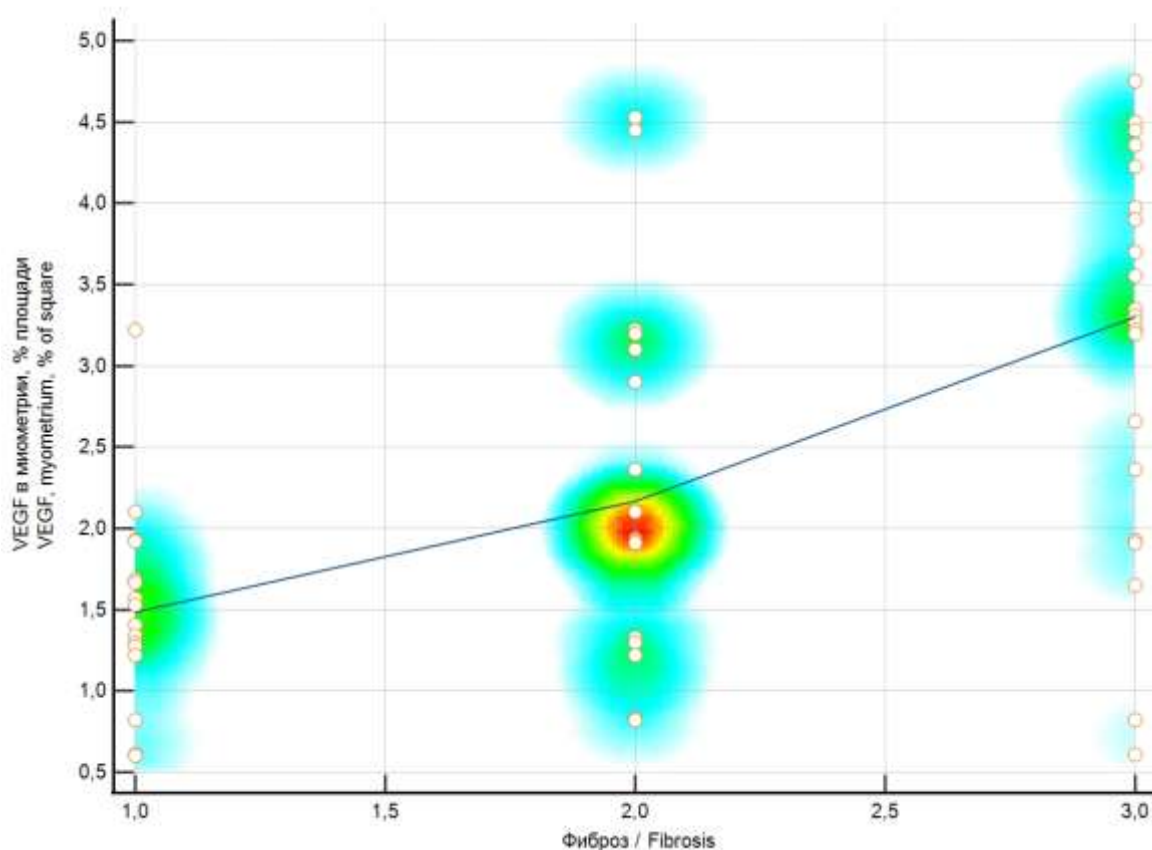


Рисунок 44 – Степень фиброза доминантного узла положительно коррелировала с экспрессией VEGF в перифокальном миометрии по данным ИГХ ($r_s = 0,521$, ДИ [0,327; 0,672]; $p < 0,0001$)

По мнению [155], необходимо продолжение экспериментальных и клинических исследований для изучения клеточных и молекулярных механизмов ММ.

По итогам данного раздела опубликованы:

1. Роль фактора роста эндотелия сосудов в прогрессировании лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста / И. О. Маринкин, С. В. Айдагулова [и др., в том числе Д. А. Соляников] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – № 6. – С. 4–8.
2. The expression of vascular endothelial growth factor-A depends on the degree of fibrosis of the dominant uterine myoma tumour in reproductive-age women / S. V. Aydagulova, D. A. Solyanikov, I. O. Marinkin // International Journal of Molecular Medicine. – 2018. – Vol. 42 (Suppl. 1). – P. 28.
3. Корреляции между клинико-лабораторными показателями и маркерами ангиогенеза и фиброза в операционном материале при миомэктомии / Д. А. Соляников, Л. А. Пивень, А. В. Волчек [и др.] // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2023. – Т. 7, № 3. – С. 109–122.

ГЛАВА 4 СТРУКТУРНОЕ И МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МИОМЕТРИЯ ПРИ СОЧЕТАНИИ МИОМЫ МАТКИ И АДЕНОМИОЗА (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ)

В современном экономически развитом обществе, с учетом увеличения возраста реализации детородной функции, проблема ММ становится все более острой, поскольку наряду с хроническим эндометритом и эндометриозной болезнью является фактором первичного и вторичного бесплодия [30]. Миоматозные узлы, как солитарные, так и множественные, в репродуктивном возрасте могут длительное время развиваться бессимптомно, при этом примерно в 25 % случаев пациенткам требуется медикаментозное и/или хирургическое лечение [15; 38; 153].

Гинекологические заболевания, такие как эндометриоз, рак яичников и миома матки, имеют сложную этиологию, однако ключевым аспектом этих расстройств, по мнению [119], является значительное совпадение основных патологических процессов, а именно усиление воспалительных реакций, нарушения иммунной регуляции и чрезмерное отложение коллагена, приводящее к фиброзу. Эти общие проявления патологии подразумевают наличие общих биомаркеров и терапевтических мишеней, которые могли бы в идеале воздействовать на эти состояния. Например, нацеливание на сигнальный путь $TGF\beta$ или на экспрессию генов, связанных с ремоделированием ВКМ, таких как фибронектин, коллаген и гладкомышечный α -актин, в теории могли бы препятствовать развитию фиброза.

Воспалительный процесс является одним из механизмов, лежащих в основе инициации большинства опухолей; провоспалительное микроокружение в миометрии способствует клональной пролиферации миоцитов и формированию миоматозных узлов [61]. Хроническое воспаление поддерживается множеством цитокинов, продуцируемых иммунными и стромальными клетками, которые вовлечены в сложные перекрестные контакты с опухолевыми миоцитами.

Цитокины и стероидные гормоны влияют на пролиферацию, фиброз и ангиогенез, которые, в свою очередь, обуславливают образование, рост и рецидивирование миоматозных узлов [8].

В настоящее время не синтезировано эффективного препарата для длительного лечения пациенток с ММ без нежелательных побочных эффектов, и агонисты ГнРГ, прогестагены и антигестагены используют в клинической практике кратковременно, преимущественно в период подготовки к оперативному лечению. Определенные надежды были связаны с УА – селективным модулятором прогестероновых рецепторов (PgR), однако его применение для купирования симптомов миомы перед операцией индуцировало ряд серьезных проблем с печенью, анализ которых продолжает привлекать внимание [87].

Улипристала ацетат (УА) и другие СМПР представляют собой относительно новый класс синтетических стероидных препаратов, которые действуют на PgR, вызывая агонистические, антагонистические или комбинированные эффекты на сигнализацию PgR в зависимости от тканей-мишеней прогестерона [126; 172]. Этот разнонаправленный эффект может быть обусловлен разницей в соотношении изоформ прогестероновых рецепторов PgR-A/PgR-B у каждой пациентки и сродством СМПР к каждой изоформе, а также взаимодействием конкретного СМПР с различными коактиваторами или корепрессорами генов [161].

Тем не менее, не утратили своей актуальности анализ клинического применения УА [20; 87; 94] и фундаментальные исследования, использующие воздействие УА для более глубокого изучения молекулярных основ этиологии и патогенеза лейомиомы как опухолевого процесса [80; 123; 172].

Так, через 3 мес после начала терапии у 40 пациенток миоматозные узлы уменьшились в размерах ($p < 0,05$). Морфологическим субстратом частичного уменьшения лейомиомы стали апоптоз и дистрофия лейомиоцитов, склероз и гиалиноз опухолевой стромы, снижение экспрессии VEGF и TGF β , а также нарушение регуляции гормональной рецепции лейомиоцитов при неизменной

экспрессии PgR и EsR [17]. Аналогичные результаты получены в настоящем исследовании.

Факторы роста играют роль в изменении ВКМ в ходе роста узла и оказывают регулирующее действие на клетки только тогда, когда они связываются с определенным рецептором мембраны и передают сигнал в клетку. Комбинированное действие различных факторов роста приводит к амплификации сигнальных путей, индуцируя экспрессию генов белков, ответственных за деление клеток и изменение метаболизма. Поэтому [74] изучили количественную экспрессию VEGF и его рецепторов по уровню мРНК. Изучали узлы менее 10 г и более 100 г, но значимых различий экспрессии VEGF и их рецепторов в миометрии и миомах не выявили. Делается вывод, что стимуляция образования ВКМ вносит более сильный вклад в процесс роста миомы, чем ангиогенез [74].

По-прежнему неясны факторы риска рецидива ММ после миомэктомии. В совершенно новом исследовании [50] проанализированы рецидивы у 240 пациенток и возможность их прогнозирования. Согласно критериям включения, клинические данные этих пациенток были проанализированы и разделены на 2 группы в зависимости от того, возник ли рецидив через 6 мес после операции: группа рецидива – 52 случая и группа без рецидива – 78 случаев. Сделан вывод, что ИМТ > 24, паритет > 2, множественные фибромиомы и гиперплазия эндометрия являются независимыми факторами риска рецидива после лапароскопической миомэктомии у пациенток с ММ [50].

Воспалительный процесс является одним из механизмов, лежащих в основе инициации большинства опухолей; провоспалительное микроокружение в миометрии способствует клональной пролиферации миоцитов и формированию миоматозных узлов [121]. Хроническое воспаление поддерживается множеством цитокинов, продуцируемых иммунными и другими клетками [61], которые вовлечены в сложные перекрестные контакты с опухолевыми миоцитами. Цитокины и стероидные гормоны влияют на пролиферацию, фиброз и ангиогенез, которые, в свою очередь, обуславливают образование, рост и рецидивирование миомы [8; 196].

Известны различия экспрессии рецепторов эстрогена/прогестерона и отдельных компонентов ВКМ в миоматозных узлах. При этом характер изменения экспрессии рецепторов и количество фиброзной ткани после гормонального лечения неясна. Был исследован [93] характер изменения экспрессии рецепторов и процент фиброза ткани в ММ после лечения агонистом ГнРГ в течение от 3 до 6 мес. Не было выявлено значительной разницы в процентном соотношении фиброза в тканях женщин с ММ, получавших и не получавших лечение ГнРГ. Таким образом, несмотря на зависимость от эстрогенов, более высокое содержание PgR в группе, не получавшей лечение ГнРГ, может указывать на потенциальную роль прогестерона в росте лейомиомы. Хотя терапия ГнРГ может уменьшить фибромиомы и снизить риск кровотечения во время операции, возникновение диффузного фиброза тканей может ухудшить эффективное уменьшение размера фибромиомы после гормонального лечения [93].

Таким образом, многочисленные исследования патогенеза ММ убедительно демонстрируют роль стероидного гормона прогестерона и его рецепторов, а также эстрогенов, с помощью различных методов, в частности, с помощью протеомного анализа [39]. По данным [14], уровни экспрессии генов стероидных рецепторов в миоматозных узлах в 2–9 раз превышали их показатели в миометрии, при этом экспрессия генов PgR в узлах и миометрии была наибольшей у пациенток с «клеточной» миомой и наименьшей при наличии аденомиоза.

В нашем исследовании статистически значимые отличия в экспрессии PgR между группами, а также между узлом и миометрием в каждой группе и с другими изучаемыми маркерами, не выявлены, по-видимому, в связи с доминированием «простой» миомы, а не «клеточной»; отмечен лишь более высокий ИВПА для 17-ОН-Pr в 1-й группе для миометрия по сравнению со 2-й при отсутствии различий для узлов.

