

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»
Ордена Трудового Красного Знамени
Медицинский институт имени С.И. Георгиевского

На правах рукописи

КАРАПЕТЯН ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА

**ПРОЦЕССЫ ВОСПАЛЕНИЯ И АПОПТОЗА В ТКАНЯХ
ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ГИПЕРПЛАЗИИ**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Кубышкин Анатолий Владимирович
доктор медицинских наук, профессор

Симферополь – 2024

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	14
1.1. Этиопатогенез пролиферативных процессов эндометрия.....	14
1.2. Роль компонентов протеиназ-ингибиторной системы в регуляторных процессах и патологии эндометрия.....	21
1.3. Значение цитокинов в формировании патологии эндометрия....	28
1.4. Апоптоз и генетические мутации в развитии гиперплазии и рака эндометрия.....	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	41
2.1. Дизайн исследования и характеристика обследованных женщин.....	41
2.2. Гистероскопическое исследование и методика получения маточных смывов.....	43
2.3. Гистологические и иммуногистохимические исследования.....	44
2.4. Определение уровня эстрадиола и прогестерона в крови и маточных смывах.....	46
2.5. Определение концентрации провоспалительных цитокинов.....	47
2.6. Определение активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов.....	47
2.7. Методы статистической обработки результатов исследования.....	48
ГЛАВА 3. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХРАКТЕРИСТИКА И СОСТОЯНИЕ ЛОКАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРПЛАЗИЯМИ ЭНДОМЕТРИЯ.....	49
ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ СИСТЕМНОГО И МЕСТНОГО ГОРМОНАЛЬНОГО ФОНА ПРИ ГИПЕРПЛАЗИЯХ ЭНДОМЕТРИЯ.....	62

ГЛАВА 5. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И АПОПТОЗА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ГИПЕРПЛАЗИЙ ЭНДОМЕТРИЯ.....	71
ГЛАВА 6. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ЭНДОМЕТРИЯ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ВОСПАЛЕНИЯ И СОСТОЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО ФОНА.....	85
ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	94
ВЫВОДЫ.....	107
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	109
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	110
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	112

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Проблема медицинской и социальной значимости последствий гиперпластических процессов эндометрия остается в числе актуальных в связи с широкой их распространенностью, которая по данным разных авторов составляет от 10 до 50% среди всех гинекологических заболеваний [1,2]. В развитых странах «ежегодно регистрируется около 200 000 новых случаев заболевания гиперплазией эндометрия (ГЭ)» [3,4]. С другой стороны, среди «причин смертности и инвалидизации женского населения превалируют злокачественные новообразования репродуктивной системы (38,5%), а рак эндометрия по распространенности находится на 2-м месте после злокачественных опухолевых заболеваний молочной железы» [5-7]. В Российской Федерации заболеваемость раком эндометрия в течение последних десяти лет увеличилась на 50% и в общей структуре онкологической заболеваемости доля пациенток со злокачественными новообразованиями эндометрия составляет около 7,1% [8].

Гиперплазия эндометрия представляет собой спектр морфологических изменений, при которых аномальная пролиферация желез эндометрия приводит к увеличению отношения железы к строме по сравнению с эндометрием из пролиферативной фазы цикла [9,10]. Пролиферирующие железы при ГЭ могут сильно различаться по размеру и форме, а также может присутствовать цитологическая атипия.

Считается, что большинство ГЭ развиваются на фоне хронической стимуляции эндометрия эстрогенами при недостаточности со стороны прогестина [11,12]. Хотя стимуляция эндометрия эстрогенами считается основным фактором риска развития ГЭ, были предложены и другие причины, способствующие формированию гиперплазии. Отмечается возможность мутаций различных генов, которые «участвуют в регуляции клеточной пролиферации и апоптоза, приводят к повышенной пролиферации желез эндометрия, и соответственно к ГЭ с возможной последующей

трансформацией в рак эндометрия (РЭ)» [13,14]. Кроме того, важная «роль отводится апоптозу в поддержании гомеостатических механизмов во время циклического разрушения эндометрия, частичного отторжения и ремоделирования во время менструации» [15,16]. Однако, по мнению ряда авторов, формирование ГЭ не всегда является эффектом только повышенного содержания эстрогенов, а выявляются и иные патологические процессы и механизмы, участвующие в формировании данной патологии [17,18]. В связи с этим, на наш взгляд, исследование таких молекулярно-биологических процессов чрезвычайно актуально.

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на значительные достижения в изучении механизмов развития патологии эндометрия, многие аспекты формирования гиперпластических процессов эндометрия остаются дискуссионными или не изученными [1,19,20]. Можно выделить ряд возможных механизмов формирования гиперпластических процессов эндометрия. К ним относится такой типовой патологический процесс, как повреждение генов продуктами окисления (активными формами кислорода), образующимися в ткани с очагом хронического воспаления [21,22]. Большое внимание в последнее время уделяется генетическим и эпигенетическим факторам в формировании ГЭ [23]. Описано возможное участие процессов пироптоза [24] и аутофагии [25] в развитии гиперпластических процессов эндометрия. На пролиферацию и дифференцировку эпителиальных клеток эндометрия могут оказывать влияние ферменты протеолиза, которые выделяют активированные нейтрофильные гранулоциты ткани. Они разрушают межклеточный матрикс стромы желез эндометрия и их базальную мембрану, являющуюся структурной основой в данной ткани [26-28]. Кроме того, при ГЭ и РЭ в слизистой оболочке матки происходит повышение продукции основных цитокинов со смещением дисбаланса в сторону роста выработки провоспалительных факторов (TGF- β , TNF- α , IL-6) [29].

На современном этапе ряд ключевых вопросов формирования гиперпластических процессов в эндометрии остается не решенным. В связи с этим изучение механизмов формирования ГЭ с изучением местных регуляторных (цитокины) и эффекторных (протеиназы) компонентов развития воспалительной реакции, а еще более их клиническое значение для диагностики и прогноза развития патологии представляется актуальной проблемой.

Таким образом, молекулярная биология воспалительного и гиперпластического процессов в эндометрии показывает новые возможные направления совершенствования диагностики, лечения, прогноза и профилактики при различных морфологических и этиологических вариантах ГЭ. С учетом сложности и многофакторности заболевания, разнообразия подходов к патогенетической гормональной терапии, которая бывает неэффективной или возникают рецидивы ГЭ, данная задача является актуальной и требует изучения.

Все это диктует необходимость поиска новых путей патогенеза ГЭ, расшифровки механизмов формирования атипических форм гиперплазий и поиск путей оптимизации лечебных подходов через воздействия на молекулярные звенья патогенеза гиперпластических процессов в эндометрии.

Цель исследования: установить роль воспалительных изменений и характер изменений маркеров апоптоза при развитии различных форм ГЭ.

Задачи исследования:

1. Определить состояние системного и локального уровня эстрогенов и прогестерона, а также состояние эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии у пациенток с различными видами гиперпластических процессов эндометрия.

2. Определить уровень местных провоспалительных цитокинов, неспецифических протеиназ и их ингибиторов в внутриматочных смывах пациенток с различными видами гиперпролиферативных процессов эндометрия.

3. Изучить морфофункциональное состояние эндометрия и характер изменения маркеров воспаления у женщин с различными видами ГЭ.

4. Определить уровень маркеров апоптоза в эндометрии пациенток с ГЭ и выявить закономерности их изменения в зависимости от вида патологической трансформации.

5. Установить эффективность применения методов гормональной коррекции на ремоделирование эндометрия с учетом изменений маркеров воспалительного процесса.

Научная новизна работы.

Впервые показано, что при простой ГЭ на фоне повышения показателей внутриматочных гормонов, на фоне системной и локальной гиперэстрогении, в эндометрии формируется рецепторный дисбаланс, проявляющийся изменением экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону. А при прогрессировании процесса ГЭ до комплексных и атипических форм, разница уровней экспрессии нивелируется, что указывает на гормонозависимую составляющую в генезе простой ГЭ. При комплексной и атипической гиперплазии гормональный дисбаланс сохраняется, но как правило не превышает уровень дисбаланса при простой гиперплазии, что особенно проявляется при исследовании уровня гормонов на локальном уровне.

При комплексной и атипической ГЭ, как показали иммуногистохимические (ИГХ) исследования общего лейкоцитарного антигена (CD45), уровня неспецифических протеиназ, их ингибиторов и провоспалительных цитокинов в маточных смывах, впервые продемонстрировано нарастание лейкоцитарно-макрофагальной инфильтрации эндометрия по мере усиления тяжести гиперплазии. Таким образом впервые показана важная роль воспаления в прогрессировании гиперплазий и возможное его участие в процессах малигнизации эндометрия. Предложен термин, описывающий связанное с гиперплазией эндометрия воспаление: «воспаление, ассоциированное с гиперплазией эндометрия».

Установлено, что воспаление при ГЭ имеет неспецифический характер, так как не выявлено существенных изменений содержания в строме таких популяций клеток, как натуральные киллеры (CD56) и цитотоксические Т-лимфоциты (CD8a), а также тканевые макрофаги (CD68). На фоне усиления воспалительных проявлений в эндометрии при атипической гиперплазии показано снижение экспрессии маркера апоптоза CD95, что свидетельствует о параллельном снижении готовности клеток эндометрия к апоптозу. На этом фоне выявлена активация фактора роста сосудов VEGF при более тяжелых формах гиперплазий, наиболее выраженного при атипической ГЭ.

Проведенными исследованиями показано, что использование гормональной терапии при лечении ГЭ способствует нормализации гормонального гомеостаза на локальном уровне и снижению активности местных маркеров воспаления, определение которых может применяться для оценки эффективности проводимого лечения гиперплазий.

Теоретическая и практическая значимость работы

Диссертантом разработаны и предложены дополнительные способы доступной малоинвазивной диагностики и критерии их оценки для прогноза течения ГЭ с помощью исследования маркеров, отражающих характер воспалительных изменений в эндометрии. Определение уровня содержания цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и TNF- α , активности эластазы, кислотостабильных ингибиторов (КСИ) протеиназ в маточных смывах, а также степень экспрессии CD45 можно использовать в качестве дополнительных критериев выраженности гиперпластических процессов в эндометрии и рекомендовать дальнейшее их изучение для прогноза малигнизации гиперпластических процессов.

Предложено определение уровня внутриматочных гормонов для дополнительной оценки степени гормональных нарушений и течения гиперпластических процессов эндометрия, который показывает более высокую степень достоверности изменений в состоянии эстрогенов и прогестерона.

Полученные в ходе исследований данные расширяют представление об участии ряда маркеров воспаления и апоптоза в патогенезе гиперпластических процессов эндометрия и обосновывают использование малоинвазивных внутриматочных исследований к дальнейшему изучению процессов ремоделирования эндометрия и лечения гиперплазий. На основании данного подхода показана эффективность применения агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (аГн-РГ) в качестве препаратов выбора при лечении тяжелых форм ГЭ на первом этапе и последующим использованием комбинированных оральных контрацептивов (КОК) с целью противорецидивной терапии на втором этапе. Обоснована целесообразность включения противовоспалительной терапии в комплекс лечения тяжелых форм ГЭ.

Методология и методы исследования.

Диссертационная работа выполнялась в рамках комплексных научно-исследовательских работ, проводимых на кафедре общей и клинической патофизиологии Медицинского института (академии) им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»: «Патогенетические механизмы формирования органопатологии при системных и локальных патологических процессах» (№ госрегистрации 115052150075, 2015-2017) и «Патогенетические механизмы развития системных и локальных воспалительных и метаболических нарушений и обоснование подходов к коррекции на основе изучения генетического полиморфизма, функциональных и структурных изменений органов и систем» (№ государственной регистрации АААА-А17-117070450081-2; 2017-2021) в соответствии с утвержденным НИР планом, с соблюдением правил доказательной медицины, с использованием методов клинического эксперимента, лабораторных, морфологических, гистологических, иммуногистохимических (ИГХ) и статистических методов исследования.

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 3.3.3. Патологическая физиология в части направления исследований по п. 1

«Исследование особенностей этиологических факторов, вызывающих развитие повреждения и характера их воздействия на уровне клеток, органов и систем организма», п. 6 «Изучение механизмов, лежащих в основе различных исходов и осложнений болезни; анализ причин и механизмов развития неполного выздоровления и формирования хронического течения болезни» и п. 8 «Изучение защитных, компенсаторных и приспособительных реакций организма, развивающихся в ответ на действие повреждающих факторов различной природы и при развитии патологических процессов».

Диссертационное исследование имеет характер клинического эксперимента. В исследовании использовались методы клинической оценки состояния больных, УЗИ, инфекционный скрининг, гистероскопия, патоморфологическое и ИГХ исследования эндометрия, биохимические, энзиматические и иммуноферментные методы. Статистические методы включали параметрические и непараметрические методы анализа, методы вариационной статистики с вычислением средних величин и оценкой вероятности расхождений, корреляционный анализ и использование парного критерия Вилкоксона для связанных выборок.

Проведение исследования одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» (протокол заседания этического комитета № 14 от 21.12.2018 и №3 от 14.03.2024.

Объект исследования: патогенетические процессы развития гиперплазии эндометрия.

Предмет исследования: роль провоспалительных факторов (протеиназ, их ингибиторов, цитокинов) и ИГХ маркеров воспаления и апоптоза в формировании гиперпластических процессов в эндометрии.

Все исследования проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института им. С.И. Георгиевского, часть морфологических исследований на базе лаборатории кафедры патологической анатомии с секционным курсом

Медицинского института им. С.И. Георгиевского с использованием оборудования, прошедшего метрологическую поверку и экспертизу.