Выявление статистически значимо более высоких показателей стимулированной продукции ГМ-КСФ в миоматозных узлах у женщин 1-й группы без гармонотерапии по сравнению со 2-й отражает

антивоспалительное воздействие УА, доказанное ранее [120], но отсутствие его влияния на показатели миометрия свидетельствует о торпидности и проопухолевом потенциале перифокальной мышечной ткани.

Отличия миометрия у пациенток с ММ и миометрия пациенток без миоматозных узлов были продемонстрированы ранее, но не в полном объеме [184].

Определенные надежды на регулирование роста миоматозных узлов были связаны с подавлением экспрессии VEGF [203], поскольку этот фактор роста участвует в патогенезе большинства гинекологических заболеваний, в т.ч. аденомиозе с болевым синдромом [148]. Было показано повышение экспрессии VEGF в лейомиоме по сравнению с перифокальным миометрием и миометрием женщин репродуктивного возраста без миоматозных узлов [91]. С другой стороны, опубликованы результаты ПЦР и ИФА об отсутствии различий в уровне VEGF в миоматозных узлах массой менее 10 г и более 100 г по сравнению с соседним миометрием [74].

Нами [26] у пациенток репродуктивного возраста с ММ выявлены статистически значимые реципрокные (обратные, но не коррелирующие между собой) отношения между экспрессией VEGF в доминирующем узле и перифокальном миометрии, что отражает системность миоматозной трансформации с мультифокальностью опухолевого роста и потенциалом прогрессирования патологического процесса с образованием новых миоматозных узлов. Кроме того, выявлена обратная зависимость между экспрессией VEGF в доминирующем узле и степенью его фиброза, что может свидетельствовать о вовлечении данного фактора роста в пролиферацию опухолевых миоцитов с ведущей ролью клеточной компоненты в противовес биосинтетической активности с продукцией компонентов ВКМ.

Для исследования основ регуляторных путей при терапии СМПР лейомиомы матки [67] использовали культивированные клетки лейомиомы и миометрия. Они показали, что СМПР азоприснил снижал экспрессию ядерного антигена клеточной пролиферации PCNA, увеличивая в то же время TUNEL-позитивные клетки

(признак апоптоза). Дополнительно азаприснил снижал экспрессию антиапоптозного белка Bcl-2, повышая в то же время активную каспазу-3. Все эти эффекты согласуются с индукцией путей апоптоза и ингибированием путей пролиферации. Важно, что названные изменения были отмечены для клеток лейомиомы, а не для клеток миоэктрии. Кроме того, азаприснил снижал экспрессию некоторых факторов роста и их рецепторов. Эти наблюдения являются важными, поскольку они представляют другой пример взаимодействия между сигнальными путями стероидов и факторов роста при ММ [67].

По нашим результатам, в операционном материале узлов и миоэктрии без гормонотерапии выявлены статистически значимые различия для стимулированной ПА продукции ГМ-КСФ (в 2 раза меньше в узле, чем в миоэктрии), а также для экспрессии VEGF в тканевых образцах (в 2 раза больше в узле, чем в миоэктрии). Экспрессия PgR в миоэктрии прямо коррелировала с воспалительной инфильтрацией узла.

Применение селективного модулятора PgR способствовало снижению продукции ГМ-КСФ и экспрессии VEGF в узле при отсутствии влияния на миоэктрии, снижению 17-OH-Pg в миоэктрии без изменения в узлах и отрицательной корреляции между экспрессией PgR и продукции VEGF в лейомиомах. В целом, продемонстрирован провоспалительный потенциал миоэктрии у пациенток с ММ, который не меняется даже в условиях применения селективного модулятора PgR.

В заключение важно отметить, что проблема рецидива ММ после миомэктомии очень важна, многие предпринимают найти прогностические маркеры неблагоприятного прогноза. Поэтому новые клинические исследования сосредоточены на поиске клинических, лабораторных и молекулярных маркеров.

Так, в исследовании [55] пациентки были разделены на группы «рецидива» ($n = 27$) и «без рецидива» ($n = 93$) по итогам 2-летнего наблюдения после миомэктомии с помощью высокоинтенсивного сфокусированного ультразвука. Результат однофакторного анализа не показал статистически значимой разницы между группами по возрасту, ИМТ, возрасту менархе, паритета, семейному

анамнезу миомы матки, экспрессии Bcl-2, а также содержания в сыворотке крови ФСГ, ЛГ, Е2, ПРЛ, прогестерона и тироксина. Связаны с рецидивом миомы матки после хирургического лечения были только диаметр максимального (или доминантного) узла, рецепторы к эстрогенам и PgR в узлах миомы матки. Авторы рекомендуют внедрить в клиническую практику обязательные постоперационные методы ведения для профилактики и лечения рецидива миомы матки [55].

Аденомиоз – гетеротопию эндометрия в миометрии – достаточно редко диагностируют до гистерэктомии, проводимой по поводу маточных кровотечений и анемии в связи с ММ. Однако при гистологическом изучении операционного материала в 30 – 50 % клинических наблюдений находят очаги аденомиоза различной степени, характеризующиеся миграцией (или инвазией) эпителия и цитогенной стромы в миометрий [146]. Способность к инвазии определяется пролиферативным и миграционным потенциалом патологических пролифератов эндометрия, а также свойствами микроокружения – клеток соединительной ткани миометрия и ВКМ, компоненты которого ответственны за поддержание межклеточных контактов. Изменение этих двух параметров приводит к возможности инвазии ткани эндометрия за пределы эутопической локализации с развитием аденомиоза, сопровождающегося патологическими изменениями миоцитов и фибробластов, характеризующими также лейомиоматоз. В миоматозных узлах и перифокальном миометрии повышена активность металлопротеиназ-2 и -9, что приводит к ослаблению межклеточных контактов.

Наряду с металлопротеиназами, в ВКМ большинства тканей существует еще один значимый фермент, разрушающий межклеточные контакты, – гепараназа (HPSE) с эндогликозидазной активностью, расщепляющей углеводные молекулы HSP [46]. Гепарансульфат протеогликан (HSP) являются базовыми компонентами ВКМ, в котором они взаимодействуют с рядом физиологически важных макромолекул; при этом характер сульфатирования цепей гепарансульфатов определяет потенциал взаимодействия протеогликанов и поддержание межклеточных контактов. Таким образом, ферментная деградация HSP с помощью

HPSE приводит к ослаблению межклеточных контактов и способствует миграционной активности клеточных элементов.

В связи с этим HPSE как фермент деградации HSP является важным регулятором широкого спектра физиологических и патологических процессов, в т. ч. эмбрионального развития, тканевого гомеостаза, а также опухолевой трансформации и прогрессирования неопластических процессов [95].

Высокая активность HPSE установлена в клинических образцах злокачественных опухолей [46]. Очень высокий уровень активности HPSE был обнаружен в метастазах рака молочной железы в головном мозге; при этом ингибирование опосредованных HPSE сигнальных путей способствовало повышению эффективности химиотерапии. Эти данные в совокупности с результатами других работ позволили рассматривать эндогликозидазу как одну из перспективных мишеней в комплексной противоопухолевой терапии.

Гепарансульфат протеоглики (HSP) характеризуются наибольшей вариабельностью последовательности и сульфатирования своих ГАГ, которые являются основными местами связывания других молекул матрикса, факторов роста и цитокинов. HSP играют решающую роль в поддержании тканевого гомеостаза, а также в возникновении и прогрессировании различных заболеваний благодаря взаимодействию с различными факторами роста и рецепторами клеточных мембран. Регуляция HSP осуществляется ферментом HPSE – единственной у млекопитающих эндогликозидазой, катализирующей расщепление боковых цепей ГАГ, что приводит к ремоделированию ВКМ, эпителиальных базальных мембран и способствует высвобождению различных связанных молекул, таких как факторы роста, цитокины и ферменты. Фермент участвует в многочисленных патологических состояниях, включая фиброз, воспаление и опухоли. Хотя несколько молекул были протестированы в качестве потенциальных ингибиторов этого фермента, ни одно средство еще не было одобрено для клинического применения. Продолжается разработка препаратов против эндогликозидазной активности, что позволит восстанавливать гомеостаз ВКМ и препятствовать пролиферации опухолевых миоцитов [104].

В нашей работе показана роль этих сложных белковоуглеводных молекул в патогенезе аденомиоза и миомы, и во многом результаты изучения экспрессии HPSE согласуются с результатами Х. Хи и соавт. [85]. Авторами показано, что у пациенток с НГЭ положительная реакция на HPSE имела место в железистых и стромальных клетках образцов эутопического эндометрия, полученных в позднюю стадию фазы пролиферации, а также в раннюю, среднюю и позднюю стадии фазы секреции; с помощью методов статистического анализа (критерий Фишера) авторами установлено, что экспрессия HPSE в секреторную фазу была достоверно выше, чем в раннюю и среднюю фазы стадии пролиферации, но недостоверно выше, чем в позднюю фазу пролиферации. В наших наблюдениях в очагах аденомиоза при медленном росте объема матки (до 12 нед) в 1-й группе экспрессия HPSE также была минимальной, но при прогрессирующем росте миомы (2-я группа) – повышена в несколько раз.

Таким образом, патоморфология и даже патофизиология, т.е. многие молекулярные изменения, ММ всесторонне изучены, проведено секвенирование генов как в миоматозных узлах, так и в миометрии, но по-прежнему не удалось выбрать значимую молекулу или сигнальный путь и создать удовлетворительную долгосрочную медикаментозную терапию. Хотя начальным событием в развитии лейомиомы считается пролиферация одной гладкомышечной клетки, необходимы условия микроокружения [104], т.е. дополнительные способствующие прогрессированию факторы и сложные сигнальные взаимодействия. Понимание этих aberrаций сигнальных путей и их взаимосвязей имеет решающее значение для исследований, направленных на выявление потенциальных терапевтических мишеней [33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены новые данные об опухолевом микроокружении миоматозных узлов и перифокального миометрия у пациенток репродуктивного возраста с клиническим диагнозом ММ, а также ММ в сочетании с аденомиозом. Наличие гормонозависимого и спонтанного пролиферативного и проонкогенного потенциала эндо- и миометрия при аденомиозе и ММ [11; 26] обращает внимание к дальнейшему поиску регулирующих их формирование и развитие патогенетических факторов и прогностических биомаркеров.

Задача первого раздела работы – изучить характер экспрессии HPSE и ее субстрата HSP в эу- и гетеротопическом эндометрии у пациенток репродуктивного возраста с аденомиозом и ММ с учетом медленного и прогрессирующего развития миомы, оцениваемого по объему тела матки.

Повышение активности HPSE в гетеротопическом эндометрии сочетается с прогрессирующим характером миоматозного процесса и может способствовать инвазии эндометрия в миометрий с развитием аденомиоза.

В выборе других задач исследования и методов изучения операционного материала принимали во внимание, что по-прежнему актуально изучить фундаментальные основы миоматозного процесса, прогнозировать его прогрессирование, оптимизировать ведение пациенток с миомой тела матки и бесплодием, а также улучшить их качество жизни. Нами представлены результаты изучения содержания цитокин-продуцирующего потенциала доминирующих миоматозных узлов и перифокального миометрия в условиях предоперационного применения одного из СМПР. Сначала дана характеристика клинического материала и представлены структурные и ИГХ особенности операционного материала миоматозных узлов.

В настоящее время не синтезировано эффективного препарата для длительного лечения пациенток с ММ без нежелательных побочных проявлений [27]. Применяемые в клинике агонисты ГнРГ, прогестагены и антигестагены используют по показаниям, кратковременно, преимущественно в период

подготовки к оперативному лечению. Определенные надежды были связаны с УА, однако его применение для купирования симптомов миомы перед операцией индуцировало ряд проблем, оценка которых продолжает привлекать внимание. Тем не менее, не утратил своей актуальности анализ клинического применения УА [80; 87; 120], а фундаментальные исследования можно использовать для более глубокого изучения патогенеза ММ как пролиферативно-клеточного доброкачественного опухолевого процесса, характеризующегося различной скоростью пролиферации опухолевых миоцитов и различным количеством продукции компонентов ВКМ.

По данным гистологического исследования, снижена плотность воспалительно-клеточной инфильтрации в образцах доминантных миоматозных узлов у пациенток, использовавших перед операцией селективный модулятор PgR; при этом экспрессия PgR в миометрии прямо коррелировала с воспалительной инфильтрацией лейомиомы. При исследовании молекулярно-биологических маркеров воспаления и ангиогенеза показатели базовой продукции ГМ-КСФ и VEGF в миоматозных узлах и перифокальном миометрии были сопоставимыми, в отличие от стимулированной ПА продукции данных сигнальных молекул. Так, содержание ГМ-КСФ в супернатантах в условиях стимуляции *in vitro* в образцах наблюдений без предоперационной гормонотерапии было в 2 раза меньше в миоматозных узлах, чем в миометрии, а экспрессия VEGF – почти в 2 раза выше.

Продукция ГМ-КСФ в миоматозных узлах после *in vitro* стимуляции статистически значимо меньше во 2-й группе после применения селективного модулятора PgR по сравнению с 1-й группой без гормонотерапии; экспрессия VEGF в миоматозном узле при ИГХ исследовании была выше в 1-й группе по сравнению со 2-й. ИВПА метаболита Pg – 17-OH-Pr – в образцах миометрии в условиях стимуляции *in vitro* был ниже во 2-й группе. В целом, в доминантном миоматозном узле применение селективного модулятора PgR способствовало снижению экспрессии VEGF и продукции *in vitro* ГМ-КСФ при отсутствии

влияния на перифокальный миометрий, что демонстрирует его проангиогенный и провоспалительный потенциал у пациенток с миомой матки.

У пациенток с ММ и аденомиозом было больше миоматозных узлов ($p = 0,019$) по сравнению с пациентками без любой формы эндометриоза, при этом наибольший диаметр узла и степень его фиброза были у женщин без аденомиоза ($p = 0,034$ и $p = 0,039$ соответственно). При наличии аденомиоза индуцированная продукция VEGF в узле больше ($p = 0,033$), а экспрессия рецепторов к прогестерону в перифокальном миометрии – меньше ($p = 0,045$).

Экспрессия VEGF в перифокальном миометрии у пациенток с ММ слабо положительно коррелировала с ИМТ. Количество миоматозных узлов слабо положительно коррелировало с индексом влияния поликлональных активаторов на продукцию VEGF в доминантном узле *in vitro*. Степень фиброза доминантного узла умеренно положительно коррелировала с экспрессией VEGF в перифокальном миометрии по данным ИГХ. Это свидетельствует о системности миоматозной трансформации миометрия с мультифокальностью опухолевого роста и потенциалом образования новых миоматозных узлов у пациенток с повышенным ИМТ.

ВЫВОДЫ

1. В очагах аденомиоза экспрессия гепараназы отрицательно коррелирует с содержанием гепарансульфата; у пациенток с объемом тела матки более 12 нед экспрессия гепараназы значительно превышает показатели при объеме тела матки менее 12 нед «беременности», что свидетельствует об участии гликозилированных молекул в патогенезе аденомиоза у женщин с миомой матки.

2. У пациенток с миомой и аденомиозом было больше миоматозных узлов ($p = 0,019$) относительно наблюдений пациенток с миомой матки, при этом наибольший диаметр узла и степень его фиброза были у женщин без аденомиоза ($p = 0,034$ и $p = 0,039$ соответственно). Экспрессия фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в перифокальном миометрии слабо положительно коррелировала с индексом массы тела пациенток с миомой.

3. Плотность воспалительно-клеточной инфильтрации в узле под влиянием селективного модулятора прогестероновых рецепторов (PgR) снижена; при этом воспалительная инфильтрация узлов прямо коррелировала с экспрессией прогестероновых рецепторов (PgR) в миометрии.

4. Показатели базовой продукции гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в миометрии и миоматозных узлах сопоставимы, в отличие от стимулированной поликлональными активаторами (ПА) продукции данных сигнальных молекул при инкубации *in vitro*. Без гормонотерапии содержание гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) в супернатантах в условиях стимуляции было в 2 раза меньше в миоматозных узлах, чем в миометрии, а экспрессия фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) – почти в 2 раза выше.

5. Продукция гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) в миоматозных узлах после *in vitro* стимуляции статистически значимо меньше после применения селективного модулятора прогестероновых рецепторов (PgR) по сравнению с группой без гормонотерапии; экспрессия

фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в миоматозном узле при иммуногистохимическом исследовании была выше в группе без гормонотерапии по сравнению с группой, принимавшей улипристала ацетат. В образцах миометрия индекс влияния поликлональных активаторов (ИБПА) 17-OH-Pg в условиях стимуляции *in vitro* был ниже в группе с улипристалом ацетата.

6. Выявлены обратная зависимость между экспрессией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в доминантном узле и степенью его фиброза, а также реципрокные отношения между экспрессией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в узле и перифокальном миометрии, что отражает системность и потенциал прогрессирования опухолевого роста.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Наличие положительной корреляции между индексом массы тела пациентки и экспрессией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в перифокальном миометрии и его торпидность к воздействию селективного модулятора прогестероновых рецепторов позволяет рекомендовать снижение избыточной массы тела как фактора развития миомы матки.

2. Исследование экспрессии гепараназы и гепарансульфатов в очагах аденомиоза позволит прогнозировать скорость прогрессирования миомы матки у женщин репродуктивного возраста.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Впервые при исследовании патоморфогенеза миомы матки и ее сочетания с аденомиозом была изучена роль гепарансульфатпротеогликанов – сложных белково-углеводных молекул в составе внеклеточного матрикса, локализующихся в его «аморфном» компартменте и в базальных мембранах. Гепарансульфаты являются важным элементом «матрисом» в качестве основных мест связывания факторов роста, цитокинов и других молекул матрикса; при этом вариабельны по количеству гликозаминогликановых цепей и их сульфатированию, что позволяет им не только организовывать матрикс и тканевый гомеостаз, но и влиять на ключевые сигнальные каскады, определяющие межклеточные взаимодействия и патологические реакции.

Гепарансульфаты сложно регулируются гепараназой (HPSE), единственной эндогликозидазой, катализирующей деградацию их боковых цепей, что приводит к ремоделированию ВКМ и базальных мембран и облегчает высвобождение различных связанных молекул, таких как факторы роста, цитокины и ферменты, способствуя инициации и прогрессированию воспаления, ангиогенеза, фиброза, опухолевого роста и метастазирования. Фармакологами ведутся поиски потенциальных ингибиторов этого фермента у пациентов со злокачественными опухолями, что позволит стабилизировать гомеостаз ВКМ и препятствовать развитию многих других патологических процессов с участием гепараназы.

Поскольку в патогенезе миомы матки и аденомиоза имеются проявления воспаления, ангиогенеза, фиброза и опухолевого роста, целесообразно продолжить изучение роли гепарансульфатов и гепараназы, а также других протеогликанов и ферментов синтеза и деградации их углеводных цепей, в условиях применения гормонотерапии разрешенными препаратами, что позволит выявить их влияние на сигнальные пути и определить потенциальные мишени.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМК	–	аномальные маточные кровотечения
ВЗОМТ	–	воспалительные заболевания органов малого таза
ВКМ	–	внеклеточный матрикс
ВОЗ	–	Всемирная организация здравоохранения
ГМ-КСФ	–	гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ГнРГ	–	гонадотропин-рилизинг гормон
ИВПА	–	индекс влияния поликлональных активаторов
ИГХ	–	иммуногистохимия
ИМТ	–	индекс массы тела
ИППП	–	инфекции, передаваемые половым путем
ИФА	–	иммуноферментный анализ
КОК	–	комбинированные оральные контрацептивы
МКБ 10	–	Международная классификация болезней 10-го пересмотра
ММ	–	миома матки
МРТ	–	магнитно-резонансная томография
НГЭ	–	наружный генитальный эндометриоз
НОМЦ	–	нарушение овариально-маточного цикла
ПА	–	поликлональные активаторы
СМПР	–	селективные модуляторы прогестероновых рецепторов
УА	–	улипристала ацетат
УЗИ	–	ультразвуковое исследование
ФСГ	–	фолликулостимулирующий гормон
ХТБ	–	хроническая тазовая боль
ЭКО	–	экстракорпоральное оплодотворение
17-ОН-Pg	–	17-гидроксипрогестерон
α -SMA	–	гладкомышечный альфа-актин
DAB (ДАБ)	–	диаминобензидин
EGFR	–	рецептор эпидермального фактора роста

EsR	– эстрогеновые рецепторы
FGRF	– рецептор фактора роста фибробластов
FIGO	– Международной федерации акушерства и гинекологии
GR	– глюкокортикоидный рецептор
HMGA2	– белок группы высокой мобильности A2
HPSE	– фермент гепараназа
HSP	– гепарансульфаты
И (ИЛ)	– интерлейкин
MED12	– комплекс медиаторных субъединиц 12
PgR	– прогестероновые рецепторы
rs	– коэффициент корреляции Спирмена
TGF β	– трансформирующий фактор роста β
TNF α	– фактор некроза опухоли α
VEGF	– фактор роста эндотелия сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян, Л. В. Состояние репродуктивной системы у больных доброкачественными опухолями внутренних гениталий и принципы восстановительного лечения / Л. В. Адамян. – Москва, 1985. – с.
2. Антагонисты гонадотропного релизинг-гормона в практике акушера-гинеколога: механизм действия, показания, эффективность и безопасность / М. Р. Оразов, В. Е. Радзинский, А. И. Давыдов, Е. Д. Долгов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2026. – Т. 25, № 2. – С. 49–54.
3. Бродский, Г. В. Миома матки как фактор риска при трубном бесплодии / Г. В. Бродский, Л. В. Адамян, Г. Т. Сухих Акушерство и гинекология. – 2018. – № 10. – С. 92–98.
4. Буланов, М. Н. Ультразвуковая гинекология. В двух частях / М. Н. Буланов. – Москва : ВИДАР, 2012. – 1016 с.
5. Гены рецепторов эстрогенов и прогестерона и характер поражения матки при миоме / О. Б. Алтухова, В. Е. Радзинский, С. С. Сиротина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2025. – № 3. – С. 113–119.
6. Гиперплазия эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом и миомой матки / Г. Х. Толибова, Т. Г. Траль, М. И. Кахиани, И. Ю. Коган // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2020. – Т. 20, № 6. – С. 90–95.
7. Гуриев, Т. Д. Сочетание миомы матки и аденомиоза / Т. Д. Гуриев, И. С. Сидорова, А. Л. Унанян. – Москва : МИА, 2012. – 256 с.
8. Иммуногистохимические маркеры рецидивирования миомы матки / Н. М. Тоноян, И. Ф. Козаченко, А. В. Асатурова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2022. – № 4. – С. 123–131.
9. Клинико-морфологические аспекты лейомиомы матки у молодых женщин / Н. А. Щукина, С. Н. Буянова, Н. И. Кондриков [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – Т. 16, № 1. – С. 21–27.