Личный вклад соискателя. Вклад соискателя в полученные результаты является основным и состоит в проведении патентно-информационного поиска, анализе литературных данных, организации выполнения исследования. Автор самостоятельно отбирала больных для включения в исследование, проводила необходимые лечебные и диагностические манипуляции, принимала участие в получении внутриматочных смывов для биохимических исследований. При непосредственном участии автора проводилось исследование протеиназ и их ингибиторов, уровня цитокинов и уровня гормонов. Диссертантка самостоятельно провела статистическую обработку результатов исследований, проанализировала полученные результаты в полном объеме. Диссертанткой самостоятельно написаны все главы диссертации и автореферат, подготовлены для публикации статьи и тезисы.

Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. В уровне эстрогенов и прогестерона на локальном уровне в маточных смывах при ГЭ отмечается развитие дисбаланса с преобладанием эстрогенов, но выраженность дисбаланса достоверно не отличается при различных формах гиперплазий.

2. Неспецифическое воспаление сопровождает развитие ГЭ и степень воспалительных изменений увеличивается при более тяжелых формах гиперплазии с максимальными проявлениями при атипической форме гиперплазии.

3. На фоне воспалительных изменений в эндометрии при формировании простой, комплексной и атипической гиперплазии отмечается снижение способности клеток эндометрия в апоптозу и рост экспрессии фактора роста сосудов VEGF.

4. Снижение воспалительных проявлений при ГЭ может служить дополнительным маркером эффективности применяемого лечения при ГЭ.

Степень достоверности и апробация результатов исследования.

Степень достоверности полученных результатов, обоснованность выводов и их соответствие заявленным задачам работы определяется достаточным объемом выборки пациенток при проведении исследования, количеством и качеством проведенных диагностических исследований, использованием метрологически поверенных средств измерений, адекватными методами статистической обработки данных.

Материалы диссертационного исследования представлены и обсуждены на научно-практических конференциях, симпозиумах и форумах различного уровня, включая конгрессы международного уровня: VIII Всемирный конгресс по патофизиологии (ICP 2018) (5-8.09.2018; Братислава, Словакия); 2nd European Conference on Gynecology, Obstetrics & Reproductive Health (1-2.08.2019; Париж, Франция); онлайн форум «Онкология, патоморфология и патофизиология: от теории к практике» (6-9.10.2020; Симферополь-Алушта); 15-ом Всемирный конгресс по воспалению (WCI2022) (5-8.06.2022; Рим, Италия); 9 Конгресс Международного общества по патофизиологии (ISP2023) (Белград, Сербия); 9 международный конгресс по акушерству и гинекологии ((ICGO-2023) (17-19.08.2023; Лиссабон, Португалия), I Евразийский конгресс по патофизиологии (3-6 июня 2024; Москва).

Апробация диссертации проведена на совместном заседании сотрудников кафедры общей и клинической патофизиологии и Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (протокол № 8 от 13.06.2024 года)

Внедрение результатов исследований. Результаты диссертационного исследования внедрены и используются в учебной работе кафедры общей и клинической патофизиологии, кафедры базисной и клинической фармакологии, кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии №1, в диагностической работе Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет

им. В.И. Вернадского», а также в диагностической и лечебной работе ряда лечебных учреждений г. Симферополя, в том числе клиник ООО «Гемокод-Крым» и ООО «Гемокод+».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 5 – в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним. Три публикации индексируются в базе Scopus, одна из которых в журнале категории квартиля Q1. Материалы исследований легли в основу опубликованной монографии. Общий объем публикаций составил 11 печатных листов, личный вклад соискателя 70%.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, раздела материал и методы исследования, четырех разделов результатов собственных исследований, раздела обсуждения результатов и заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Текст диссертации изложен на 140 страницах, включает 4 таблицы и 35 рисунков. Список литературы состоит из 258 источников.

ГЛАВА I. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЭНДОМЕТРИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Этиопатогенез пролиферативных процессов эндометрия

Гиперпластические процессы эндометрия или гиперплазии эндометрия – «патологическая диффузная или очаговая пролиферация железистого и стромального компонента слизистой оболочки матки с преимущественным поражением железистых структур» [30]. По данным некоторых авторов, «гиперплазией эндометрия страдают до 50% женщин позднего репродуктивного и перименопаузального возраста» [30,31]. По данным недавних исследований заболеваемость ГЭ среди женщин Южной Кореи и США в пременопаузе увеличивалась с возрастом и достигала 121 и 270 случаев на 100 000 женщин в год в возрасте 46–50 лет и 45–49 лет соответственно [32]. Следует отметить, что ГЭ является одной из наиболее распространенной гинекологической патологией и может сопровождаться диспластическими процессами, которые имеют определенную склонность к раковому перерождению и признаются предраковым поражением с частотой 23,15–29,08% [33–35]. Причем рак эндометрия «в настоящее время является наиболее частой онкологической патологией в гинекологической практике, занимает 7,4% в структуре онкологической патологии женского населения России и является третьим по распространённости видом злокачественных новообразований у женщин после рака молочной железы и кожи» [36].

В большинстве случаев причиной возникновения ГЭ является гормональный дисбаланс: увеличение выработки и уровня эстрогенов в сочетании с абсолютным или относительным снижением уровня прогестерона. Избыток эстрогенов вызывает усиление пролиферации железистого эпителия в эндометрии, что при длительном воздействии вызывает изменение строения желез и ремоделирование ткани [11,12].

Причины эстрогении могут быть как эндо-, так и экзогенного происхождения. Среди основных причин особую значимость в формировании гиперпластических процессов и последующей неопластической трансформации имеют:

1. Возраст и метаболические нарушения: ГЭ часто встречается у женщин в возрасте старше 35 лет с индексом массы тела более 30 [37].

2. Метаболический синдром, при котором женщины с диагнозом РЭ имеют более высокую частоту метаболических аномалий, чем женщины без РЭ [37]. В ретроспективном анализе было показано, что у пациенток с гипергликемией, гиперлипидемией и гипертонией вероятность развития РЭ в два раза выше, чем у интактной когорты пациенток [38, 39].

Жировая ткань является важным эндокринным органом, она не только ароматизирует половые стероиды, но и секретирует различные гормоны, участвующие в воспалении и онкогенезе. К таким молекулярным факторам относятся лептин, липофусцин и хемокины [40]. При ожирении за счет большого объема жировой ткани, возникают метаболические нарушения, приводящие к системному накоплению в сосудистом русле свободных жирных кислот и лептина, эндолипопротеинов, цитокинов, относящихся к группе адипокинов, что в свою очередь приводит к инсулинорезистентности, развитию метаболического синдрома, сопровождающегося активацией провоспалительных молекул. Данные изменения повышают риск развития рака эндометрия [41].

3. Ожирение повышает риск развития ГЭ и РЭ преимущественно за счет косвенного влияния на рост выработки эстрогена из внегонадных источников [42-44]. Гиперинсулинемия, возникающая при ожирении вследствие нарушений пищевого поведения и инсулинорезистентности, вызывает снижение синтеза белка, связывающего половые гормоны (ГСПГ) за счет роста биодоступности инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1), что усугубляет гормональный дисбаланс и содействует еще более выраженной гиперэстрогении и прогрессированию ее эффектов в чувствительных к

половым стероидам тканях. Ароматазы жировой ткани превращают андростендион в эстрадиол, поступающий в кровоток и связывающийся с эстрогеновыми рецепторами и влияющий таким образом на транскрипционную активность генов [45]. Выявлено, что среди пациентов, перенесших оперативные вмешательства для лечения ожирения, в группе, поддерживающей нормальный вес после операции, снижен риск роста злокачественных новообразования матки на 71-81% [46].

4. Сахарный диабет является прямым и косвенным фактором риска развития РЭ. Прямые механизмы включают активацию ключевых сигнальных путей, таких как PI3K / Akt, Ras / MAPK; и взаимодействие сигнальных путей между инсулином, инсулиноподобного фактора роста 1 и эстрогеном. Среди косвенных механизмов избыток инсулина приводит к снижению уровня глобулина, связывающего половые гормоны, в крови и повышению уровня эстрогена и андрогена в крови, тем самым способствуя развитию рака эндометрия [47]. Высокий уровень глюкозы в сыворотке крови через модулирование экспрессии рецепторов, факторов роста и ферментов ER α / Glut4 (глюкозный транспортёр тип 4), VEGF содействует развитию и прогрессированию РЭ. Модуляция таких сигнальных путей, как AMPK / mTOR / рибосомальный белок S6 и MAPK, также выявила влияние на способность клеток эндометриоидной аденокарциномы к инвазии. У пациенток с сахарным диабетом и с избыточной массой тела риск развития РЭ выше в 2,12 и 2,45 раза соответственно, по сравнению со здоровыми женщинами той же популяции аналогичной возрастной группы [48].

5. Нарушение липидного обмена, проявляющееся повышением уровня свободных жирных кислот, также является фактором риска развития РЭ [49]. Это осуществляется за счет реализации следующей цепи патогенетического воздействия на ткани: активация метаболических путей жирных кислот и аминокислот стимулирует избыточную продукцию активных форм кислорода в митохондриях, это инициирует оксидативный стресс клеток. Поскольку активный кислород взаимодействует с внутриклеточными

липидами, белками, нуклеиновыми кислотами, это индуцирует не только повреждение генетического материала ядра клетки, но и белковых, транскрипционных молекул, вызывает ультраструктурные повреждения, например дефекты и ферментативную транспортную дисфункцию плазмолеммы и кариолеммы, что в конечном итоге способствует онкогенезу. Кроме того, уровень холестерина в сыворотке повышен у пациентов с ожирением, а холестерин активирует транскрипционную активность клеток РЭ посредством ER-зависимого пути, что способствует пролиферации клеток [50].

6. Артериальная гипертензия является фактором риска РЭ [51,52]. Биологический механизм, с помощью которого гипертония увеличивает риск РЭ, неясен и может быть связан с клеточным старением и ингибированием апоптоза, вызванным хронической гипертензией.

7. Ановуляторные циклы – синдром поликистозных яичников, пери- и постменопауза, пролонгированная перименопауза, функциональные опухоли яичников, например, из гранулезных клеток.

8. Заместительная гормональная терапия - терапия только эстрогенами или длительная терапия тамоксифеном может привести к ГЭ даже в минимальной дозе и противопоказана женщинам с маткой. Безрецептурные травяные препараты могут содержать большое количество эстрогена, поскольку это гормон эволюционно мало меняющийся, в связи с чем фитоэстрогены идентичны эстрогенам млекопитающих животных и человека.

9. Иммуносупрессия (реципиенты почечного трансплантата) и инфекция также могут быть вовлечены в развитие ГЭ.

10. Наследственный неполипозный колоректальный рак или синдром Линча - женщины с этим заболеванием имеют значительно повышенный риск ГЭ и РЭ [53-55].

Следует отметить, что одним из основных клинических симптомов ГЭ является аномальное маточное кровотечение. У 10% женщин в пременопаузе с аномальным маточным кровотечением гистологические данные показывают

ГЭ, а у 6% женщин в постменопаузе с маточным кровотечением обнаруживается карцинома эндометрия [56,57].

Неослабевающий и возрастающий интерес к изучению пролиферативных состояний матки определяется «тенденцией гиперпластических процессов эндометрия к длительному, рецидивирующему течению, отсутствием специфических, патогномоничных симптомов, сложностью дифференциальной диагностики» [31].

В 2014 г. ВОЗ опубликовала упрощенную классификацию ГЭ ВОЗ, которая состоит всего из двух категорий гиперплазии: с атипией и без нее, в отличие от четырех, описанных в классификации ВОЗ 1994 г. [58]. Это сокращение до двух категорий было связано с необходимостью избавиться от множества неоднозначных терминов, используемых при постановке диагноза гиперплазии [59].

Новая классификация ГЭ ВОЗ 2014 г. [58] подразделяет ГЭ в 2 основные категории:

- неатипичная гиперплазия эндометрия (доброкачественная гиперплазия),
- атипичная гиперплазия эндометрия или интраэпителиальная неоплазия эндометрия (EIN) / высоко дифференцированная карцинома.

Дифференциальные диагностические подходы к ГЭ во всех случаях базируются на морфологических исследованиях, которые могут быть дополнены молекулярно-биологическими методами, например ИГХ выявлением маркеров онкогенеза [15,60]. Большинство исследователей и ведущих профессиональных сообществ акушеров и гинекологов (Королевский колледж акушеров и гинекологов RCOG и Британское общество гинекологической эндоскопии BSGE) с 2016 года в своих публикациях рекомендуют классификацию ГЭ по ВОЗ как предпочтительную [61,62], особенно с точки зрения верной оценки развития и прогрессирования атипии и РЭ [63].

Однако ряд исследователей указывают, что классификация ГЭ 1994 года в ряде случаев более эффективна с точки зрения оценки прогресса течения ГЭ и выбора лечебной тактики [64-66]. В этом подходе к классификации ГЭ сделан акцент на морфологических критериях. В каждой группе выделена 1) простая форма ГЭ, для которой характерно отсутствие нарушений архитектоники, и 2) сложная ГЭ (или комплексная), при которой выявляются существенные изменения строения эндометриальных желез (скупенность, ветвления, почкование железистых структур); причем кроме выявления ядерной атипии клеток, одновременно учитывается степень выраженности нарушений в железистом и стромальном компонентах [64,65].