10. Комплексы генотипов ряда цитокинов в конституциональной предрасположенности российских женщин европеоидного происхождения к развитию лейомиомы матки / В. И. Коненков, Е. Г. Королева, В. Ф. Прокофьев [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2024. – № 9. – С. 108–115.
11. Леваков, С. А. Миома матки : учебное пособие / С. А. Леваков, О. В. Зайратьянц, Х. Р. Мовтаева. – Москва : Группа МДВ, 2019. – 168 с.
12. Метастазирующая лейомиома или синхронное поражение тела матки и вульвы? / И. В. Баринова, С. Н. Буянова, Н. И. Кондриков [и др.] // Архив патологии. – 2020. – Т. 82, № 1. – С. 62–67.
13. Миома матки : Клинические рекомендации РФ 2024 (Россия) / Российское общество акушеров-гинекологов. – URL: <https://diseases.medelement.com/disease=mrk4xygve2391343772>. – Текст : электронный.
14. Миома матки и аденомиоз: Молекулярная характеристика по экспрессии генов стероидных рецепторов / С. В. Шрамко, Л. Ф. Гуляева, Л. Г. Баженова, В. Г. Левченко // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 4. – С. 58–63.
15. Миома матки: Алгоритм ведения и лечения / А. З. Хашукоева, С. А. Хлынова, Э. А. Маркова, А. Х. Каранашева // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 3(Приложение). – С. 24–27.
16. Миома матки: диагностика лечение и реабилитация : клинические рекомендации (протокол лечения) / Л. В. Адамян, Е. Н. Андреева, Н. В. Артымук [и др.]. – Москва, 2015. – 69 с.
17. Молекулярные механизмы и морфологические проявления редукции лейомиомы, индуцированной селективными модуляторами рецепторов прогестерона / Т. А. Демура, З. В. Ревазова, Е. А. Коган, Л. В. Адамян // Архив патологии. – 2017. – Т. 79, № 3. – С. 19–26.
18. Молекулярные механизмы патогенеза миомы матки: Анализ мутаций гена MED12 в российской популяции / М. В. Кузнецова, Д. Ю. Трофимов, Е. Ю. Тихончук [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. –

№ 10. – С. 73–79.

19. Подзолкова, Н. М. Миома матки / Н. М. Подзолкова, В. В. Коренная, Ю. А. Колода. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 160 с.

20. Подзолкова, Н. М. Опыт применения улипристала ацетата у пациенток с миомой матки / Н. М. Подзолкова, К. В. Пучков, В. В. Коренная // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 3. – С. 80–84.

21. Пономаренко, И. В. Современные представления об этиопатогенезе и факторах риска лейомиомы матки / И. В. Пономаренко, М. И. Чурносков // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 8. – С. 27–32.

22. Противовоспалительная активность цитокинов сыворотки крови (IL-4, IL-10, IL-13) и природного антагониста рецептора IL-1В (IL-1RA) у женщин с миомой матки / В. И. Коненков, Е. Г. Королева, Н. Б. Орлов [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 10. – С. 80–85.

23. Рецептивность эндометрия у больных с доброкачественными заболеваниями матки в сочетании с бесплодием до и после оперативного лечения / И. Ф. Козаченко, Н. М. Файзуллина, А. И. Щеголев, Л. В. Адамян // Акушерство и гинекология. – 2020. – № 11. – С. 147–158.

24. Рецептивность эндометрия у женщин с миомой матки / Е. А. Коган, С. И. Аскольская, П. Н. Бурыкина, Н. М. Файзулина // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 8-2. – С. 42–48.

25. Роль микросателлитной нестабильности генома при заболеваниях шейки матки у женщин с миомой матки, аденомиозом, гиперплазией эндометрия / И. С. Сидорова, А. Л. Унанян, Д. В. Залетаев [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – Т. 12, № 4. – С. 13–18.

26. Роль фактора роста эндотелия сосудов в прогрессировании лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста / И. О. Маринкин, С. В. Айдагулова, Ю. В. Зенина [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – Т. 16, № 6. – С. 4–8.

27. Серов, В. Н. Акушерство и гинекология : клинические рекомендации / под ред. В. Н. Серова, Г. Т. Сухих. – Москва : ГЭОТАР-Медиа,

2014. – 1024 с.

28. Современные аспекты роста миомы матки / С. Н. Буянова, Н. В. Юдина, С. А. Гукасян, М. В. Мгелиашвили // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – Т. 12, № 4. – С. 42–48.

29. Соматические мутации в экзоне 2 гена MED12 у женщин с одиночной и множественной миомой матки / Н. С. Согоян, М. В. Кузнецова, А. В. Асатурова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 12. – С. 63–70.

30. Сравнительный анализ эффективности различных видов медикаментозной профилактики рецидива миомы матки у пациенток репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию / С. Ж. Бадмаева, В. Б. Цхай, В. А. Каплунов, А. Н. Наркевич // Сибирское медицинское обозрение. – 2020. – № 4. – С. 77–83.

31. Тихомиров, А. Л. Миома матки / А. Л. Тихомиров, Д. М. Лубнин. – Москва : Медицинское информационное агентство, 2006. – 176 с.

32. Тихомиров, А. Л. Миома матки в сочетании с эндометриозом и гиперплазией эндометрия. Как лечить? / А. Л. Тихомиров, И. Б. Манухин, С. И. Сарсания // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2014. – Т. 14, № 3. – С. 76–83.

33. Тихомиров, А. Л. Улипристала ацетат – новые возможности в лечении лейомиомы матки / А. Л. Тихомиров, В. В. Казенашев // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 9. – С. 97–105.

34. Улипристала ацетат и хирургическое лечение лейомиомы матки. Дифференциация подходов с учетом обновленной инструкции к лекарственному препарату / А. И. Давыдов, В. А. Лебедев, В. М. Пашков [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2022. – Т. 21, № 5. – С. 88–94.

35. Цхай, В. Б. Аденомиоз. Контраверсии современности. Боли. Кровотечения. Бесплодие / В. Б. Цхай / под ред. В. Е. Радзинского. – Москва : StatusPraesens, 2020. – 208 с.

36. Эффективность программы ЭКО у женщин с миомой матки в

зависимости от морфофункционального состояния эндометрия / А. Е. Мартынова, В. Ю. Смольникова, Т. А. Демура, Е. А. Коган // *Акушерство и гинекология*. – 2013. – № 2. – С. 57–61.

37. A 40-Year-old woman with inoperable uterine fibroids treated with combined uterine artery embolization and relugolix / L. Leo, R. Thomasset, A. Massaro [et al.] // *J. Case Rep.* – 2025. – Vol. 26. – P. 946334.

38. A Call-to-action for clinicians to implement evidence-based best practices when caring for women with uterine fibroids / N. Leyland, M. Leonardi, A. Murji [et al.] // *Reproductive Sciences*. – 2022. – Vol. 29 (4). – P. 1188–1196.

39. A proteomic analysis of human uterine myoma / A. Rizzello, J. Franck, M. Pellegrino [et al.] // *Current protein & peptide science*. – 2017. – Vol. 18 (2). – P. 167–174.

40. Activation of FGFR genes by genetic and epigenetic alterations in uterine leiomyomas / V. Jokinen, A. Taira, Å. Kolterud [et al.] // *BJC Rep.* – 2025. – Vol. 3 (1). – P. 9.

41. Adenomyosis pathogenesis: Insights from next-generation sequencing / S. E. Bulun, S. Yildiz, M. Adli, J. J. Wei // *Hum. Reprod. Update*. – 2021. – Vol. 27 (6). – P. 1086–1097.

42. Adenomyosis: A sonographic diagnosis / R. K. Cunningham, M. M. Horrow, R. J. Smith, J. Springer // *Radiographics*. – 2018. – Vol. 38 (5). – P. 1576–1589.

43. Adipocyte and adipokines promote a uterine leiomyoma friendly microenvironment / S. Afrin, M. Ramaiyer, U. A. M. Begum, M. A. Borahay // *Nutrients*. – 2023. – Vol. 15 (3). – P. 715.

44. Afratis, N. A. Novel approaches for extracellular matrix targeting in disease treatment / N. A. Afratis, I. Sagi // *Methods Mol. Biol.* – 2019. – Vol. 1952. – P. 261–275.

45. Altered extracellular matrix-related pathways accelerate the transition from normal to prefibroid myometrium in Black women / M. V. Bariani, S. L. Grimm, C. Coarfa [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2024. – Vol. 231 (3). –

P. 1–12.

46. An integral membrane constitutively active heparanase enhances the tumor infiltration capability of NK cells / S. Liborio-Ramos, I. Quiros-Fernandez, N. Ilan [et al.] // *Oncoimmunology*. – 2025. – Vol. 14 (1). – P. 2437917.

47. Analysis of expression of the ANG1, CaSR and FAK proteins in uterine fibroids / A. Markowska, M. de Mezer, P. Kurzawa [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – Vol. 25 (13). – P. 7164.

48. Analysis of MED12 mutation in multiple uterine leiomyomas in South Korean patients / M. Lee, K. Cheon, B. Chae [et al.] // *Int. J. Med. Sci.* – 2018. – Vol. 15. – P. 124–128.

49. Analysis of risk factors for postoperative bleeding and recurrence after laparoscopic myomectomy in patients with uterine fibroids: A retrospective cohort study / H. Han, W. Han, T. Su [et al.] // *Gland. Surg.* – 2023. – Vol. 12 (4). – P. 474–486.

50. Analysis of risk factors for recurrence after laparoscopic myomectomy: A retrospective study / T. Meng, S. Cheng, X. Li [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2025. – Vol. 104 (11). – P. 41697.

51. Aninye, I. O. 2025 SWHR Women's Health Research Agenda: Prioritizing uterine fibroids, lupus, and metabolism / I. O. Aninye, S. Chew, S. J. Goulmamine // *J Womens Health (Larchmt)*. – 2025. – Vol. 34 (4). – P. 443–450.

52. Arici, A. Transforming growth factor-beta3 is expressed at high levels in leiomyoma where it stimulates fibronectin expression and cell proliferation / A. Arici, I. Sozen // *Fertil Steril*. – 2000. – Vol. 73. – P. 1006–1011.

53. Benagiano, G. Structural and molecular features of the endomyometrium in endometriosis and adenomyosis / G. Benagiano, I. Brosens, M. Habiba // *Hum. Reprod. Update*. – 2014. – Vol. 20 (3). – P. 386–402.

54. Beyond VEGF and TGF- β : A comprehensive review of growth factor pathways in the pathophysiology of uterine leiomyomas / N. Rozmurat, S. Terzic, P. Zhao [et al.] // *Biology (Basel)*. – 2026. – Vol. 15 (1). – P. 92.

55. Bian, X. Risk factors for recurrence in patients with uterine fibroids treated with high-intensity focused ultrasound / X. Bian, X. Gu // *Technol. Health*

Care. – 2025. – Vol. 33 (2). – P. 945–950.

56. BMAL1 regulates collagen production in the myometrium and leiomyomas. / Y. Dai, M. Ono, T. Suzuki [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2025. – Vol. 32 (4). – P. 1115–1128.

57. Caesarean myomectomy in pregnant women with uterine fibroids / T. Dey, M. G. Cole, D. Brown [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2025. – Vol. 1 (1). – P. 16119.

58. Causal relationship between uterine fibroids and cardiovascular disease: A two-sample Mendelian randomization study / J. Cui, Y. C. Zhao, L. Z. She, T. J. Wang // *Medicine (Baltimore)*. – 2025. – Vol. 104 (9). – P. e41713.

59. Cesarean myomectomy in the last ten years; A true shift from contraindication to indication: A systematic review and meta-analysis / M. Goyal, A. S. Dawood, S. B. Elbohoty [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2021. – Vol. 256. – P. 145–157.

60. Changes in symptom burden and quality of life among women with uterine fibroids receiving relugolix combination therapy: A plain language summary / E. A. Stewart, A. S. Lukes, R. Venturella [et al.] // *Comp. Eff. Res.* – 2024. – Vol. 13 (8). – P. 230194.

61. Chronic inflammation may enhance leiomyoma development by the involvement of progenitor cells / M. Orciani, M. Caffarini, A. Biagini [et al.] // *Stem Cells International*. – 2018. – Vol. 2018. – P. 1716246.

62. Chuang, T. D. Tranilast inhibits genes functionally involved in cell proliferation, fibrosis, and epigenetic regulation and epigenetically induces miR-29c expression in leiomyoma cells / T. D. Chuang, O. Khorram // *Reprod Sci.* – 2017. – Vol. 24 (09). – P. 1253–1263.

63. Clinical characteristics and local histopathological modulators of endometriosis and its progression / A. M. Istrate-Ofițeru, C A. Mogoantă, G. L. Zorilă [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2024. – Vol. 25 (3). – P. 1789.

64. Clinical limitations of the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) classification of uterine fibroids / S. K. Laughlin-Tommaso,

G. K. Hesley, M. R. Hopkins, [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2017. – Vol. 139 (2). – P. 143–148.

65. Clinical signs and diagnosis of fibroids from adolescence to menopause / E. Mension, F. Carmona, S. Vannuccini, C. Chapron // *Fertil. Steril.* – 2024. – Vol. 122 (1). – P. 12–19.

66. Combined oral contraceptive utilization and uterine fibroid incidence: A prospective study in a cohort of African-American women / S. R. Hoffman, J. S. Smith, M. J. Funk [et al.] // *PLoS One.* – 2024. – Vol. 19 (5). – P. 0303823.

67. Comparative effects of SPRM asoprisnil (J867) on proliferation, apoptosis, and the expression of growth factors in cultured uterine leiomyoma cells and normal myometrial cells / N. Ohara, A. Morikawa, W. Chen [et al.] // *Reprod Sci.* – 2007. – Vol. 14 (8 Suppl). – P. 20–27.

68. Comprehensive analysis of normal adjacent to tumor transcriptomes / D. Aran, R. Camarda, J. Odegaard [et al.] // *J. Nat. Commun.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1077.

69. Current and emerging treatment options for uterine fibroids / M. Ali, M. Ciebiera, M. Włodarczyk [et al.] // *Drugs.* – 2023. – Vol. 83 (18). – P. 1649–1675.

70. Cytokine patterns differ seasonally between women with and without uterine leiomyomata / G. Wegienka, D. D. Baird, T. Cooper [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2013. – Vol. 70 (4). – P. 327–335.

71. Deneris, A. PALM-COEIN Nomenclature for abnormal uterine bleeding / A. Deneris // *J. Midwifery Womens Health.* – 2016. – Vol. 61 (3). – P. 376–379.

72. Diagnosing adenomyosis: An integrated clinical and imaging approach / C. Chapron, S. Vannuccini, P. Santulli [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2020. – Vol. 26 (3). – P. 392–411.

73. Dietary intake is associated with the prevalence of uterine leiomyoma in Korean women: A retrospective cohort study / M. J. Kim, S. Kim, J. J. Kim [et al.] // *PLoS One.* – 2024. – Vol. 19 (2). – P. 291157.

74. Does vascular endothelial growth factor participate in uterine myoma growth stimulation? / M. Wolańska, A. Małkowski, L. Romanowicz, E. Bańkowski //

Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2012. – Vol. 164 (1). – P. 93–97.

75. Dolmans, M. M. Conservative management of uterine fibroid-related heavy menstrual bleeding and infertility: Time for a deeper mechanistic understanding and an individualized approach / M. M. Dolmans, L. Cacciottola, J. J. Donnez // Clin. Med. – 2021. – Vol. 10 (19). – P. 4389.

76. Effects of polyclonal activators on cell differentiation and cytokine production of cultured invasive breast carcinoma of no special type, their association with tumour histopathological parameters and lymph node metastasis / A. Autenshlyus, S. Arkhipov, E. Mikhailova [et al.] // Intern. J. Immunopath. Pharm. – 2020. – Vol. 34. – P. 2058738420950580.

77. Efficacy and safety of different doses of mifepristone in the treatment of uterine fibroids: A meta-analysis / X. Yin, L. He, H. Xu [et al.] // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2024. – Vol. 303. – P. 302–309.

78. Efficacy and safety of elagolix with add-back therapy in women with uterine fibroids and coexisting adenomyosis / O. Muneyyirci-Delale, D. F. Archer, C. D. Owens [et al.] // F S Rep. – 2021. – Vol. 2 (3). – P. 338–346.

79. Efficacy and safety of repeated use of ulipristal acetate in uterine fibroids / J. Donnez, R. Hudecek, O. Donnez [et al.] // Fertil. Steril. – 2015. – Vol. 103 (2). – P. 519–527.

80. Ekanem, E. Medical Therapy for fibroids: What next for Ulipristal Acetate? / E. Ekanem, V. Talaulikar // Adv. Ther. – 2021. – Vol. 38 (1). – P. 137–148.

81. Endometrial angiogenesis of abnormal uterine bleeding and infertility in patients with uterine fibroids – A systematic review / E. E. Don, M. A. Middelkoop, W. J. K. Hehenkamp [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24 (8). – P. 7011.

82. Endometriosis and adenomyosis: Shared pathophysiology / S. E. Bulun, S. Yildiz, M. Adli [et al.] // Fertil. Steril. – 2023. – Vol. 119 (5). – P. 746–750.

83. Enhanced glycolysis in the myometrium with ectopic endometrium of patients with adenomyosis: A preliminary study / S. Huang, X. Huang, X. Wen [et al.] // Gynecol Endocrinol. – 2024. – Vol. 40 (1). – P. 2332411.

84. Epigenomic and enhancer dysregulation in uterine leiomyomas /

O. W. Mlodawska, P. Saini, J. B. Parker [et al.] // Hum. Reprod. Update. – 2022. – Vol. 28 (4). – P. 518–547.

85. Estradiol induces heparanase-1 expression and heparan sulphate proteoglycan degradation in human endometrium / X. Xu, J. Ding, G. Rao [et al.] // Hum. Reprod. – 2007. – Vol. 22 (4). – P. 927–937.

86. Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPR30 / E. R. Prossnitz, J. B. Arterburn, H. O. Smith [et al.] // Annu Rev. Physiol. – 2008. – Vol. 70. – P. 165–90.

87. Evaluation of marketing authorization and clinical implementation of ulipristal acetate for uterine fibroids / M. A. Middelkoop, M. E. de Lange, T. J. Clark [et al.] // Hum. Reprod. – 2022. – Vol. 37 (5). – P. 884–894.

88. Evaluation of morphology, apoptosis, and cell proliferation of the uterus in postmenopausal women / W. Ratajczak, M. Łazowska, M. Laszczyńska [et al.] // Histol. Histopathol. – 2025. – Vol. 40 (5). – P. 653–667.

89. Evidence of biomechanical and collagen heterogeneity in uterine fibroids. / F. L. Jayes, B. Liu, L. Feng [et al.] // PLoS One. – 2019. – Vol. 14 (4). – P. 215646.

90. Expression of insulin-like growth factors (IGFs) and IGF signaling: Molecular complexity in uterine leiomyomas / L. Peng, Y. Wen, Y. Han [et al.] // Fertil. Steril. – 2009. – Vol. 91. – P. 2664–2675.

91. Expression of vascular endothelial growth factor mRNA in human leiomyomas / A. Lewicka, B. Osuch, K. Cendrowski [et al.] // Gynec. Endocrinol. – 2010. – Vol. 26. – P. 451–455.

92. Expression of VEGF isoforms and their receptors in uterine myomas / D. Plewka, M. Morek, E. Bogunia [et al.] // Ginekol. Pol. – 2016. – Vol. 87 (3). – P. 166–177.

93. Expression profiles of E/P receptors and fibrosis in GnRHa-treated and -untreated women with different uterine leiomyomas / K. N. Khan, A. Fujishita, A. Koshiba [et al.] // J. PLoS One. – 2020. – Vol. 15 (11). – P. 242246.

94. Extracellular matrix in uterine leiomyoma pathogenesis: A potential

target for future therapeutics / M. S. Islam, A. Ciavattini, F. Petraglia [et al.] // *Hum Reprod Update*. – 2018. – Vol. 24 (1). – P. 59–85.

95. Extracellular matrix structure / A. D. Theocharis, S. S. Skandalis, C. Gialeli, N. K. Karamanos // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2016. – Vol. 97. – P. 4–27.

96. Farkas, A. H. Structural gynecological disease: Fibroids, endometriosis, ovarian cysts / A. H. Farkas, H. Abumusa, B. Rossiter // *Med. Clin. North. Am.* – 2023. – Vol. 107 (2). – P. 317–328.

97. Farrer-Brown, G. The vascular patterns in myomatous uteri / G. Farrer-Brown, J. O. Beilby, M. H. Tarbit // *J. Obstet. Gynaecol. Br. Commonw.* – 1970. – Vol. 77 (11). – P. 967–975.

98. FIGO classification system (PALM-COEIN) for causes of abnormal uterine bleeding in nonpregnant women of reproductive age / M. G. Munro, H. O. D. Critchley, M. S. Broder [et al.] // *Intern. J. Gyn. Obstet.* – 2011. – Vol. 113 (1). – P. 3–13.

99. FKBP51 contributes to uterine leiomyoma pathogenesis by inducing cell proliferation and extracellular matrix deposition / E. P. New, N. Semerci, A. Ozmen [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2022. – Vol. 29 (6). – P. 1939–1949.

100. Gene expression abnormalities in histologically normal breast epithelium of breast cancer patients / A. Tripathi, C. King, A. de la Morenas [et al.] // *Int. J. Cancer* – 2008. – Vol. 122. – P. 1557–1566.

101. Gene expression analysis reveals an angiogenic profile in uterine leiomyoma pseudocapsule / S. Di Tommaso, S. Massari, A. Malvasi [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 19 (6). – P. 380–387.

102. Gene expression changes in uterine myomas in response to ulipristal acetate treatment / G. E. Courtoy, J. Donnez, J. Ambroise [et al.] // *Reprod. Biomed. Online*. – 2018. – Vol. 37 (2). – P. 224–233.

103. Genome-wide association and epidemiological analyses reveal common genetic origins between uterine leiomyomata and endometriosis / C. S. Gallagher, N. Mäkinen, H. R. Harris [et al.] // *Nat. Commun.* – 2022. – Vol. 13 (1). – P. 5543.

104. Greco, N. Heparan sulfate proteoglycans (HSPGs) and their degradation

in health and disease / N. Greco, V. Masola, M. Onisto // *Biomolecules*. – 2025. – Vol. 15 (11). – P. 1597.

105. Growth of uterine leiomyomata among premenopausal black and white women / SD Peddada, SK Laughlin, K Miner [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2008. – Vol. 105 (50). – P. 19887–19892.

106. Hormonal treatments for endometriosis: The endocrine background / S. Vannuccini, S. Clemenza, M. Rossi, F. Petraglia // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2022. – Vol. 23 (3). – P. 333–355.

107. Immunohistochemical expression of IL-1 β , IL-6, and NF- κ β in fibroids / M. de Mezer, N. Dolata, J. Markowska [et al.] // *Front Immunol.* – 2025. – Vol. 16. – P. 1571585.

108. Immunolocalization of VEGF, VEGF receptors, EGF-R and Ki-67 in leiomyoma, cellular leiomyoma and leiomyosarcoma / M. Sanci, C. Dikis, S. Inan [et al.] // *Acta Histochem.* – 2011. – Vol. 113. – P. 317–325.

109. Immunological changes associated with adenomyosis: A systematic review. / M. Bourdon, P. Santulli, M. Jeljeli [et al.] // *Hum Reprod Update*. – 2021. – Vol. 27 (1). – P. 108–129.

110. Importance of fibrosis in the pathogenesis of uterine leiomyoma and the promising anti-fibrotic effects of Dipeptidyl Peptidase-4 and fibroblast activation protein inhibitors in the treatment of uterine leiomyoma / A. S. Bhat, N. A. Singh, E. Rymbai [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2023. – Vol. 30 (5). – P. 1383–1398.

111. Increased HSD11 β 1 expression in human leiomyomatous uteri: Implication for enhanced glucocorticoid signaling / C. Malcom, O. Guzeloglu-Kayisli, B. Un [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2025. – Vol. 110 (12). – P. 330–339.

112. Inflammatory markers in women with reported benign gynecologic pathology: An analysis of the prostate, lung, colorectal and ovarian cancer screening trial / L. A. King, N. Wentzensen, M. P. Purdue [et al.] // *Ann. Epidemiol.* – 2022. – Vol. 68. – P. 1–8.