Несмотря на различие в подходах к применяемым классификациям ГЭ, в их патогенезе большинство авторов отводят основное место абсолютной или относительной гиперэстрогемии, а также комплексу нейроэндокринных, метаболических и иммунных нарушений. Считается, что «ключевым механизмом развития ГЭ является постоянное воздействие на эндометрий эстрогенов при отсутствии адекватного количества прогестерона» [11]. Основными причинами гиперэстрогемии можно считать как дефицит прогестерона, так и чрезмерный гонадный и внегонадный синтез эстрогенов за счет изменения активности ферментных систем (снижение сульфаттрансферазной, повышение сульфатазной и ароматазной активности). Гиперэстрогения в свою очередь может оказывать действие на экспрессию генов, приводя к изменению регуляции клеточных сигналов и развитию ГЭ [67]. Рассматривается также «роль возрастания экспрессии факторов роста, обладающих митогенным и ангиогенным влиянием, изменений рецепторного фенотипа эндометрия, повышения уровня цитокинов, циклооксигеназы-2 простагландинов, дисбаланса процессов пролиферации и апоптоза, в котором наиболее значимая роль отводится ингибированию запрограммированной гибели клеток эндометрия» [68,69]. Следует признать, что значение последовательности и комбинации указанных выше механизмов в развитии ГЭ не установлено и эта задача пока далека от решения.

Особую роль в генезе гиперэстрогемии отводят чрезмерной внегонадной продукции эстрогенов [70]. Известно, что «с возрастом в жировой ткани у женщин в 2—4 раза повышается образование эстрогенов за счет увеличения уровня и активности фермента ароматазы» [71]. Продолжительное действие избытка эстрогенов «приводит к выраженной пролиферации эндометрия, которая в отсутствие уравнивающего действия прогестерона прогрессирует до состояния гиперплазии» [11,72].

Несмотря на то, что канцерогенез эндометрия является мультифакторным, не вызывает сомнения, что эстрадиол может действовать как проканцероген, способствующий уменьшению продолжительности клеточного цикла и усиливающий пролиферацию эпителиальных клеток. Как известно, эстрадиол и эстрон оказывают более выраженное пролиферативное воздействие на эндометрий, чем эстриол. Эстрогенное воздействие на составные компоненты слизистой оболочки тела матки может быть заблокировано прогестероном [73].

Эндометрий является тканью-мишенью половых стероидных гормонов и его пролиферативная и секреторная активность сохраняет выраженную зависимость от действия эстрогенов и прогестерона за счет высокой чувствительности рецепторов к данным гормонам (ER и PR), что свойственно не только нормальному, но и в гиперплазированной эндометрию, даже при формировании неоплазии [74]. Эпителиоциты эндометриальных желез способны отвечать на терапию гестагенами прекращением пролиферации [75,76]. При этом установлены: 1) высокая активность эстрадиола в отношении стимулирования синтеза ER и PR, 2) подавление синтеза ER и PR под действием прогестерона [77].

Учитывая сложные и неоднозначные механизмы регуляции эндометрия в норме и при формировании гиперпластических процессов возникает вопрос о возможной взаимосвязи развития ГЭ и состояния генетического аппарата клеток эндометрия [78-80], функционирование которого может иметь разнообразные регуляторные механизмы, включающие гормональную и

межклеточную регуляцию. Из механизмов межклеточной регуляции при ГЭ привлекает внимание изучение процессов протеолиза, цитокинового взаимодействия и апоптоза.

1.2. Роль компонентов протеиназ-ингибиторной системы в регуляторных процессах и патологии эндометрия

Протеолитические ферменты и их ингибиторы составляют отдельную группу биологически-активных факторов, которые участвуют в регуляции множества различных функций организма и немаловажную роль играют в функционировании репродуктивной функции женщин [81-83]. Однако изучению роли протеиназ в функционировании репродуктивной системы и развитии патологии органов репродукции уделяется явно недостаточно внимания. Известно, что оплодотворение представляет собой классический протеолитический процесс, в котором ведущую роль играет специфическая трипсиноподобная сериновая протеиназа акрозин [84,85]. Акрозин содержится в акросомах сперматозоидов и его основная функция заключается в расщеплении оболочки (зоны пеллюцида) экстрацеллюлярного матрикса, окружающего яйцеклетку, для осуществления процесса пенетрации. Недостаточная активность акрозина всегда будет сказываться на качестве процесса оплодотворения.

Однако и дальше уже оплодотворенная яйцеклетка для успешного формирования беременности должна имплантироваться в ткани эндометрия. В этом процессе также активное участие играет протеолитическая подготовка тканей эндометрия к имплантации. Имплантация эмбриона в материнский эндометрий является важным первым шагом на пути к формированию плаценты и в конечном итоге обеспечению зародыша формированием адекватного кровоснабжения. При внедрении трофобласта в ткани эндометрия происходит процесс ремоделирования эндометриальной ткани, в

формировании которого играет значение баланс между протеиназами и их ингибиторами [86,87].

Это связано с тем, что существенным звеном ремоделирования ткани, в том числе и в процессе имплантации, является изменение структуры и функции внеклеточного матрикса. Внеклеточный матрикс (ВКМ) представляет собой сложноорганизованную надмолекулярную структуру, определяемую как внеклеточный фибриллярный или пластинчатый материал. К одной из основных функций этой структуры относят регуляцию таких важнейших биологических процессов, как клеточная миграция, пролиферация, дифференцировка, морфогенез, биосинтез [88,89]. Нарушение структуры и регуляции ВКМ может приводить к нарушению функционирования нормальных и патологически измененных тканей [27].

Ключевую роль в процессе ремоделирования ткани, в том числе и тканей эндометрия, играет протеолитическая деградация ВКМ. Деграцию ВКМ инициируют протеиназы, выделяемые различными типами клеток. Известно 4 основные группы протеиназ: две первые - аспартиловые и цистеиновые ферменты (катепсины), которые активны в кислой среде и в первую очередь осуществляют внутриклеточный протеолиз в составе лизосом; две вторые - сериновые и металлопротеиназы, активные в нейтральной pH и осуществляющие внеклеточный протеолиз [90,91]. Все группы протеиназ способны приводить к деградации ВКМ как непосредственно путем разрушения структурных компонентов, так и в результате активации других протеиназ.

Активация протеолитического каскада, приводящего к деградации ВКМ, чаще всего индуцируется кислыми протеиназами, представленными в первую очередь катепсинами, находящимися в больших количествах в лизосомах. В норме всего 5-10 % катепсинов находятся в цитозоле. Следует отметить, что кислые протеиназы более активны в среде с низкими значениями pH в результате развития ацидоза ($pH < 5$), что соответствует изменениям в тканях при воспалении или в опухолевых тканях [92,93].

Накопление катепсина D в цитозоле клетки, описано как маркер карциноматоза при опухолях матки, яичников и ряда других органов [94].

Второй группой кислых протеиназ являются лизосомальные цистеиновые протеиназы, которые включают большое семейство катепсинов B, L, C, H, S, G и др. [95,96]. Основа функциональной активности этих катепсинов состоит в протеолитическом действии на состояние мембран и интерстиция [97,98]. Среди всех катепсинов наиболее существенно в процессах ремоделирования изучена роль катепсина B [99]. Выявлена способность катепсина B активировать некоторые матриксные металлопротеиназы (ММП) и снижать активность их ингибиторов [100].

Среди сериновых протеиназ наиболее важная роль в деградации ВКМ придается системе активатора плазминогена, в состав которой входят проактиваторы, плазминоген, рецепторы плазминогена, ингибиторы активации плазминогена и антиплазмин. В результате активации системы образуется активный плазмин, способный приводить к деградации важных компонентов ВКМ, таких как фибронектин, фибрин, коллаген [101,102]. Активация протеолиза при участии системы активатора плазминогена выявлена и при раке эндометрия [103].

Особую группу протеиназ представляют матриксные металлопротеиназы (ММП), основная роль которых состоит в деградации компонентов ВКМ и базальной мембраны. Металлопротеиназы могут быть объединены в несколько групп по своей субстратной специфичности. В состав ММП входит более 20 представителей, включающих в себя коллагеназы (ММП-1, -8 и -13), строммелизины (ММП-3, -7, -10) и желатиназы (ММП-2 и ММП-9) [104-106]. Коллагеназы участвуют в деградации фибриллярного коллагена, желатиназы – денатурированного коллагена; строммелизин в качестве субстрата использует протеогликаны и гликопротеины [107]. ММП в норме продуцируются клетками в очень незначительных количествах, но в ситуациях, когда по каким либо физиологическим или патологическим причинам требуется ремоделирование ВКМ, уровень продукции

металлопротеиназ резко возрастает [108]. Активность ММП регулируется как активаторами или проэнзимами, так и ингибиторами. Существенным моментом является то, что стимуляция генов, отвечающих за синтез ММП, может активироваться благодаря воздействию цитокинов (интерлейкин-4 и интерлейкин-10), факторов роста и факторов межклеточного взаимодействия [109], а также путем запуска каскада вторичных месенджеров через активацию протеинкиназ [110]. Причем металлопротеиназы в тканях синтезируются как фибробластами и клетками воспаления, так и малигнизированными клетками [111]. Параллельно эти же клетки могут синтезировать цитокины и другие регуляторные белки, которые индуцируют продукцию ММП окружающими клетками [112].

Однако для большинства металлопротеиназ активация осуществляется в экстрацеллюлярном пространстве сериновыми протеиназами (плазмин, урокиназа, лейкоцитарная эластаза) или другими энзимами семейства металлопротеиназ (ММП-2, ММП-13) [113,114]. С другой стороны, следует отметить возможность ингибирования ММП неспецифическими ингибиторами протеиназ (альфа-2-макроглобулин и альфа-1-ингибитор протеиназ) и специфическими ингибиторами из семейства тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП) [115]. Известно 4 группы ТИМП, каждая из которых контролирует эффекты отдельных металлоэнзимов. ТИМП совместно со специфическим белком релаксином участвуют в регуляции взаимодействия между протеиназами и ограничивают их влияние на ремоделирование структур различных тканей [116,117]. ММП и ТИМП могут играть определенную роль в имплантации эмбриона и обеспечении лизиса фето-плацентарной мембраны для внедрения трофобласта, причем секреция ММП и ТИМП клетками трофобласта регулируется составом среды окружающего ВКМ [118, 119].

Существенную роль в деградации ВКМ могут играть протеиназы нейтрофильных гранулоцитов [120]. Лизосомальные гранулы нейтрофилов содержат более 20 различных энзимов, среди которых присутствуют

металлопротеиназы, коллагеназы, эластаза и катепсин G, обладающие выраженным деструктивным потенциалом [121]. Указывается на важную роль эластазы нейтрофилов в деградации компонентов ВКМ, формировании воспаления и прогрессии опухолевого роста [122]. В нормальных тканях деструктивное действие протеиназ контролируется мощной системой ингибиторов. Альфа-1-ингибитор протеиназ, альфа-2-макроглобулин и секреторный ингибитор эластазы эффективно ингибируют активность нейтрофильных протеиназ [123,124].

В условиях патологии протеиназ-ингибиторный баланс подвержен воздействию различных факторов, в первую очередь возможно развитие дефицита основных ингибиторов протеиназ [125]. С другой стороны, возможно окисление активных центров ингибиторов при действии свободных радикалов, в больших количествах генерируемых активированными нейтрофилами [126]. Хорошо известно, что воспалительный процесс и ряд других воздействий стимулируют фагоцитарные клетки и приводят к развитию «респираторного взрыва» с генерацией большого количества свободных радикалов [127]. Кроме того, все типы свободных радикалов, включая супероксиданион радикал, гидроксил радикал, перекись водорода, синглетный кислород, способны в больших количествах продуцироваться клетками воспаления [128,129]. Высвобождающиеся свободные радикалы приводят как к непосредственной модификации структурных компонентов ткани, так и нарушению равновесия в системе протеиназы – ингибиторы.

Свободные радикалы способны увеличивать активность некоторых протеиназ путем воздействия на проэнзимы и усиливая их трансформацию в активные ферменты. С другой стороны, активные свободные радикалы способны приводить к снижению активности ингибиторов протеиназ. Альфа-1-ингибитор протеиназ и альфа-2-макроглобулин, также как ингибитор активатора плазминогена и лейкоцитарный ингибитор протеиназ, содержат метионин в активном центре, который подвержен окислению со стороны свободных радикалов с потерей антипротеиназной активности ингибиторов

[130]. Известно, что альфа-1-ингибитор протеиназ является поливалентным ингибитором, способным инактивировать множество протеиназ, включая катепсин G и лейкоцитарную эластазу [131]. Катепсин G и эластаза являются ферментами с малой специфичностью и способны разрушать эластин, коллаген, протеогликаны, иммуноглобулины, фибриноген и множество других белковых структур ВКМ. При снижении активности ингибиторов деградация этих компонентов увеличивается.

Особое значение развитие протеиназ-ингибиторного дисбаланса приобретает в тканях при развитии патологии, в первую очередь воспалительного процесса. Как видно из приведенных данных, неспецифическая активация протеиназ в тканях эндометрия способна приводить к нарушениям в тонких механизмах протеолиза, участвующих в процессах оплодотворения, пенетрации и имплантации с одной стороны. С другой стороны, дисбаланс в протеиназ-ингибиторной системе может быть и фактором малигнизации тканей, способствовать трансформации доброкачественного патологического процесса в сторону малигнизации.

Оценивая в целом участие системы протеиназ и их ингибиторов в процессах повреждения тканей, следует подчеркнуть, что различные классы протеиназ способны потенцировать взаимную активацию и усиливать снижение антипротеиназного потенциала. В частности, прокатепсин В способен активироваться катепсином Д и рядом других протеиназ. В свою очередь, катепсин В стимулирует активаторы плазминогена [132]. Образующийся плазмин способен активировать целый ряд металлопротеиназ [133]. Вовлечение в процесс нейтрофильных протеолитических ферментов существенно увеличивает деструктивный потенциал и окончательно склоняет чашу весов в сторону превалирования протеолитической активности. При этом еще одну ключевую роль играет формирование окислительного стресса. Развитие дисбаланса в протеиназно-ингибиторной системе ведет к активации протеолиза и деструкции белков ВКМ, что способствует прогрессированию патологии.