113. Jarvelainen, H. Pivotal role for decorin in angiogenesis / H. Jarvelainen, A. Sainio, T. N. Wight // *Matrix Biol.* – 2015. – Vol. 43 (4). – P. 15–26.

114. Leppert, P. C. The extracellular matrix contributes to mechanotransduction in uterine fibroids / P. C. Leppert, F. L. Jayes, J. H. Segars // *Obstet Gynecol Int.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 783289.

115. Lethaby, A. Preoperative medical therapy before surgery for uterine fibroids / A. Lethaby, L. Puscasiu, B. Vollenhoven // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2017. – Vol. 11 (11). – P. 547.

116. Li, F. Search for key genes, key signaling pathways, and immune cell infiltration in uterine fibroids by bioinformatics analysis / F. Li, J. Wang, W. Liu // *Medicine (Baltimore).* – 2023. – Vol. 102 (20). – P. 33815.

117. MacLean, J. A. Progesterone actions and resistance in gynecological disorders / J. A. MacLean, K. Hayashi // *Cells.* – 2022. – Vol. 11 (4). – P. 647.

118. Macrophages and immune responses in uterine fibroids / A. Zannotti, S. Greco, P. Pellegrino [et al.] // *Cells.* – 2021. – Vol. 10 (5). – P. 982.

119. Mapping human uterine disorders through single-cell transcriptomics / S Boldu-Fernández, C. Lliberos, C. Simon, A. Mas // *Cells.* – 2025. – Vol. 14 (3). – P. 156.

120. Markers of inflammation and vascular parameters in selective progesterone receptor modulator (ulipristal acetate)-treated uterine fibroids / I. Szydłowska, M. Grabowska, J. Nawrocka-Rutkowska [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2021. – Vol. 10 (16). – P. 3721.

121. Marsh, E. E. Uterine fibroids / E. E. Marsh, G. Wegienka, D. R. Williams // *JAMA.* – 2024. – Vol. 331 (17). – P. 1492–1493.

122. McGrath, I. M. Insights from Mendelian randomization and genetic correlation analyses into the relationship between endometriosis and its comorbidities / I. M. McGrath, G. W. Montgomery, S. Mortlock // *Hum Reprod Update.* – 2023. – Vol. 29 (5). – P. 655–674.

123. McWilliams, M. M. Recent advances in uterine fibroid etiology / M. M. McWilliams, V. M. Chennathukuzhi // *Semin. Reprod. Med.* – 2017. – Vol. 35 (2). – P. 181–189.

124. Mechanical stiffness influences the response of human uterine fibroid

cells to hormonal treatments / M. V. Bariani, E. Djibrila, E. Maajid [et al.] // *Reprod Sci.* – 2026. – Vol. 33 (1). – P. 129–140.

125. MED12 mutations in uterine fibroids – Their relationship to cytogenetic subgroups / D. N. Markowski, S. Bartnitzke, T. Löning [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2012. – Vol. 131 (7). – P. 1528–1536.

126. Membrane progesterone receptors in reproduction and cancer / P. Valadez-Cosmes, E. R. Vázquez-Martínez, M. Cerbón, I. Camacho-Arroyo // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 434. – P. 166–175.

127. Microvascular flow imaging of fibroids: A prospective pilot study / M. Frijlingh, B. Stoelinga, R. A. de Leeuw [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2024. – Vol. 103 (11). – P. 2193–2202.

128. Mitotic activity in uterine leiomyomas during the menstrual cycle / K. Kawaguchi, S. Fujii, I. Konishi [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1989. – Vol. 160 (3). – P. 637–641.

129. Modifiable prognostic factors in uterine fibroid development: A systematic review of literature / A. L. Keizer, A. Semmler, H. S. Kok [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2024. – Vol. 44 (1). – P. 2288225.

130. Molecular subclass of uterine fibroids predicts tumor shrinkage in response to ulipristal acetate / Å. Kolterud, N. Välimäki, H. Kuisma [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2023. – Vol. 32 (7). – P. 1063–1071.

131. Multiparametric quantitative magnetic resonance imaging of uterine fibroids for prediction of growth rate – A pilot study / M. Medved, C. B. Harmath, H. Siblini [et al.] // *Quant. Imaging Med. Surg.* – 2024. – Vol. 14 (7). – P. 4362–4375.

132. Mutant allele specific imbalance in oncogenes with copy number alterations: Occurrence, mechanisms, and potential clinical implications / C. C. Yu, W. Qiu, C. S. Juang [et al.] // *Cancer Lett.* – 2017. – Vol. 384. – P. 86–93.

133. Myoma migration: An unexpected «effect» with Ulipristal acetate treatment / A. Willame, R. Marci, P. Petignat, J. Dubuisson // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2016. – Vol. 20 (8). – P. 1439–1444.

134. Narrative Review of Chronic inflammation in uterine myoma: Lack of

specialized pro-resolving lipid mediators (SPMs) and vitamin D as a potential reason for the development of uterine fibroids / P. A. Regidor, M. Mayr, F. G. Santos [et al.] // *Biomedicines*. – 2025. – Vol. 13 (8). – P. 1832.

135. Nucci, M. R. *Gynecologic pathology* / M. R. Nucci, E. Oliva. – Elsevier Inc., 2009. – 709 p.

136. Okolo, S. Incidence, aetiology and epidemiology of uterine fibroids / S. Okolo // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. – 2008. – Vol. 22 (4). – P. 571–588.

137. Overhydroxylation of lysine of collagen increases uterine fibroids proliferation: Roles of lysyl hydroxylases, lysyl oxidases, and matrix metalloproteinases / M. Kamel, M. Wagih, G. S. Kilic [et al.] // *Biomed Res. Int*. – 2017. – Vol. 2017. – P. 5316845.

138. Park, B. S. Decorin: A multifunctional proteoglycan involved in oocyte maturation and trophoblast migration / B. S. Park, J. Lee, J. H. Jun // *Clin Exp Reprod Med*. – 2021. – Vol. 48 (4). – P. 303–310.

139. Preoperative administration of GnRH- α plus tibolone to premenopausal women with uterine fibroids: Evaluation of the clinical response, the immunohistochemical expression of PDGF, bFGF and VEGF and the vascular pattern / A. Di Lieto, M. De Falco, G. Mansueto [et al.] // *Steroids*. – 2005. – Vol. 70 (2). – P. 95–102.

140. Presence of adenomyosis at MRI reduces live birth rates in ART cycles for endometriosis / M. Bourdon, P. Santulli, C. Bordonne [et al.] // *Hum. Reprod*. – 2022. – Vol. 37 (7). – P. 1470–1479.

141. Progesterone and estrogen signaling in the endometrium: What goes wrong in endometriosis? / R. M. Marquardt, T. H. Kim, J. H. Shin, J. W. Jeong // *Int. J. Mol. Sci*. – 2019. – Vol. 20 (15). – P. 3822.

142. Progesterone is essential for maintenance and growth of uterine leiomyoma / H. Ishikawa, K. Ishi, V. A. Serna [et al.] // *Endocrinology*. – 2010. – Vol. 151 (6). – P. 2433–2442.

143. Progesterone signaling in uterine fibroids: Molecular mechanisms and therapeutic opportunities / I. Ploumaki, V. I. Macri, J. H. Segars, M. S. Islam // *Life*

Sci. – 2025. – Vol. 362. – P. 123345.

144. Psychosocial stress and microRNA expression profiles in myometrial tissue of women undergoing surgical treatment for uterine fibroids / C. K. Dye, H. Wu, B. VanNoy [et al.] // *Reprod Sci.* – 2024. – Vol. 31 (6). – P. 1651–1661.

145. Quantification of vascular endothelial growth factor-A in leiomyomas and adjacent myometrium / C. C. Gentry, S. O. Okolo, L. F. Fong [et al.] // *Clin. Sci. (Lond).* – 2001. – Vol. 101 (6). – P. 691–695.

146. Racial differences in the association of endometriosis and uterine leiomyomas with the risk of ovarian cancer / H. R. Harris, L. C. Peres, C. E. Johnson [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2023. – Vol. 141 (6). – P. 1124–1138.

147. Radiofrequency ablation for the treatment of uterine fibroids: A systematic review and meta-analysis by the AAGL practice committee / I. Chen, J. M. Berman, E. M. Balk [et al.] // *J. Minim. Invasive Gynecol.* – 2025. – Vol. 32 (1). – P. 74–91.

148. Radzinskiy, V. E. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in uterine tissues as one of the mechanisms of algogenesis in adenomyosis, associated with chronic pelvic pain / V. E. Radzinskiy, M. R. Orazov, O. M. Nosenko // *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* – 2016. – Vol. 60 (1). – P. 32–35.

149. Rafique, S. Mechanical signaling and extracellular matrix in uterine fibroid / S. Rafique, J. H. Segars, P. S. Leppert // *Semin Reprod Med.* – 2017. – Vol. 35. – P. 487–493.

150. Recent scientific advances in leiomyoma (uterine fibroids) research facilitates better understanding and management / D. K. Taylor, K. Holthouser, J. H. Segars, P. C. Leppert // *F1000Res.* – 2015. – Vol. 4. – P. 183.

151. Reis, F. M. Hormones and pathogenesis of uterine fibroids / F. M. Reis, E. Bloise, T. M. Ortiga-Carvalho // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2016. – Vol. 34. – P. 13–24.

152. Reproductive, obstetric, and perinatal outcomes of women with adenomyosis and endometriosis: A systematic review and meta-analysis / J. Horton, M. Sterrenburg, S. Lane [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2019. – Vol. 25 (5). –

P. 592–632.

153. Review of uterine fibroids: Imaging of typical and atypical features, variants, and mimics with emphasis on workup and FIGO classification / M. O. Awiwi, M. Badawy, A. M. Shaaban [et al.] // *Abdominal Radiology*. – 2022. – Vol. 47 (7). – P. 2468–2485.

154. Role of inflammation and immune response in the pathogenesis of uterine fibroids: Including their negative impact on reproductive outcomes / H. Ishikawa, Y. Goto, C. Hirooka [et al.] // *J Reprod Immunol*. – 2024. – Vol. 165. – P. 104317.

155. Role of inflammation in benign gynecologic disorders: From pathogenesis to novel therapies / A. AlAshqar, L. Reschke, G. W. Kirschen, M. A. Borahay // *Biol. Reprod*. – 2021. – Vol. 105 (1). – P. 7–31.

156. Role of matrix metalloproteinases in angiogenesis and cancer / S. Quintero-Fabián, R. Arreola, E. Becerril-Villanueva [et al.] // *Front. Oncol*. – 2019. – Vol. 9. – P. 1370.

157. Role of transforming growth factor β in uterine fibroid biology / M. Ciebiera, M. Włodarczyk, M. Wrzosek [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2017. – Vol. 18 (11). – P. 2435.

158. Safety and efficacy of the selective progesterone receptor modulator asoprisnil for heavy menstrual bleeding with uterine fibroids: Pooled analysis of two 12-month, placebo-controlled, randomized trials / E. A. Stewart, M. P. Diamond, A. R. W. Williams [et al.] // *Hum. Reprod*. – 2019. – Vol. 34 (4). – P. 623–634.

159. Saini, K. Progesterone and estrogen signaling in uterine fibroids: A tale of two interconnected pathways / K. Saini, S. Singh, N. Garg // *J Steroid Biochem Mol Biol*. – 2026. – Vol. 262. – P. 107036.

160. Selective progesterone receptor modulators for the medical treatment of uterine fibroids with a focus on Ulipristal acetate. *Biomed* / T. Rabe, N. Saenger, A. D. Ebert [et al.] // *Res. Int*. – 2018. – Vol. 2018. – P. 1374821.

161. Selective progesterone receptor modulators for the treatment of dysmenorrhea: An update / A. R. Speciale, K. Ozpinar, M. Giani [et al.] // *Expert*.

Opin. Pharmacother. – 2025. – Vol. 26 (3). – P. 257–264.