Среди немногочисленных работ по исследованию роли протеиназ в развитии патологии эндометрия, следует выделить отдельные сообщения, в которых указывается, что «эутопический эндометрий у больных эндометриозом отличается от такового у здоровых женщин» [134]. С другой стороны, образование гиперпластических процессов эндометрия может зависеть от непосредственного влияния воспалительных реакций, нарушающих нормальное течение процессов пролиферации и дифференцировки эндометрия [135] и действия протеиназ, в том числе ММП их тканевых ингибиторов [136]. В частности, Padežnik T и соавт. [27] показали, что матриксные металлопротеиназы (ММП) играют важную роль, влияя на рост опухоли как при эндометриальном, так и цервикальном типе рака. ММП разрушают различные специфические субстраты (коллаген, эластин, фибронектин, агрекан, витронектин и пр.) и играют решающую роль в деградации базальной мембраны и компонентах внеклеточного матрикса. Было обнаружено, что при обоих видах рака увеличивается количество одинаковых типов ММП, а именно ММП-1, ММП-2, ММП-9 и ММП-11. Повышенные концентрации ММП-2 и ММП-9 коррелировали со стадиями по FIGO и связаны с плохим прогнозом при раке эндометрия, тогда как при раке шейки матки повышенные концентрации ММП-9 были связаны с лучшим исходом.. При изучении экспрессии ММП-6 и ТИМП-4 получены аналогичные данные. Другими исследователями установлено, что экспрессия ММП-9 (желатиназы В) прогрессивно возрастает при переходе от неатипической гиперплазии к атипическим формам [137]. Кроме того, O. Graesslin и соавт. [138] при исследовании ММП-2, -7, -9 и ТИМП-1 и ТИМП-2 в эндометрии показали важную роль ММП-2 и ТИМП-2 в развитии и прогрессии злокачественного процесса в слизистой оболочке матки.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности и важности изучения роли различных протеиназ в развитии патологии эндометрия, также важно исследование их диагностической и прогностической ценности.

1.3. Значение цитокинов в формировании патологии эндометрия

Следующим немаловажным фактором патогенеза ГЭ является изменение иммунной системы. Известно, что эндокринная и иммунная система женского организма тесно взаимосвязаны [139]. Воспалительные клетки и, в частности, продукция ими провоспалительных цитокинов, могут играть важную роль в формировании гиперплазии и рака эндометрия [140].

При исследовании иммунного статуса у женщин с ГЭ были выявлены изменения в системе иммунитета у больных с ГЭ и предраком эндометрия с «снижением уровня Т-лимфоцитов, нарушением дифференцировки клеток этой субпопуляции, особенно Т-супрессоров, и изменение их функциональной активности» [141]. Изменения особенно выражены при атипической форме гиперплазии. Многообразие биологических эффектов цитокинов и их ключевая роль в поддержании иммунологического гомеостаза [135] объясняет широкий спектр действия цитокинов [142]. Причем большинство цитокинов действуют в микроокружении, т.е. локально в тканях, а «индуцировать продукцию моноцитами и макрофагами провоспалительных цитокинов - ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF- α может липополисахарид клеточной стенки грамотрицательных бактерий» [143,144].

Доказано, что интерлейкины включаются во все этапы иммунного ответа. Но следует отметить, что кроме регуляции различных иммунных функций, цитокинам придается важное значение в формировании опухолей [145]. Причем многие аспекты участия цитокинов в развитии злокачественных новообразований реализуются через воспалительную реакцию [146,147]. Высокий уровень экспрессии цитокинов в опухолевом микроокружении, а также наличие воспалительных инфильтратов свидетельствуют о потенциальной возможности цитокинов стимулировать прогрессию и инвазию опухоли, стимулировать ангиогенез, обеспечивать метастазирование и поддерживать воспалительные изменения [148-150].

Ключевым фактором, который считается связующим звеном между воспалением и злокачественной опухолью считается NF-каппа В (NF-κB), от которого зависит как активация цитокинов, в первую очередь ИЛ-1 и TNF-α, так и генов семейства Bcl [151]. Причем как в развитии воспалительных реакций, так и опухолевого процесса важная роль придается ряду провоспалительных цитокинов, к ключевым из которых следует отнести ИЛ-1, ИЛ-6 и TNF-α [152]. Молекулярный путь, лежащий в основе ассоциации ракового воспаления, включает фактор транскрипции ядерного фактора-κB и его комплекс ингибитора κB-киназы (IKK). NF-κB представляет собой фактор транскрипции, который регулирует апоптоз, пролиферацию клеток и остановку роста клеток, а также усиливает ангиогенез за счет экспрессии фактора роста эндотелия сосудов. Путь NF-κB также является важной системой вторичного мессенджера для передачи сигналов воспалительных цитокинов [153]. В большинстве нормальных клеток NF-κB остается в цитоплазме и неактивен до тех пор, пока клетка не будет стимулирована соответствующим лигандом. Одной из групп активаторов NF-κB являются провоспалительные цитокины, включая TNF-α и IL-1β, которые после образования комплекса со своими рецепторами привлекают киназы, активирующие комплекс ингибитора κB-киназы. Активированный комплекс ингибитора κB-киназы фосфорилирует IκB, молекулу ингибиторного шаперона, связанную с NF-κB. Затем NF-κB высвобождается и перемещается в ядро, где активирует различные гены, в том числе те, которые участвуют в воспалении и пролиферации [154,155]. Конститутивная активность ингибитора κB-киназы, приводящая к изменению активации NF-κB, является признаком воспалительных заболеваний. Освободившийся белок NF-κB может также активировать сигнальные пути, способствующие развитию злокачественных новообразований, как в раковых клетках, так и в опухолево-ассоциированных воспалительных клетках [156], а aberrантная активность NF-κB была зарегистрирована для нескольких видов рака, включая эстроген-ассоциированный рак груди.

Провоспалительные эффекты интерлейкинов связаны, прежде всего, с их способностью «стимулировать синтез белков острой фазы, пирогенных субстанций, простагландинов, коллагена и выраженной способностью влиять на эндотелий сосудов. В последнее время цитокинам семейства ИЛ-1 отводится важная роль в запуске механизмов активации инфламасом» [157-159]. Активация инфламасомы осуществляется группой Toll-подобных рецепторов [160] и происходит стимуляция иммунитета [161].

Важным цитокином с множеством специфических функций в иммунорегуляции является TNF- α [162]. TNF- α «стимулирует пролиферацию Т-клеток, усиливает активность NK - клеток, индуцирует противоопухолевую активность макрофагов, является цитотоксическим для некоторых опухолевых клеток, стимулирует продукцию других цитокинов» [163,164]. Важная роль TNF- α и ИЛ-6 в развитии опухолей приводит исследователей к заключению, что препараты, ингибирующие TNF- α и ИЛ-6 могут в перспективе эффективно использоваться в качестве терапевтических средств при опухолевой и воспалительной патологии [165,166] Но при этом изучаются возможные риски развития онкологической патологии при использовании ингибиторов TNF- α при лечении воспалительной патологии [167]

К противовоспалительным цитокинам можно отнести ИЛ-3,4,10,13 [168]. С точки зрения противоопухолевого иммунитета, наиболее важными цитокинами следует считать факторы роста Т-клеток, такие как ИЛ-2, иммунорегуляторные цитокины, ассоциированные с типом Т-хелперного [169,170].

Результатом иммунного ответа в тканях эндометрия может быть выработка тканевыми макрофагами провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , TNF- α и ИЛ-2). Выявлено, что на фоне сохраненных параметров системы гемостаза в периферической крови пациенток с ГЭ «развивается выраженная гиперкоагуляция, степень выраженности которой зависит от концентраций провоспалительных цитокинов в эндометрии и не зависит от степени его патологической трансформации» [171].

Таким образом, дальнейшее изучение в первую очередь локальных реакций цитокинов в эндометрии при развитии патологических процессов позволит понимать роль воспалительных изменений и обеспечит дальнейшую разработку более эффективных подходов для профилактики и лечения как гиперпластических процессов, так и предраковых и онкологических заболеваний.

1.4. Апоптоз и генетические мутации в развитии гиперплазии и рака эндометрия

Очевидна роль мутаций генов в возникновении предрасположенности к ГЭ и РЭ, однако и в процессе формирования гиперплазии по мере прогрессирования морфологических изменений в эндометрии возрастает частота выявления мутаций PTEN (ген подавления роста опухоли). При этом активно накапливается мутационная нагрузка и выявляются соматические мутации ряда онкогенов (k-ras, BRCA, p-катенина). Прогрессивно нарастают изменения в локусах регуляторных генов. Выявляется микросателлитная нестабильность, отмечаются аномалии генов репарации ошибочно спаренных ДНК (hMLN-2, hMSH-1) [13,172]. Описанные изменения способствуют прогрессированию ГЭ и канцерогенезу.

Следует отметить, что встречаются единичные данные об участии факторов апоптоза - онкогенов p-53 и Bcl-2 в развитии ГЭ [173]. Изучение роли p53 в развитии рака и ГЭ показывает, что «мутация гена p53 присутствует в подмножестве агрессивных аденокарцином эндометрия, но отсутствует при гиперплазии эндометрия» [174].

С патогенетических позиций канцерогенез эндометрия – сложный и многоступенчатый процесс, который характеризуется постепенным прогрессированием от гиперплазии к раку эндометрия [175]. Причем гиперплазия без атипии не ассоциируется со значительными генетическими изменениями, тогда как атипичная ГЭ связана с различными мутациями [176].

В связи с этим канцерогенез эндометрия включает несколько сигнальных путей, которые способствуют пролиферации клеток и облегчают уход от иммунной системы и передачу сигналов апоптоза [177,178]. Ключевыми медиаторами являются несколько сигнальных путей, таких как PI3K – АКТ, mTOR, WNT; каскады передачи сигнала / β -катенина (включая передачу сигналов APC – β -катенин), путь MAPK – ERK, путь передачи сигнала рецептора лиганда VEGF – VEGFR, путь передачи сигнала ErbB и пути передачи сигнала P53-P16INK4a [179,180]. С.Kandoth et al. проанализировали 373 эндометриоидные опухоли высокой степени злокачественности [176]. Ими с помощью анализа массивов и секвенирования были обнаружены мутации в генах PTEN, CTNNB1, PIK3CA, ARID1A, KRAS и ARID5B с высокой частотой. Мутации PTEN и KRAS при карциноме эндометрия могут запускать путь PI3K – АКТ и путь митоген-активированной протеинкиназы / внеклеточной сигнальной киназы (MAPK – ERK). Мутации PIK3CA и PIK3R1 часто встречаются с мутацией PTEN. Мутации KRAS и CTNNB1 также участвуют в передаче сигналов WNT в канцерогенезе эндометрия. W. Gibson et al. [14] проанализировали опухолевые ткани с помощью полноэкзомного секвенирования и установили, что мутация NRIP1, который является облигатным кофактором рецептора эстрогена, составляет 12,5% мутаций.

Основываясь на фундаментальной биологической функции этих сигнальных путей, можно предположить, что для первичного канцерогенеза и метастазирования имеют решающее значение четыре варианта трансформации клеток эндометрия: 1) предотвращение апоптоза, 2) усиление пролиферации клеток, 3) блокирование дифференцировки, 4) индукция ангиогенеза. При этом немаловажную роль могут играть и другие нюансы, такие как остановка клеточного цикла, микросателлитная нестабильность и др.

Следует отметить, что детальный патогенез рака эндометрия остается неясным, несмотря на большое число клинических и фундаментальных исследований. Несмотря на большой объем фактического материала необходим анализ основных сигнальных путей в молекулярной регуляции

рака эндометрия. Подробные знания об этих сигнальных путях полезны для понимания патофизиологии канцерогенеза в рамках разработки новых целевых методов лечения рака эндометрия.

Не менее значимым фактором микросреды трансформирующихся клеток является гипоксия, которая играет важную роль в злокачественном росте опухолей любых локализаций, в том числе и РЭ. Гипоксия сопровождает онкогенез часто как следствие роста ткани и нехватки ее обеспечения метаболитами, но она же запускает транскрипцию генов-участников синтеза факторов клеточной адаптации. К ним относятся факторы роста сосудов, ангиогенеза и неоваскуляризации, необходимые для нормализации способов доставки и доступности кислорода, что важно как для локальной инвазии, так и формирования опухолевой ниши для отдаленных метастазов [181]. Для процесса канцерогенеза эндометрия значимость молекулярного фактора, индуцируемого гипоксией (HIF), также важна [182,183]. По-видимому, опухоль связана с гипоксией, которая стабилизирует HIF-1 α , являющийся активатором транскрипции различных генов, способствующих повышению уровня VEGF, и стимулированию роста сосудов, и прогрессированию опухоли. В гипоксической среде стабильная форма HIF-1 α приобретает активность за счет пониженной функции пролил- и аспарагиндиоксигеназ. HIF-1 α транслоцируется с образованием гетеродимера с HIF-1 β . HIF-1 индуцирует транскрипцию различных генов путем связывания с HIF-чувствительными элементами [184].