162. Selective progesterone receptor modulators-mechanisms and therapeutic utility / M. S. Islam, S. Afrin, S. I. Jones, J. Segars // *Endocr. Rev.* – 2020. – Vol. 41 (5). – P. 12.

163. Short-term change in growth of uterine leiomyoma: Tumor growth spurts / D. D. Baird, T. A. Garrett, S. K. Laughlin [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 95. – P. 242–246.

164. Short-term health-related quality of life after hysterectomy compared with myomectomy for symptomatic leiomyomas / W. K. Nicholson, G. Wegienka, S. Zhang [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2019. – Vol. 134 (2). – P. 261–269.

165. Signaling pathways in leiomyoma: Understanding pathobiology and implications for therapy / M. A. Borahay, A. Al-Hendy, G. S. Kilic, D. Boehning // *Mol. Med.* – 2015. – Vol. 21. – P. 242–256.

166. Sozen, I. Interactions of cytokines, growth factors, and the extracellular matrix in the cellular biology of uterine leiomyomata / I. Sozen, A. Arici // *Fertil Steril.* – 2002. – Vol. 78. – P. 1–12.

167. Surgical management of uterine fibroids / A. Lazaridis, M. Hirsch, G. Pistofidis, F. Odejinmi // *Curr Opin. Obstet. Gynecol.* – 2023. – Vol. 35 (5). – P. 440–445.

168. Syed, Y. Y. Relugolix/Estradiol/Norethisterone (Norethindrone) Acetate: A review in symptomatic uterine fibroids / Y. Y. Syed // *Drugs.* – 2022. – Vol. 82 (15). – P. 1549–1556.

169. Tailoring the diagnostic pathway for medical and surgical treatment of uterine fibroids: A Narrative review / G. Centini, A. Cannoni, A. Ginetti [et al.] // *Diagnostics (Basel).* – 2024. – Vol. 14 (18). – P. 2046.

170. Tal, R The role of angiogenic factors in fibroid pathogenesis: Potential implications for future therapy / R. Tal, J. H. Segars // *Hum. Reprod. Update.* – 2014. – Vol. 20 (2). – P. 194–216.

171. The "freeze-all" strategy seems to improve the chances of birth in adenomyosis-affected women / M. Bourdon, P. Santulli, C. Maignien [et al.] // *Fertil.*

Steril. – 2024. – Vol. 121 (3). – P. 460–469.

172. The biological impact of ulipristal acetate on cellular networks regulating uterine leiomyoma growth / A. Tinelli, I. P. Kosmas, O. A. Mynbaev [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2020. – Vol. 26 (3). – P. 310–317.

173. The challenge of FIGO type 3 leiomyomas and infertility: Exploring therapeutic alternatives amidst limited scientific certainties / A. Favilli, I. Mazzon, A. Etrusco [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2024. – Vol. 165 (3). – P. 975–987.

174. The growth of uterine myomas in untreated women: Influence factors and ultrasound monitoring / R. Armbrust, K. D. Wernecke, J. Sehouli, M. David // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2018. – Vol. 297 (1). – P. 131–137.

175. The human myometrial transcriptome and the DNA methylome of testosterone-treated patients resemble the myometria from fibroid patients / E. N. Paul, T. J. Carpenter, A. Bossick [et al.] // *Reprod Sci.* – 2025. – Vol. 32 (7). – P. 2223–2232.

176. The importance of the pseudocapsule in the management of uterine myoma: State of the art and expert recommendations / M. Cubo-Abert, M. Simó-González, S. Haimovich [et al.] // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2025. – Vol. 171 (2). – P. 639–645.

177. The independent and joint associations of hysterectomy and uterine fibroids or endometriosis with ovarian cancer incidence: results from a US-based cohort / H. Tekle, D. P. Sandler, K. Ogunsina, K. M. O'Brien // *Am. J. Epidemiol.* – 2025. – Vol. 194 (2). – P. 370–378.

178. The natural history of fibroids / D. Mavrelos, J. Ben-Nagi, T. Holland [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 35. – P. 238–242.

179. The natural history of uterine leiomyomas: Light and electron microscopic studies of fibroid phases, interstitial ischemia, inanosis, and reclamation / G. P. Flake, A. B. Moore, D. Sutton [et al.] // *Obstetrics and gynecology international.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 528376.

180. The role of cell proliferation and extracellular matrix accumulation induced by food additive butylated hydroxytoluene in uterine leiomyoma /

Y. F. Chiang, H. Y. Chen, M. Ali [et al.] // *Nutrients*. – 2021. – Vol. 13 (9). – P. 3074.

181. The two FIGO systems for normal and abnormal uterine bleeding symptoms and classification of causes of abnormal uterine bleeding in the reproductive years: 2018 revisions / M. G. Munro, H. O. D. Critchley, I. S. Fraser [et al.] // *Int J Gynaecol Obstet*. – 2018. – Vol. 143 (3). – P. 393–408.

182. Tocci, A. Adenomyosis and 'endometrial-subendometrial myometrium unit disruption disease' are two different entities / A. Tocci, E. Greco, F. M. Ubaldi // *Reprod. Biomed. Online*. – 2008. – Vol. 17 (2). – P. 281–291.

183. Tranilast, an orally active antiallergic compound, inhibits extracellular matrix production in human uterine leiomyoma and myometrial cells / M. S. Islam, O. Protic, A. Ciavattini [et al.] // *Fertil Steril*. – 2014. – Vol. 102 (02). – P. 597–606.

184. Transcriptome analyses of myometrium from fibroid patients reveals phenotypic differences compared to non-diseased myometrium / E. N. Paul, G. W. Burns, T. J. Carpenter [et al.] // *Int. J. Mol. Sci*. – 2021. – Vol. 22 (7). – P. 3618.

185. Transitional lesions, one more step towards understanding the pathogenesis of adenomyosis / E. Wacheul, M. M. Dolmans, J. Ambroise [et al.] // *J Clin Med*. – 2025. – Vol. 14 (13). – P. 4578.

186. Type and location of adenomyosis in women with recurrent pregnancy loss: A transvaginal ultrasonographic assessment / C. Exacoustos, C. Ticconi, I. Colombi [et al.] // *Reprod. Sci*. – 2024. – Vol. 31 (8). – P. 2447–2457.

187. Uimari, O. Endometriosis and uterine fibroids (leiomyomata): Comorbidity, risks and implications / O. Uimari, H. Nazri, T. Tapmeier // *Front. Reprod. Health*. – 2021. – Vol. 3. – P. 750018.

188. Ulipristal acetate and extracellular matrix production in human leiomyomas in vivo: A laboratory analysis of a randomized placebo controlled trial / J. Cox, M. Malik, J. Britten [et al.] // *Reprod. Sci*. – 2018. – Vol. 25 (2). – P. 198–206.

189. Ulipristal acetate modifies mirna expression in both superficial and basal layers of the human endometrium / K. Kolanska, M. Sbeih, G. Canlorbe [et al.] // *J. Clin. Med*. – 2021. – Vol. 10 (19). – P. 4442.

190. Ultrasound findings in infertile women with endometriosis: Evidence of concomitant uterine disorders / T. Capezzuoli, S. Vannuccini, G. Fantappiè [et al.] // *Gynecol Endocrinol.* – 2020. – Vol. 36 (9). – P. 808–812.
191. Understanding the impact of uterine fibroids on human endometrium function / A. Navarro, M. V. Bariani, Q. Yang, A. Al-Hendy // *Front. Cell. Dev. Biol.* – 2021. – Vol. 9. – P. 633180.
192. Unexpected coexistent endometriosis in women with symptomatic uterine leiomyomas is independently associated with infertility, nulliparity and minor myoma size / K. Nicolaus, D. Bräuer, R. Sczesny [et al.] // *Archives of Gynecology and Obstetrics.* – 2019. – Vol. 300 (1). – P. 103–108.
193. Uterine adenomyosis is an oligoclonal disorder associated with KRAS mutations / S. Inoue, Y. Hirota, T. Ueno [et al.] // *Nat. Commun.* – 2019. – Vol. 10 (1). – P. 5785.
194. Uterine artery embolization versus myomectomy: A systematic review and meta-analysis / K. Fatima, H. W. Ansari, A. Ejaz [et al.] // *SAGE Open Med.* – 2024. – Vol. 12. – P. 20503121241236141.
195. Uterine collagen cross-linking: Biology, role in disorders, and therapeutic implications / I. Kurt, M. Kulhan, A. AlAshqar, M. A. Borahay // *Reprod Sci.* – 2024. – Vol. 31 (3). – P. 645–660.
196. Uterine fibroid vascularization: From morphological evidence to clinical implications / P. Ciarmela, G. Delli Carpini, S. Greco [et al.] // *Biomed. Online.* – 2022. – Vol. 44 (2). – P. 281–294.
197. Uterine fibroid-related infertility: Mechanisms and management / J. Donnez, H. S. Taylor, L. Marcellin, M. M. Dolmans // *Fertil. Steril.* – 2024. – Vol. 122 (1). – P. 31–39.
198. Uterine fibroids and infertility / D. Freytag, V. Günther, N. Maass, I. Alkatout // *Diagnostics (Basel).* – 2021. – Vol. 11 (8). – P. 1455.
199. Uterine leiomyoma is associated with the risk of developing endometriosis: A nationwide cohort study involving 156,195 women / K. Y. Lin, C. Y. Yang, A. Lam [et al.] // *PLoS One.* – 2021. – Vol. 16 (8). – P. 256772.

200. Uterine myomas and sarcomas - Clinical and ultrasound characteristics and differential diagnosis using pulsed and color doppler techniques / K. Wojtowicz, T. Góra, P. Guzik [et al.] // J. Ultrason. – 2022. – Vol. 22 (89). – P. 100–108.

201. Utilising human myometrial and uterine fibroid stem cell-derived three dimensional organoids as a robust model system for understanding the pathophysiology of uterine fibroids / M. M. Omran, S. Vafaei, S. Alkhrait [et al.] // Cell Prolif. – 2025. – Vol. 58 (9). – P. 70025.

202. Vascular biology of uterine fibroids: Connecting fibroids and vascular disorders / G. W. Kirschen, A. AlAshqar, M. Miyashita-Ishiwata [et al.] // Reproduction. – 2021. – Vol. 162 (2). – P. 1–18.

203. VEGF pathway targeting agents, vessel normalization and tumor drug uptake: From bench to bedside / M. Arjaans, C. P. Schröder, S. F. Oosting [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7 (16). – P. 21247–21258.

204. Vitamin D as an effective treatment in human uterine leiomyomas independent of mediator complex subunit 12 mutation / A. Corachán, M. G. Trejo, M. C. Carbajo-García [et al.] // Fertil Steril. – 2021. – Vol. 115 (2). – P. 512–521.

205. Vlahos, N. F. Myomas and adenomyosis: Impact on reproductive outcome / N. F. Vlahos, T. D. Theodoridis, G. A. Partsinevelos // Biomed. Res. Int. – 2017. – Vol. 2017. – P. 5926470.

206. Wegienka, G. Are uterine leiomyoma a consequence of a chronically inflammatory immune system? / G. Wegienka // Med. Hypotheses. – 2012. – Vol. 79 (2). – P. 226–231.

207. Yang, Q. Update on the role and regulatory mechanism of extracellular matrix in the pathogenesis of uterine fibroids / Q. Yang, A. Al-Hendy // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24. – P. 5778.

208. YAP/TAZ are activated by mechanical and hormonal stimuli in myometrium and exhibit increased baseline activation in uterine fibroids / M. P. Purdy, M. Ducharme, A. J. Haak [et al.] // Reprod Sci. – 2020. – Vol. 27 (4). – P. 1074–1085.

209. Zhang, Q. Knockdown of SERPINE1 reverses resistance of

triplenegative breast cancer to paclitaxel via suppression of VEGFA / Q. Zhang, L. Lei, D. Jing // *Oncol. Rep.* – 2020. – Vol. 44. – P. 1875–1884.