Связанный с HIF-1 α фактор роста сосудов VEGF также участвует в канцерогенезе эндометрия [185], методом ИГХ выявлена высокая экспрессия VEGF в низкодифференцированных опухолях, в том числе и при РЭ. Клетки аденокарциномы эндометрия развиваются в бедной кислородом среде, постоянно иницируя неоангиогенез и развитие существующих кровеносных микрососудов, что обеспечивает их популяции адаптацию к гипоксии [186]. Взаимосвязь между VEGF и HIF-1 следующая: фактор гипоксии напрямую регулирует выработку сосудистого фактора роста, о чем сделан вывод на

основании изучения их коэкспрессии в ткани методом ИГХ. Кроме того, эстрогены могут также усиливать выработку VEGF, опосредованно, через активацию молекулярного внутриклеточного сигнального пути P13K – АКТ, что важно в физиологическом овариальном цикле и сохраняется, а точнее усиливается, уже как одно из патогенетических звеньев при патологии [187]. Молекулы, влияющие на ангиогенез перспективны с точки зрения таргетной терапии РЭ, так ингибиторы пути P13K – mTOR через подавление передачи сигналов HIF-1 α – VEGF могут ингибировать рост опухоли и повышать чувствительность РЭ к лучевой терапии [188].

Для интегрирования опухолевого очага в организменные системы снабжения кислородом и питательными веществами, а также вывода продуктов метаболизма все ангиогенные факторы играют исключительно важную роль. Они необходимы и для подготовки микроокружения в отделённых участках будущих как гематогенных, так и лимфогенных метастазов [189,190]. Основным регулятором неоваскуляризации при РЭ является иницирующий HIF-1, который прямо влияет на экспрессию гена и, следовательно, белка VEGF [191]. Для солидных опухолей данные белки инициируют образование микроциркуляторных сосудов любого типа, что содействует в первую очередь лимфогенному метастазированию [192]. VEGF запускает процесс лимфангиогенеза в опухолевом очаге и его метастатических нишах [193]. Уровень экспрессия HIF-1 α и VEGF демонстрируют обратную корреляцию с степенью дифференцировки (grade) опухолевого очага и прямую корреляционную взаимосвязь с уровнем метастазирования и темпом инвазивного роста [192,194].

Для внешней реализации эффектов ангиогенеза необходим сигнальный путь, соединяющий внутри- и внеклеточную передачу сигналов. Таким путем выступает P13K – АКТ, являющийся ключевым регулятором канцерогенеза РЭ [195]. Он опосредует главные процессы: метаболизм клеток, их рост, пролиферацию и требующийся для этого ангиогенез [196]. В процессе прогрессирования РЭ за счет высвобождения факторов роста, цитокинов,

происходит индукция PI3K на рецепторах клеточной мембраны. Активированный PI3K трансформируется в фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (PIP₂), фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат (PIP₃) и фосфоинозитид-зависимую киназу 1 (PDK1). PDK1 фосфорилирует белок АКТ [197], что, в свою очередь, приводит к последующей активации mTORC1 [198]. Путь mTOR активирует канцерогенез эндометрия.

В передаче сигналов не менее важна роль рецепторных тирозинкиназ (RTK), что индуцирует активацию пути Ras / Raf / MEK / ERK, который индуцирует рост, пролиферацию, выживание клеток и ангиогенез. При РЭ отмечена высокая частота встречаемости мутации PIK3CA, ключевого гена, кодирующего альфа-субъединицу PI3K [199]. У большинства пациентов с РЭ выявляются мутации PTEN, ряд авторов описывают их в более чем 50% случаев, менее распространены, но все же довольно часто встречаются мутации PIK3CA (30%) и K-RAS (20%) [200]. Мутации в PTEN могут нарушать регуляцию активации PI3K, АКТ, mTOR, что приводит к ингибированию проапоптотических влияний и активирует антиапоптотические факторы, способствуя канцерогенезу эндометрия [176]. Сигнальный путь Ras – Raf – митоген-активируемая протеинкиназа (MEK) – внеклеточная сигнальная киназа (ERK) регулирует пролиферацию и дифференцировку клеток [197]. Сигнальный каскад активируется под действием различных факторов, которые включают генетические изменения, воздействие факторов роста, цитокинов, интерлейкинов и митогенов. При раке эндометрия передача сигналов Ras – Raf – MEK – ERK часто активируется сверхэкспрессией рецепторов. Мутация гена K-RAS, который кодирует небольшой белок суперсемейства GTPase, наблюдается в 20% случаев рака эндометрия [197].

Путь передачи сигналов Wnt – β -катенин делится на два основных типа – канонический (зависимый от β -катенина путь) и неканонический (путь Wnt – JNK или Wnt – кальций), которые регулируют несколько аспектов клеточной биологии, включая эмбриогенез, дифференцировку клеток, пролиферацию и

канцерогенез. Wnt взаимодействует с семейством белков Frizzled для ингибирования комплекса APC, AXIN, CK1 (casein kinase 1) и GSK3 β (glycogen synthase kinase-3 β) который опосредует стабилизацию β -катенина, а затем активирует перемещение β -катенина в ядро [201,202]. В ядре β -катенин взаимодействует с семейством факторов транскрипции Т-клеточный фактор – фактор связывания лимфоидного энхансера (TCF – LEF). Это взаимодействие препятствует транскрипции генов, что способствует пролиферации и выживанию клеток. В неканоническом пути Wnt обеспечивает высвобождение кальция и кальмодулина путем связывания с рецепторами Frizzled [203]. Неканонический и канонический пути взаимодействуют друг с другом [204]. Передача сигналов Wnt – β -катенин важна при ГЭ и раке. Установлено, что мутации в гене β -катенина, сопровождались накоплением β -катенина в 38% случаев РЭ, а ИГХ исследование впоследствии продемонстрировало накопление β -катенина в ядрах в 12–31% исследованных случаев рака эндометрия [205]. Сверхэкспрессия компонентов пути Wnt, таких как Wnt7a, коррелирует с прогрессированием опухоли и неблагоприятным прогнозом при раке эндометрия [206,207]. Прогестерон и эстроген также участвуют в передаче сигналов Wnt и регулируют цикл эндометрия [208]. В течение первых двух недель менструального цикла высвобождение большого количества эстрадиола из клеток вызывает повышение уровня рецептора эстрогена эндометрия (ER α). Передача сигналов рецепторов эстрогена способствует передаче сигналов PI3K, АКТ, MAPK и Wnt, которые вызывают пролиферацию эндометрия посредством транскрипции нижележащих генов-мишеней [209,210]. На поздней стадии менструального цикла высвобождение прогестерона желтым телом препятствует контролю эстрадиолом пролиферации клеток эндометрия. Канцерогенез эндометрия характеризуется дисбалансом количества прогестерона и эстрогена. Сверхэкспрессируемый эстроген связывается с ER- α , ER- β и рецептором эстрогена, связанным с G-белком (GPER).

Дисфункция прогестерона также может иметь решающее значение при раке эндометрия [211]. Так, прогестерон может активировать экспрессию Dickkopf1 (DKK1) и Forkhead box protein O1 (FOXO1) для подавления передачи сигналов Wnt [208]. Малый интерферирующий РНК-опосредованный нокдаун DKK1 и FOXO1 и ИГХ анализ показали аналогичные результаты и подтвердили, что прогестерон подавляет передачу сигналов Wnt при ГЭ и канцерогенезе эндометрия. При раке эндометрия I стадии экспрессия DKK1 и FOXO1 может быть снижена из-за плохо дифференцированного ER- α и рецептора прогестерона.

Инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-I) активирует сигнальный путь P13K – АКТ через рецептор тирозинкиназы, что способствует последующей экспрессии циклина D1 и пролиферации клеток [212]. Наблюдения за тем, что стрептозотоцин может снижать уровень циркулирующего инсулина у мышей с ожирением и что пролиферативный эффект эстрогена значительно снижается, подтверждают предположение о том, что инсулин может повышать чувствительность клеток эндометрия к эстрогену. Изменения чувствительности эндометрия к эстрогенам могут быть связаны с уровнями рецепторов эстрогенов. IGF-I может усиливать экспрессию рецептора эстрогена, связанного с G-белком, в раковых клетках эндометрия и способствовать миграции и пролиферации клеток [213].

Сигнальные пути эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) при раке эндометрия – важный процесс, при котором «эпителиальные клетки теряют межклеточные контакты и приобретают мезенхимальные свойства, которые проявляются в ремоделировании цитоскелета и миграционной активности» [214,215]. Всего выделяют три типа ЭМП. Тип 1 отвечает за эмбриогенез и развитие органов. Клетки могут дифференцироваться с образованием различных типов вторичных эпителиальных тканей [216]. Тип 2 индуцируется воспалением и фиброзом и происходит при регенерации тканей. ЭМП 3-го типа наблюдается при канцерогенезе и объясняет трансформацию

вторичных эпителиальных клеток в раковые и, как следствие, локальную инвазию и отдаленные метастазы [217,218].

Известно, что трансформация нормальных эпителиоцитов в раковые клетки – это сложный многоступенчатый процесс, доступный для микроскопической диагностики, но требующей высокой компетентности патолога и навыка работы с материалом соскобов. Морфологически трансформация проявляется изменением полярности клеток, изменением взаимодействия с ВКМ вплоть до отслоения их от базальной мембраны [219]. ЭМП участвует в прогрессировании трансформации очага до метастатического рака [220]. Сигнальные пути ЭМП могут активироваться цитокинами [29] или факторами роста из местного опухолевого микроокружения с последующим взаимодействием с трансформирующим фактором роста бета (TGF- β), путем Wnt – β -катенин, Notch, Hedgehog и RTK [221]. Недавно было продемонстрировано участие ЭМП в процессе канцерогенеза при раке эндометрия, которое включает потерю E-кадгерина или индукцию его репрессоров [222,223]. Другие гинекологические раковые опухоли также характеризуются вовлечением ЭМП [224].

Нормальные и раковые клетки реагируют на TGF- β (трансформирующий фактор роста бета) в зависимости от состояния ВКМ [225]. Он регулирует активацию карцинома-ассоциированных фибробластов (CAF), которые в свою очередь секретируют множество проонкогенных цитокинов, включая ИЛ-6, который может быть выделен из тканей рака эндометрия и способствует пролиферации клеток [226]. CAF также участвуют в канцерогенезе эндометрия из-за секреции ИЛ-8, хемокинов MCP-1 (моноцитарного хемотактического белка 1), CCL5 (хемокина (мотив C-C) лиганда 5) и RANTES (Regulated on Activation, Normal T cells Expressed and Secreted), способствующих прогрессированию рака [227]. CAF могут проявлять специфические эффекты, которые запускают пролиферацию клеток рака эндометрия. Так, описано, как CAF индуцировали пролиферацию клеток рака эндометрия с помощью оси SDF-1 α – CXCR4, которая активировала пути

передачи сигналов PI3K – АКТ и MAPK – ERK через паракринные влияния. САФ способствуют секреции матриксной металлопротеиназы 2 (MMP-2) и MMP-9. Установлена передача сигналов mTOR при САФ-опосредованной пролиферации клеток, и это было подтверждено применением ингибитора mTOR рапамицина [228]. Следует отметить, что нормальные фибробласты эндометрия такие эффекты не демонстрируют. Таким образом, при активации, САФ могут синтезировать и секретировать различные факторы роста, хемокины и белки ВКМ, которые могут способствовать канцерогенезу соседних эпителиальных клеток. Ингибируя активацию САФ, TGF- β может оказывать эффект подавления опухоли. Потеря сигнала TGF- β в САФ является фактором микросреды, который способствует канцерогенезу и метастазированию [225].

На процесс ЭМП в ткани влияют факторы транскрипции разных сигнальных путей [229]. Клетки карциномы и ее микроокружения синтезируют и выделяют TGF- β , поскольку опухолевые клетки могут рекрутировать клетки стромы, секретирующие TGF- β (макрофаги и нейтрофилы) [230]. Высвобождение TGF- β из эпителиальных раковых клеток может также регулировать микроокружение опухолевой массы посредством аутокринной или паракринной регуляции. TGF- β играет несколько ролей в процессе ЭМП, которые включают активацию экспрессии эпителиальных белков с помощью факторов транскрипции ЭМП, снижение экспрессии регуляторных белков эпителиального сплайсинга и повышение активности не-Smad опосредованных сигнальных путей. В канцерогенезе эндометрия дисбаланс передачи сигналов TGF- β на ранних стадиях является ключевым сигналом, который вызывает аномальную пролиферацию эндометрия [231]. В исследовании анализа экспрессии генов микроматрицы TGF- β 1 индуцировал передачу сигналов ЭМП, что способствовало инвазивному фенотипу в клетках HEC-1A и RL95-2 [232]. После введения ингибитора TGF- β 1 инвазия карциномы эндометрия контролировалась и предотвращалась [233].

Таким образом, суммируя имеющиеся результаты можно заключить, что на данный момент существует много нерешенных вопросов, касающихся как классификации гиперпластических процессов эндометрия, так и клинко-патогенетической оценки ее течения и подходов к лечению. Неуклонный рост количества пациенток с данной патологией свидетельствует об отсутствии значимых результатов эффективной профилактики, диагностики и терапии, что, по-прежнему, актуализирует поиск ключевых звеньев патогенеза гиперплазии и рака эндометрия. Это выдвигает в число актуальных задач дальнейшее изучение механизмов формирования ГЭ, участия в патогенезе молекулярных механизмов межклеточных взаимодействий и поиск подходов к выбору оптимальной лечебной тактики.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования и клиническая характеристика обследованных женщин

Для решения поставленных задач были отобраны пациентки с гиперпластическими процессами эндометрия, проходившие обследование и лечение на лечебных базах кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии Крымского медицинского университета им. С.И. Георгиевского (Медицинского института) за период 2010-2019 гг. Работа с пациентками, вошедшими в обследуемые группы, строилась с соблюдением этических принципов, предъявляемых Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, в редакции 2000). На проведение исследования получено заключение этического комитета ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (протоколы №14 от 21.12.2018 и №3 от 14.03.2024).

От всех пациенток получено информированное согласие на участие в научной работе в рамках стандартного протокола и дизайна исследования, с содержанием которого они были предварительно ознакомлены. Каждая пациентка проходила обследование, включающее сбор необходимых анамнестических данных и проведение лабораторных и инструментальных методов исследования.

Основную группу обследованных женщин составила 101 пациентка фертильного возраста 19-49 лет (средний возраст $38,8 \pm 1,0$ лет) с различными видами ГЭ, у которых проводились детальные гистологические, ИГХ и биохимические исследования. Отдельную контрольную группу составили 18 пациенток (средний возраст $32,7 \pm 1,0$ лет) без ГЭ.

Следует особо отметить, что начало проведенного исследования и формирование групп опиралось на рабочую классификацию Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), принятую в 1994 году [64]. В основу этой

классификации положены гистопатологические характеристики поражения эндометрия и появления признаков злокачественного роста. Однако данная классификация была пересмотрена в 2014 году и «ВОЗ предложила упрощенную версию классификации ГЭ, в которую включила 2 категории, основанные на наличии цитологической атипии: гиперплазию без атипии и атипичную гиперплазию/интраэпителиальную неоплазию эндометрия (EIN)» [62,234]. При этом в классификации 2014 года перестала выделяться простая и комплексная (сложная) ГЭ, хотя для дизайна нашего исследования выделение этих форм гиперплазий имеет важное принципиальное значение.

В связи с этим при формировании экспериментальных групп нами были выделены пациентки с гиперплазией без атипии (n=77) и пациентки с атипичной гиперплазией или IEN (n=24). В свою очередь, для более досконального анализа в группе гиперплазий без атипии были выделены 2 группы: первая группа включала 41 женщину с простой ГЭ и вторая - 36 женщин с комплексной ГЭ.

Таким образом, общий дизайн исследования включал 3 группы пациенток с различными формами ГЭ: простой неатипичной (n=41), комплексной неатипичной (n=36), атипичной гиперплазией (n=24) и группу сравнения, которая включала 18 пациенток (средний возраст $32,7 \pm 1,0$ лет). В контрольную группу вошли пациентки, у которых не было выявлено патологии эндометрия и другой видимой патологии женских половых органов согласно данным гинекологического осмотра, УЗИ, дополнительных методов обследования, но которые проходили углубленное обследование в связи с бесплодием.

Кроме того, на втором этапе исследования проводился анализ эффективности различных вариантов гормональной терапии на локальные изменения гормонального фона, уровня цитокинов и показателей протеиназ-ингибиторной системы. Для этого группа с комплексной ГЭ из 43 пациенток была разделена на 4 подгруппы с применением различных вариантов гормональной терапии. Курс лечения с использованием гестагенов в

непрерывном режиме (Дюфастон) проведен у 10 пациенток, агонисты гонадотропинрилизинггормона (аГн-РГ) (Диферелин) применяли ее у 10 пациенток, у 11 женщин лечение проводилось с использованием комбинированных оральных контрацептивов (КОК)(Марвелон, Жанин), еще у 12 пациенток использовали внутриматочную систему с левоноргестрелом (ВСЛ) (Мирена). Кроме того, с использованием полученных результатов осуществлен анализ клинико-морфологической эффективности лечения комплексных ГЭ без атипии в группах с применением гестагенов (n=36) и в группе с применением агонистов Гн-РГ и КОК (n=42). Проведена оценка течения патологии через 3 месяца и анализ развития рецидивов ГЭ через 12 месяцев.

При клинико-лабораторном обследовании женщин в первую очередь оценивались бактериологические и ультразвуковые критерии патологии. Для проведения УЗИ исследования использовались сканеры экспертного класса. Всем пациенткам с заболеваниями эндометрия и женщинам, вошедшим в контрольную группу, проведено гистологическое и ИГХ исследование экспрессии рецепторов к эстрогену, прогестерону, ИГХ исследование маркеров воспаления и апоптоза в биоптатах или соскобах эндометрия, исследование содержания в крови и внутриматочных смывах гормонов эстрадиола и прогестерона, определение во внутриматочных смывах провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, TNF- α , показателей протеиназ-ингибиторной системы.

2.2. Гистероскопическое исследование и методика получения маточных смывов

Гистероскопия проводилась с использованием операционного гистероскопа «Karl Storz». При проведении исследования оценивали состояние слизистой, устьев маточных труб, рельеф стенок полости матки, деформацию полости матки. Для характеристики состояния слизистой тела

матки оценивали характер поверхности слизистой, высоту функционального слоя эндометрия, структуру сосудов, наличие полиповидных образований, состояние шеечного канала.

Внутриматочный смыв получали непосредственно перед проведением гистероскопии путем введения в полость матки 3-4 мл подогретого стерильного физиологического раствора через педиатрический одноразовый катетер Фолея. При аспирации введенной жидкости через 20-30 секунд получали 2-3 мл внутриматочного смыва. Смыв хранили при температуре $-15 \div -18^{\circ} \text{C}$ до проведения исследований. Непосредственно перед исследованиями смывы размораживали и центрифугировали 15 мин при 1500g. Надосаочную жидкость отбирали и в ней проводили все биохимические исследования. Пересчет результатов проводили относительно концентрации общего белка, который определяли методом Лоури, и стандартизировали пересчетом на 1 мг белка внутриматочных смывов.

2.3. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование

Гистологические исследования биоптатов эндометрия, полученных при лечебно-диагностических выскабливаниях полости матки, проводились в лаборатории кафедры патологической анатомии с секционным курсом и в лаборатории иммуногистохимии Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института им. С.И. Георгиевского. Гистологическое исследование проводилось после фиксации ткани эндометрия в 10% растворе нейтрального забуференного формалина с последующей пропиткой последовательно минеральным маслом и парафином, изготовлением парафиновых блоков и срезов толщиной 4–5 мкм. Срезы для обзорных окрасок помещали на обычные стекла для патогистологии и окрашивали гематоксилином Маейера и эозином, а для постановки ИГХ реакции – на высокоадгезивные стекла, покрытые

полилизином (“Menzel-Glaser”, Германия) [235]. ИГХ исследование осуществляли с помощью системы визуализации EnVision™ FLEX +, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus), Code K8024 фирмы Dako (Дания). Демаскировку антигенов проводили в камере Паскаля в течение 3 минут с нарастающей температурой до 115°C и последующим постепенным снижением температуры с использованием автостейнера (Dako Autostainer Instruments).

Для выявления клеток с рецепторами эстрогенов и прогестерона ИГХ реакцию проводили с использованием соответствующих первичных кроличьих моноклональных антител к рецепторам эстрадиола (Clone SP1) и мышинных моноклональных антител к рецепторам прогестерона (Clone PgR 636, Ready-to-Use, Autostainer) фирмы Dako. Контроль метода осуществляли с использованием позитивных (ткань эндометрия) и негативных (ткань мозга) образцов.

Интенсивность ИГХ реакции к эстрогену и прогестерону в ядрах клеток эпителия желез и стромы оценивали по методу гистологического счета H-score [236] по формуле – $S=1a+2b+3c$, где: a – % слабо окрашенных ядер клеток, b – % умеренно окрашенных ядер клеток, c – % сильно окрашенных ядер клеток. Степень выраженности экспрессии ЭР и ПР расценивали в соответствии со шкалой: 0-10 баллов – отсутствие экспрессии, 11-100 – слабая экспрессия, 101-200 – умеренная экспрессия, 201-300 – выраженная экспрессия.

Для выявления рецепторов общего лейкоцитарного антигена CD45 использовали мышинные моноклональные антитела (Clone 2B11 + PD7/26) фирмы Dako. Кроме того, для оценки специфических воспалительных изменений в эндометрии определяли популяцию натуральных киллеров (NK) CD 56, макрофагальный маркер CD 68 и популяцию натуральных Т-киллеров CD 8a. Подсчет положительно окрашенных клеток в поле зрения выполняли при увеличении 400х, оценивали в десяти случайных полях зрения (площадь одного поля составила 0,1 мм²) на каждом срезе с вычислением среднего арифметического.

Изготовление микрофотографий проводили с использованием цифровой камеры OLYMPUS C 5050Z, установленной на микроскопе OLYMPUS CX 41. Для создания архива использовали сканер препаратов Aperio CS2, Leica (Германия). Морфометрические исследования осуществляли с помощью программы Software DP-SOFT.

Иммуногистохимическое окрашивание с антителами к эндотелиальному сосудистому фактору роста VEGF (Thermo Scientific, клон RB-9031-P1, разведение 1:100), антиапоптотическому белку bcl-2 (Leica, клон BCL-2/100/D5, разведение 1:200) и проапоптотическому рецептору CD95 (Abcam, клон 133619, разведение 1:100) проводили в автоматическом иммуногистостейнере Bond-MAX с системой визуализации Bond Polymer Refine Detection System (Leica, Великобритания).

Оценку маркеров с цитоплазматической локализацией (VEGF, Bcl-2, CD95) проводили полуколичественным методом отдельно для железистого эпителия и стромы эндометрия. Пользовались следующей шкалой (табл.2.1):

Таблица 2.1. Критерии оценивания маркеров ИГХ с цитоплазматической локализацией.

окраска	отсутствует	слабая	средняя	сильная
<25	0	0	0	+
25-50	0	+	++	++
50-75	0	+	++	+++
>75	0	+	+++	+++

2.4. Определение уровня эстрадиола и прогестерона в крови и маточных смывах

Для определения концентрации гормонов в сыворотке крови использовали венозную кровь пациенток. Определение эстрадиола как в

сыворотке крови, так и маточных смывах проводили с использованием твердофазных ИФА систем (фирма “DRG Diagnostics” Германия). Для определения прогестерона использовали твердофазные ИФА наборы производства компании «Алькор Био» (Россия). Определение в сыворотке крови и внутриматочных смывах проводились аналогично, но результаты маточных смывов пересчитывались на концентрацию белка в пробах.

2.5. Определение концентрации провоспалительных цитокинов

Для определения концентрации цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и TNF- α твердофазном ИФА методом использовали наборы реагентов «Вектор-Бест» (Россия). Результаты фиксировали с использованием микропланшетного сканера с длиной волны 450 нм. По данным производителя чувствительность и диапазон измерений при использовании наборов составляет: для ИЛ-1 β и TNF- α от 0 до 250 пг/мл, для ИЛ-6 от 0 до 300 пг/мл. Полученные результаты укладывались в диапазон измеряемых концентраций.

2.6. Определение активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов

Исследование протеолитических ферментов и их ингибиторов проводили с использованием специфических субстратов на основе энзиматических методов [237]. Определение трипсиноподобной активности осуществляли на основе измерения скорости отщепления N-бензоил-L-аргинина (БА) от синтетического субстрата этилового эфира N- α -бензоил-L-аргинина (БАЭЭ) (Reanal). Для определения эластазоподобной активности использовался синтетический субстрат N-t-вос-аланил-n-нитрофениловый эфир (БАНФЭ). Для определения антитриптической активности (АТА) внутриматочного смыва использовали принцип торможения расщепления трипсином низкомолекулярного субстрата этилового эфира N- α -бензоил-L-аргинина

(БАЭЭ) (Reanal). При определении активности кислотостабильных ингибиторов (КСИ) предварительная подготовка внутриматочного смыва заключалась в полной инактивации лабильных ингибиторов протеиназ путем 20-минутного прогревания при 60 °С и кислых значениях (рН-4,1) в присутствии ацетатного буфера. Полученный экстракт нейтрализовали 0,05М NaOH и после центрифугирования 0,5 мл супернатанта использовали для исследования.

2.7. Методы статистической обработки результатов исследования

Статистическая обработка цифровых данных исследования проводилась методами вариационной статистики с вычислением средних величин (М) и оценкой вероятности расхождений (m) [238]. В независимых (несвязанных) выборках исследованных параметров в качестве критерия оценки статистической значимости различий использовали t-критерий Стьюдента. Для анализа качественных данных применяли критерий χ^2 Пирсона с поправкой на непрерывность в случае анализа дихотомических данных. Для сравнения ряда параметров в исследуемых группах применялся корреляционный анализ. Статистические расчеты выполняли в среде электронных таблиц Calc для Open Office.

Оценку эффекта проводимого лечения проводили с использованием парного критерия Вилкоксона для связанных выборок на основе анализа достоверности сдвига параметров до и после лечения. Причем сравнения проводили как на основании оценки достоверности сдвигов показателей в связанных выборках, так и по отношению к контрольной группе с использованием t-критерия Стьюдента для несвязанных выборок.

Все измерения и исследования осуществлялись на оборудовании, прошедшем метрологическую поверку и экспертизу.

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХРАКТЕРИСТИКА И СОСТОЯНИЕ ЛОКАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРПЛАЗИЯМИ ЭНДОМЕТРИЯ

Результаты гистологического исследования показали типичные изменения эндометрия и характерные для различных форм ГЭ особенности строения желез и соотношения количества желез и стромы. По цитологическим характеристикам выделяли гиперплазии без атипии и с атипией.

Структура эндометрия пациенток с простой ГЭ характеризуется равным соотношением площадей стромы и ветвящихся желез на срезах ткани. Для простой ГЭ характерно наличие как прямых (рис. 3.1) или слегка извитых, так и кистозно-расширенных желез (рис. 3.2).

В одном препарате выявляются железы округлые, овальные, разные по величине, от мелких до кистозно-расширенных. Число преобладающих мелких, прямых, ветвящихся и кистозно-расширенных желез варьирует у разных пациенток. Расположение желез неправильное, их плотность неравномерная, однако отчетливого тесного сближения желез нет.