210. Zondervan, K. T. Endometriosis / K. T. Zondervan, C. M. Becker, S. A. Missmer // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 382. – P. 1244–1256.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Факторы риска развития миомы матки: генетические факторы, раса, возраст, поздняя беременность, раннее менархе, ожирение, кофеин и алкоголь, а также паритет (защитный эффект) [197] С. 16
2. Рисунок 2 – Транскриптомный анализ отдельных клеток из патологических очагов аденомиоза и миомы матки человека. Аденомиоз: нарушения в сигнальных путях Wnt и VEGF; поиск новых популяций клеток-предшественников. Миома: субпопуляции гладких миоцитов и фибробластов; альтерация сигнальных путей ERK и mTOR [119] С. 42
3. Рисунок 3 – Дизайн исследования. Пояснения в тексте. С. 46
4. Рисунок 4 – УЗИ матки в режиме цветового доплеровского картирования. Ряд фото сверху – внутриопухолевый кровоток, ряд фото внизу – смешанный кровоток. С. 49
5. Рисунок 5 – Очаги аденомиоза у пациенток репродуктивного возраста с миомой матки. Окраска гематоксилином и эозином (слева) и по ван Гизону с докраской эластических волокон резорцин-фуксином Вейгерта (справа). Ув. 100. С. 56
6. Рисунок 6 – Экспрессия гепараназы в перифокальном миометрии пациенток с аденомиозом (а) и без аденомиоза (б). Диаминобензидин, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув. 630. С. 57
7. Рисунок 7 – Экспрессия гепараназы (HPSE) в перифокальном миометрии пациенток с аденомиозом. Вторичные флюоресцентные антитела Tex Red, ядра визуализированы DAPI. Бар = 50 мкм. Ув. 100. С. 57
8. Рисунок 8 – Экспрессия гепараназы в очагах аденомиоза (а, б), в перифокальном миометрии (в) и миоматозном узле (г). Диаминобензидин, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув. а –

- 100, б – 400, в – 630, г – 400. С. 58
9. Рисунок 9 – Экспрессия гепараназы (HPSE) - верхний ряд фото и экспрессия гепарансульфатов (HSP) – нижний ряд фото в эндометрии и очагах аденомиоза у пациенток репродуктивного возраста с миомой матки в пролиферативную фазу цикла. Двухшаговый стрептавидин-биотиновый метод, визуализация диаминобензидином. Докраска ядер гематоксилином Майера. Ув. 400. С. 62
10. Рисунок 10 – Уровень экспрессии (% площади) гепараназы (HPSE) и гепарансульфата (HSP) в эндометрии и очагах аденомиоза у женщин репродуктивного возраста с ММ с учетом объема матки: 1-я группа – менее 12 нед, 2-я группа – более 12 нед «беременности» С. 63
11. Рисунок 11 – Некроз миоматозного узла. Клеточный инфильтрат с многочисленными сидерофагами. Окраска гематоксилином и эозином в сочетании с реакцией Перлса. Ув. 100. С. 64
12. Рисунок 12 – Патогистологическое (окраска по ван Гизону) и ИГХ (экспрессия PgR и VEGF) исследование резецированных миоматозных узлов и перифокального миометрия пациенток без гормонотерапии. Отсутствие структурных различий. ПА – инкубация в питательной среде с поликлональными активаторами. Ув. 400. С. 66
13. Рисунок 13 – Патогистологическое (окраска по ван Гизону) и ИГХ (экспрессия PgR и VEGF) исследование резецированных миоматозных узлов и перифокального миометрия пациенток с предоперационным применением УА в течение 3-х мес. Слабо и умеренно выраженные дистрофические изменения миоцитов. ПА – инкубация в питательной среде с поликлональными активаторами. Ув. 400. С. 67
14. Рисунок 14 – Анализ ультраструктурных изменений

- трансформированных миоцитов в миоматозных узлах. Фото слева – без гормонотерапии: многочисленные профили гранулярной цитоплазматической сети, наличие ядрышек в ядрах. Справа – в условиях применения улипристала ацетата: вакуолизация цитоплазмы миоцитов, активация макрофагов, некробиотические изменения клеток. С. 69
15. Рисунок 15 – Анализ ультраструктурных изменений клеток перифокального миометрия. Фото слева – без гормонотерапии: полиморфные миоциты с многочисленными сократительными филаментами в цитоплазме. Справа – в условиях применения улипристала ацетата: умеренное уменьшение размеров клеток. С. 70
16. Рисунок 16 – Анализ ультраструктурных изменений миометрия после применения УА. Фото слева – хлопьевидность хроматина в ядрах миоцитов; справа – тучная клетка с крупными осмиофильными секреторными гранулами, маскирующими ядро. . . С. 71
17. Рисунок 17 – Иммуногистохимическое (а, б, г, д) и электронно-микроскопическое (в, е) исследование миоматозных узлов (а, в, г, е) и перифокального миометрия (б, д) пациенток с ММ без предоперационной терапии (1-я группа) и после применения УА (2-я группа). Снижение экспрессии гепараназы во 2-й группе (г) по сравнению с 1-й (а). а, б, г, д – ув. 630; в, е – ув. 4 000. С. 72
18. Рисунок 18 – Степень фиброза в баллах самого крупного (доминантного) миоматозного узла статистически значимо больше при наличии наружного генитального эндометриоза (НГЭ) (а, 1) и меньше – при наличии аденомиоза (б, 1) (критерий Вилкоксона). 0 – нет гетеротопий, 1 – наличие очагов гетеротопий эндометрия С. 75
19. Рисунок 19 – Экспрессия VEGF в перифокальном миометрии пациенток с ММ слабо положительно коррелирует с их индексом массы тела (ИМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$) ($r_s = 0,265$, ДИ $[0,0341; 0,4700]$; $p = 0,0253$) С. 77

20. Рисунок 20 – Количество миоматозных узлов слабо положительно коррелировало с индексом влияния поликлональных активаторов (ИВПА) на продукцию VEGF в доминантном узле *in vitro* ($r_s = 0,451$, ДИ $[0,139; 0,682]$; $p = 0,006$). С. 78
21. Рисунок 21 – Патогистологическое (окраска гематоксилином и эозином (Г и Э) и по ван Гизону – коллагеновые волокна красного цвета) и иммуногистохимическое (экспрессия PgR и VEGF, продукты реакции коричневого цвета) исследование образцов доминантных миоматозных узлов и перифокального миометрия у пациенток репродуктивного возраста с ММ без гормонотерапии (1-я группа) и в условиях применения УА – селективного модулятора PgR (2-я группа). Ув. 400. С. 82
22. Рисунок 22 – Содержание гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) в супернатантах в условиях стимулированной поликлональными активаторами (ПА) продукции *in vitro* в 1-й группе без предоперационной гормонотерапии: в 2 раза меньше в миоматозном узле, чем в миометрии (t-критерий Вилкоксона для парных переменных, $p = 0,045$) С. 87
23. Рисунок 23 – Экспрессия VEGF в операционном материале после *in vitro* стимуляции поликлональными активаторами (ПА) в 1-й группе без предоперационной гормонотерапии почти в 2 раза выше в миоматозном узле, чем в перифокальном миометрии (t-критерий Вилкоксона для парных переменных, $p = 0,001$) С. 88
24. Рисунок 24 – Продукция ГМ-КСФ клетками миоматозных узлов после *in vitro* стимуляции поликлональными активаторами статистически значимо меньше во 2-й группе (МТМ+УА) после применения УА по сравнению с 1-й группой (МТМ – без гормонотерапии). Критерий Манна – Уитни, $p < 0,0001$ С. 89
25. Рисунок 25 – Экспрессия VEGF в миоматозном узле при ИГХ

- исследовании была выше в 1-й группе (МТМ) по сравнению со 2-й (МТМ + УА). Критерий Манна – Уитни, $p = 0,009$ С. 90
26. Рисунок 26 – Индекс влияния поликлональных активаторов (ИВПА) на содержание *in vitro* 17-ОН-Pr ниже в образцах миометрия у пациенток 2-й (МТМ + УА) группы. Критерий Манна – Уитни, $p = 0,002$ С. 91
27. Рисунок 27 – Показатели индекса влияния для Ил-1 β у пациенток 1-й группы без предоперационной терапии. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием. С. 94
28. Рисунок 28 – Показатели индекса влияния для Ил-6 у пациенток 1-й группы без предоперационной терапии. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием. С. 95
29. Рисунок 29 – Показатели индекса влияния для Ил-10 у пациенток 1-й группы без предоперационной терапии. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием. С. 96
30. Рисунок 30 – Показатель индекса влияния для Ил-18 клеток перифокального миометрия у пациенток 1-й группы без предоперационной терапии статистически значимо превышают показатель миоматозного узла. С. 97
31. Рисунок 31 – Показатель индекса влияния для 17-ОН-прогестерона клеток перифокального миометрия у пациенток 1-й группы без предоперационной гормонотерапии статистически значимо превышали показатель миоматозного узла. С. 98
32. Рисунок 32 – Показатели индекса влияния для Ил-1 β у пациенток 2-й группы, принимавших УА в качестве предоперационной подготовки. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием. С. 99

33. Рисунок 33 – Показатели индекса влияния миометрия для Ил-6 у пациенток 2-й группы, принимавших УА в качестве предоперационной подготовки, статистически значимо превышают показатель миоматозного узла. С. 100
34. Рисунок 34 – Показатели индекса влияния миометрия для Ил-10 у пациенток 2-й группы, принимавших УА в качестве предоперационной подготовки, статистически значимо превышают показатель миоматозного узла. С. 101
35. Рисунок 35 – Показатели индекса влияния для Ил-18 у пациенток 2-й группы, принимавших УА в качестве предоперационной подготовки. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием. С. 102
36. Рисунок 36 – Показатели индекса влияния для 17-ОН-прогестерона у пациенток 2-й группы, принимавших УА перед операцией. Отсутствие статистически значимых различий между миоматозным узлом и миометрием С. 103
37. Рисунок 37 – Статистически значимое уменьшение продукции провоспалительного цитокина Ил-6 в миоматозных узлах (по индексу влияния) после применения УА (2-я группа). С. 104
38. Рисунок 38 – Статистически значимое увеличение продукции противовоспалительного цитокина Ил-10 в перифокальном миометрии (по индексу влияния) после применения УА (2-я группа). С. 105
39. Рисунок 39 – Статистически значимое уменьшение продукции провоспалительного цитокина Ил-18 в перифокальном миометрии (по индексу влияния) у пациенток после применения УА (2-я группа). С. 106
40. Рисунок 40 – Статистически значимое уменьшение содержания 17-ОН-прогестерона в перифокальном миометрии (по индексу влияния) у пациенток после применения УА (2-я группа). С. 107

41.	Рисунок 41 – Площадь фиброза I–III степени по анализу изображения. Ув. 400.	С. 109
42.	Рисунок 42 – Гистологические и иммуногистохимические особенности доминирующего миоматозного узла и перифокального миометрия: а, б, в – ув. 400; г, д, е, ж, з, и – ув. 630.	С. 112
43.	Рисунок 43 – Экспрессия VEGF в опухоли и перифокальном миометрии в зависимости от степени фиброза доминирующего миоматозного узла.	С. 114
44.	Рисунок 44 – Степень фиброза доминантного узла положительно коррелировала с экспрессией VEGF в перифокальном миометрии по данным ИГХ ($r_s = 0,521$, ДИ [0,327; 0,672]; $p < 0,0001$).	С. 116
45.	Таблица 1 – Анализ клинические особенности пациенток с миомой матки и аденомиозом.	С. 59
46.	Таблица 2 – Гинекологический статус пациенток с аденомиозом и миомой матки.	С. 60
47.	Таблица 3 – Характеристика пациенток с множественной симптомной миомой матки до и после применения УА.	С. 80
48.	Таблица 4 – Показатели продукции VEGF (ИВПА) в доминантном миоматозном узле и перифокальном миометрии.	С. 83
49.	Таблица 5 – Клинические особенности пациенток с лейомиомой матки в зависимости от степени фиброза доминирующего узла. ...	С. 110