Высота эпителия варьирует в зависимости от структуры железы – от высокого призматического в нерасширенных железах (рис. 3.1.) до уплощенного кубического в железах с признаками кистозного расширения (рис. 3.2.).

Эпителий желез чаще высокопризматический, ядра клеток овальные, вытянутые, сигарообразные, богаты хроматином, ядрышки неразличимы, встречаются типичные митозы. Для ядер часто характерно многорядное расположение, сохраняется полярность клетки, цитоплазма эпителиоцитов базофильная, апикальный край, как правило, ровный. Кистозно-расширенные железы имеют иные характеристики. Они выстланы однорядным эпителием с отсутствием видимой митотической активности клеток (рис. 3.3).

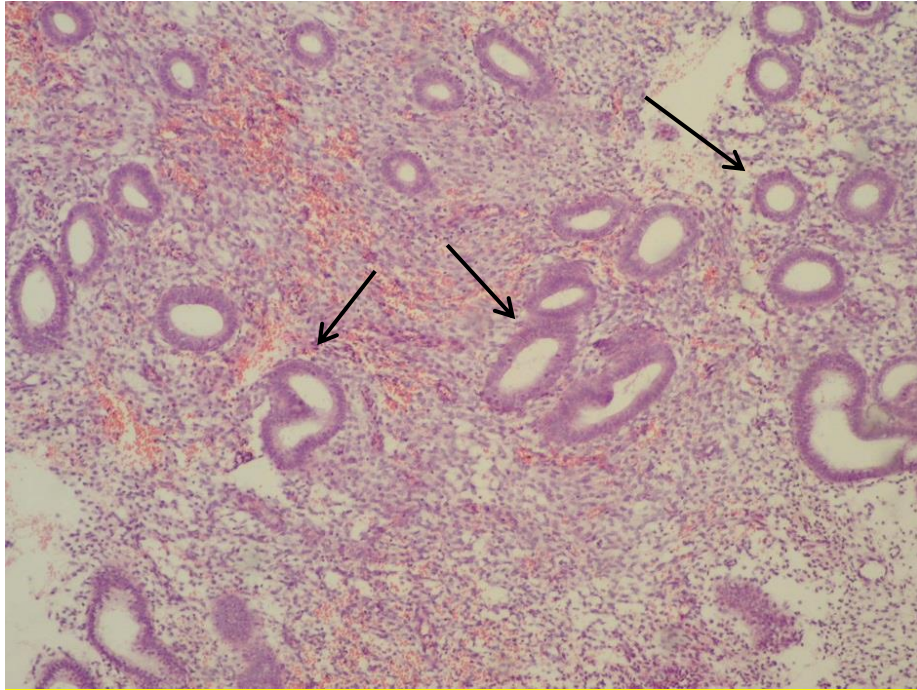


Рисунок 3.1. Фрагмент эндометрия женщины. Простая железистая гиперплазия без атипии. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200х. Стрелками указаны железы различной формы.

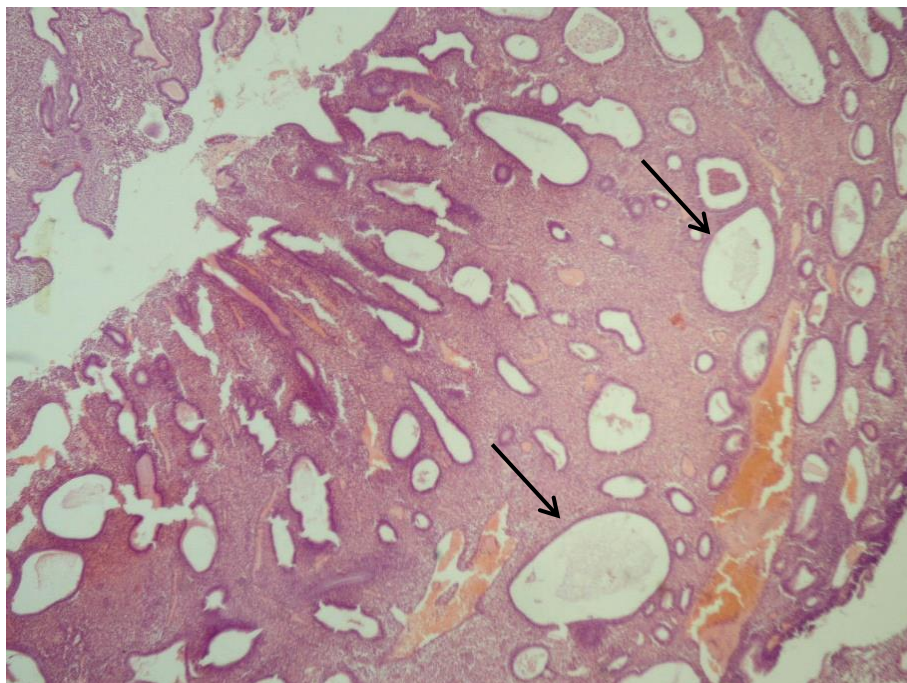


Рисунок 3.2. Фрагмент эндометрия женщины. Простая железистая гиперплазия без атипии. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100х. Стрелками указаны кистозно-расширенные железы.

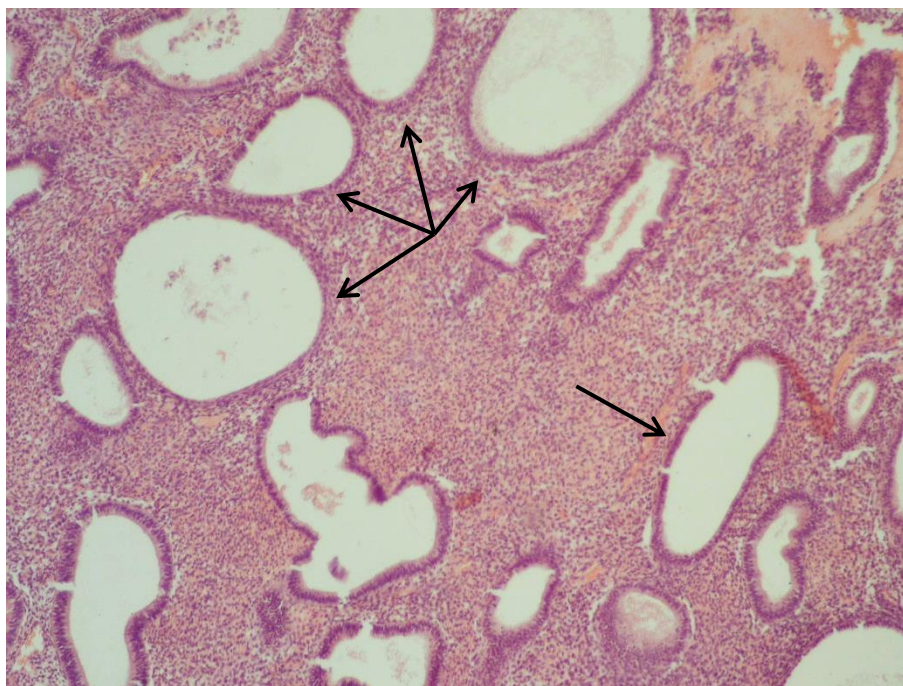


Рисунок 3.3. Фрагмент эндометрия женщины. Простая железистая гиперплазия без атипии. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200х. Стрелками указаны кистозно-расширенные железы с уплощенным эпителием.

Обращает на себя внимание высокая «клеточность» и васкуляризация стромы, малое количество волокон. Строма эндометрия представлена многочисленными характерными клеточными популяциями гематогенного происхождения и клетками фибробластического ряда. Фибробласты с признаками пролиферации, в них встречаются митозы, при этом волокнистых структур в межклеточном веществе мало.

Спиральные артерии развиты слабо. Обнаруживаются расширенные полнокровные капилляры, венулы, мелкие вены (рис. 3.2, 3.3).

Также при простой гиперплазии встречаются железы с псевдостратифицированной эпителиальной выстилкой. Эпителий в таких железах чаще многорядный пролиферирующий с наличием митозов. Ядра имеют округлую или слегка вытянутую форму и расположены в базальной части клеток. Некоторые эпителиальные клетки с выраженными секреторными изменениями (рис. 3.4).

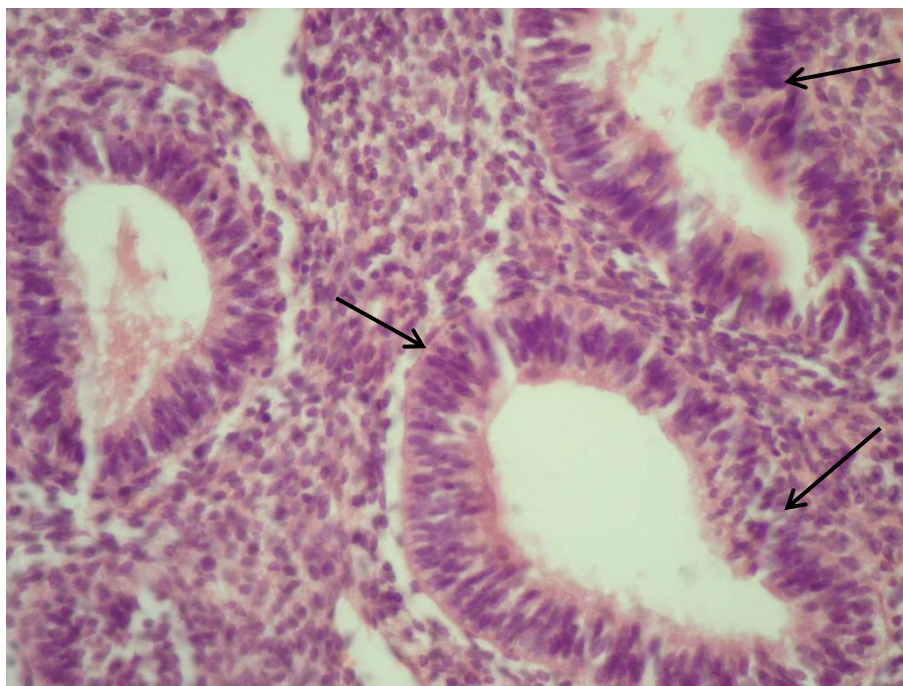


Рисунок 3.4. Фрагмент эндометрия женщины. Простая железистая гиперплазия без атипии. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400х. Стрелками указаны участки с характерной многорядностью эпителия, создающей впечатление многослойности эпителиальной выстилки желез.

Комплексная (сложная) ГЭ как вариант типичной железистой гиперплазии характеризуется практически всеми структурными признаками типичной гиперплазии, однако имеет ряд особенностей, наблюдается усложнение структуры на тканевом уровне. В образцах эндометрия пациенток с комплексной ГЭ при микроскопическом исследовании выявлены изменения структуры желез с выраженным ветвлением (почкованием) их элементов. Такое ветвление происходит как в просвет железы, так и латерально вовне, в строму. Количество желез увеличено и площадь, занимаемая ими на срезе, начинает превалировать над площадью стромы, появляются очаги плоскоклеточной метаплазии. Для комплексной ГЭ характерно различное расположение желез: диффузно или сгруппировано в виде компартментов, большинство желез сильно извиты, эпителий их имеет более высокую пролиферативную активность, но не имеет признаков атипии, сохраняется

полярность клеток, ядрышки неразличимы (рис. 3.5). В образцах некоторых женщин отмечается появление очагов псевдоплоскоклеточной метаплазии.

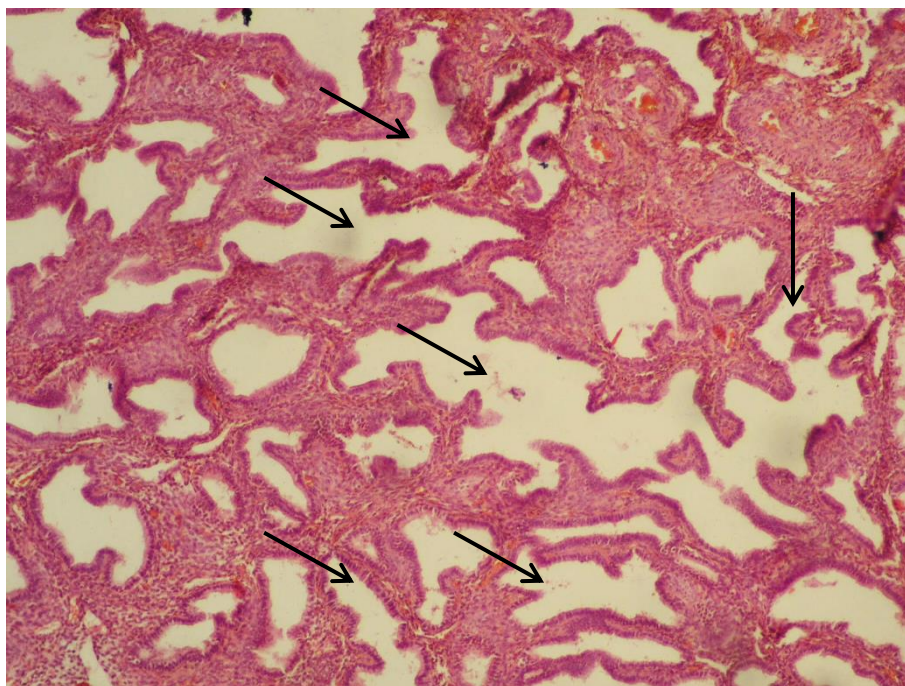


Рисунок 3.5. Фрагмент эндометрия женщины. Сложная (комплексная) гиперплазия эндометрия без атипии. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100х. Извитые железы (стрелки) в большом количестве, по занимаемой площади конкурируют со стромой эндометрия.

В ряде тканевых образцов пациенток с комплексной ГЭ ветвления желез (почки) направлены как внутрь железистой полости, так и в строму (рис.3.6).

При комплексной ГЭ железы близко расположены по отношению друг к другу, иногда с потерей прослоек стромы между ними (рис. 3.7). В железах наблюдается значительно более выраженная многорядность эпителия, чем при простой гиперплазии. Клетки эпителия желез типичные мноморфные с удлиненными ядрами, определяются субнуклеарные вакуоли, иногда мигрирующие к апикальному полюсу.

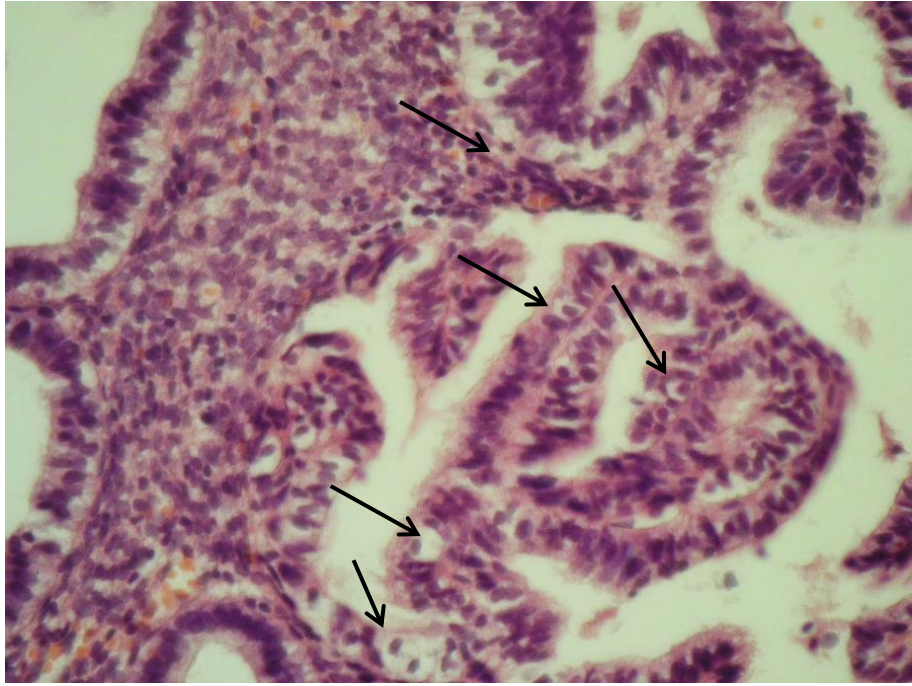


Рисунок 3.6. Фрагмент эндометрия женщины. Сложная (комплексная) гиперплазия эндометрия без атипии. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400х. Выраженное ветвление желез. Клетки эпителия типичные мноморфные, определяются вакуоли (стрелки).

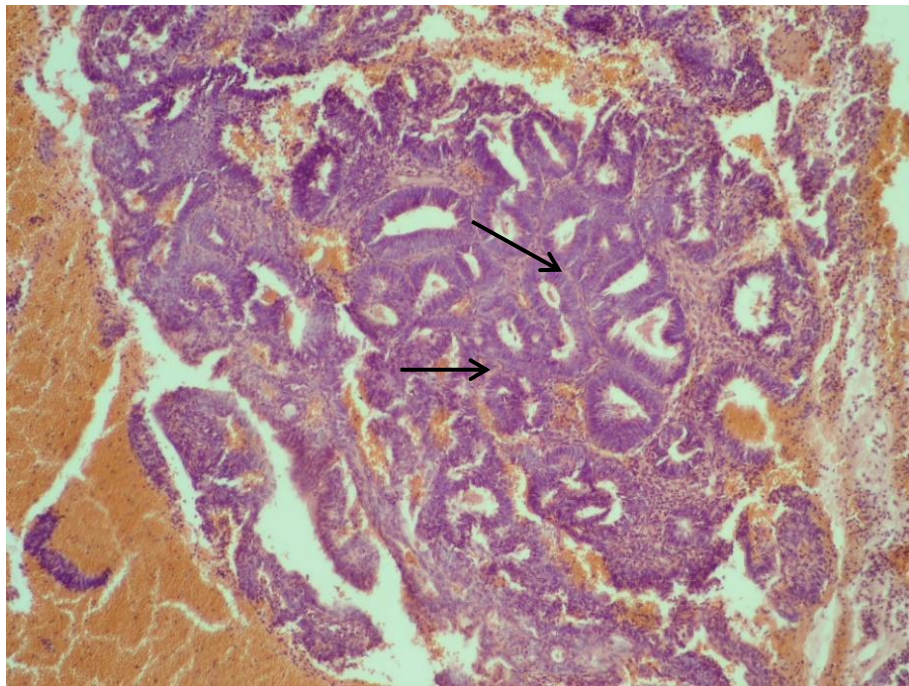


Рисунок 3.7. Фрагмент эндометрия женщины. Сложная (комплексная) гиперплазия эндометрия без атипии. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100х. Расположение желез «бок в бок».

Эти морфологические признаки являются пограничными, переходными перед появлением признаков клеточной атипии.

Атипичная гиперплазия эндометрия также характеризуется усложнением строения желез и потерей правильной формы, тесным расположением желез «бок в бок», уже существенным преобладанием железистого компонента над стромой и выявлением клеточного и ядерного атипизма. При этом ткань эндометрия как правило с архитектурными признаками, аналогичными неатипической гиперплазии: увеличение соотношения площади, занимаемой на срезе железами, к площади стромы (достигает соотношения более чем 3:1), строма скудная, прослеживается тонкими прослойками между базальными мембранами желез. Изменения клеток являются наиболее характерными морфологическими признаками ГЭ с атипией (эндометриальная интраэпителиальная неоплазия, EIN) (рис. 3.8).

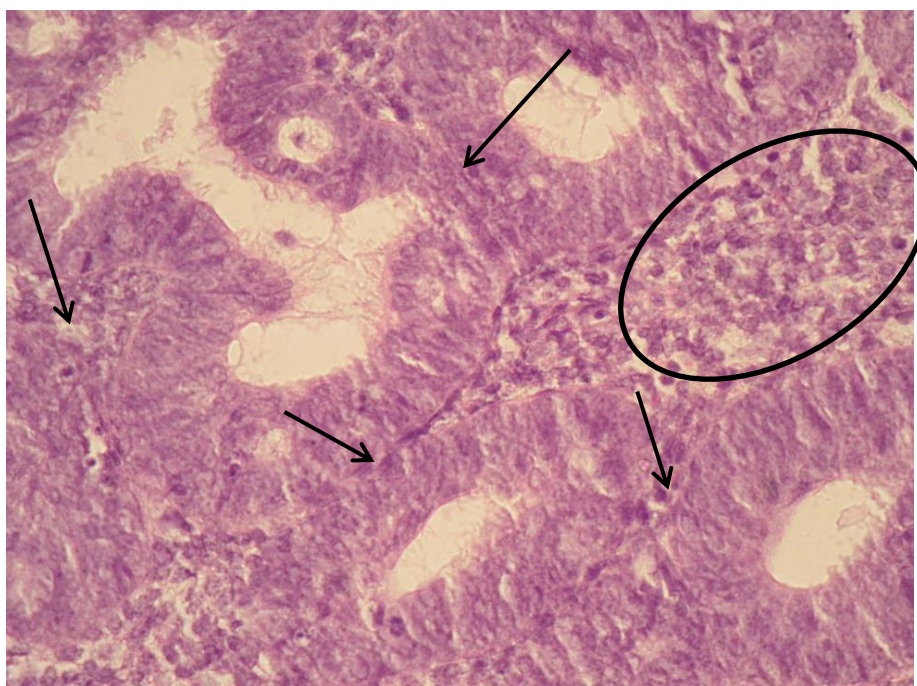


Рисунок 3.8. Фрагмент эндометрия женщины. Гиперплазия эндометрия с атипией. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.400х. Стрелками показано практически отсутствие прослоек стромы между железами, круг показывает очаг стромы.

Существенно нарастают признаки атипии клеток: увеличенные, округлые и неправильные контуры ядер, заметные увеличенные ядрышки с грубым и везикулярным хроматином. Увеличенное ядерно-цитоплазматическое соотношение и эозинофилия цитоплазмы. Стратифицированные эпителиальные клетки с потерей полярности по отношению к базальной мембране (рис.3.9). Также встречаются фокусы метапластических изменений в эпителиях другого типа.

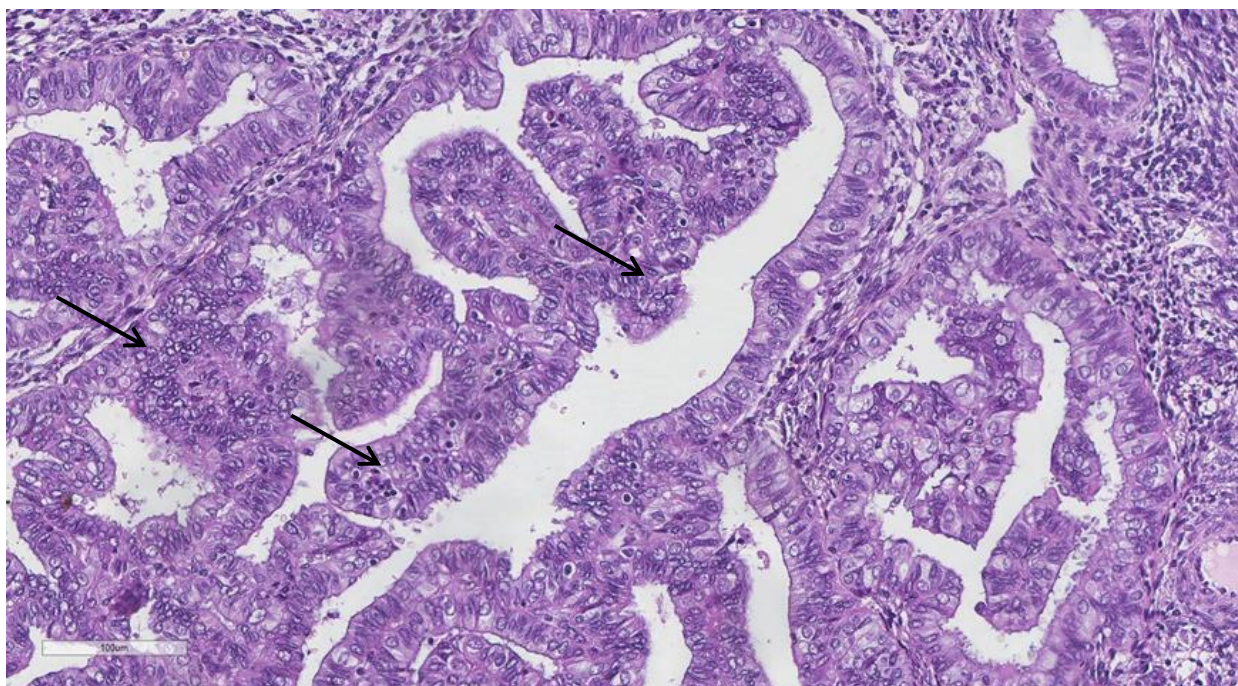


Рисунок 3.9. Фрагмент эндометрия женщины. Гиперплазии эндометрия с атипией. Парафиновый срез. Гематоксилин-эозин. Ув. 200х. Существенное преобладание площади желез над стромой, ветвящиеся железы с явлениями клеточной атипии эпителиальных клеток (стрелки).

Зачастую, дифференциальная диагностика атипической гиперплазии крайне затруднительна, особенно в биопсийном материале, в отношении эндометриоидной аденокарциномы низкой степени злокачественности. Признаками, позволяющими гистологически отличить эти два состояния, является отсутствие крибриформных и солидных структур, десмопластической трансформации стромы или обширных участков некрозов

с нейтрофильной инфильтрацией. Данная картина позволяет патоморфологу формулировать заключение как: Атипичская ГЭ / EIN с очагами эндометриоидной аденокарциномы с последующей рекомендацией проведения гистероскопии и выскабливания полости матки для дифференциальной диагностики.

В соответствии с дизайном исследования, включающего в качестве одной из ключевых задач *изучение роли провоспалительных факторов* в морфологическом материале из полости матки, при гистологическом исследовании особое внимание уделяли выявлению признаков воспалительного процесса в эндометрии.

Отмечено, что при обычном гистологическом исследовании у большей части обследованных пациенток с гиперплазией без атипии выявлены морфологические признаки хронического воспаления. В общей сложности воспалительный процесс выявляется в эндометрии у 68 (67%) женщин с ГЭ.

В отдельных случаях отмечена фибропластическая трансформация стромы с образованием разной степени выраженности периваскулярного и перигландулярного фиброза в функциональном слое, а также склероза и гиалиноза базального слоя эндометрия и формированием лимфоидных инфильтратов, образующих лимфоидные фолликулы (рис. 3.10).

Полученные результаты показали, что развитие ГЭ сопровождается развитием в эндометрии воспалительного процесса. При этом по данным морфологического исследования сложно судить не только о степени выраженности хронического воспаления и его активности, но и зависимости от характера гиперпластических изменений в ткани эндометрия.

Это послужило основанием для более детального исследования местных маркеров воспаления. В качестве маркеров, отражающих состояние воспаления, были выбраны цитокины ИЛ-1 β , ИЛ-6 и TNF- α и компоненты протеиназ-ингибиторной системы. Формирование ГЭ сопровождалось ростом уровня цитокинов в маточных смывах (рис. 3.11).

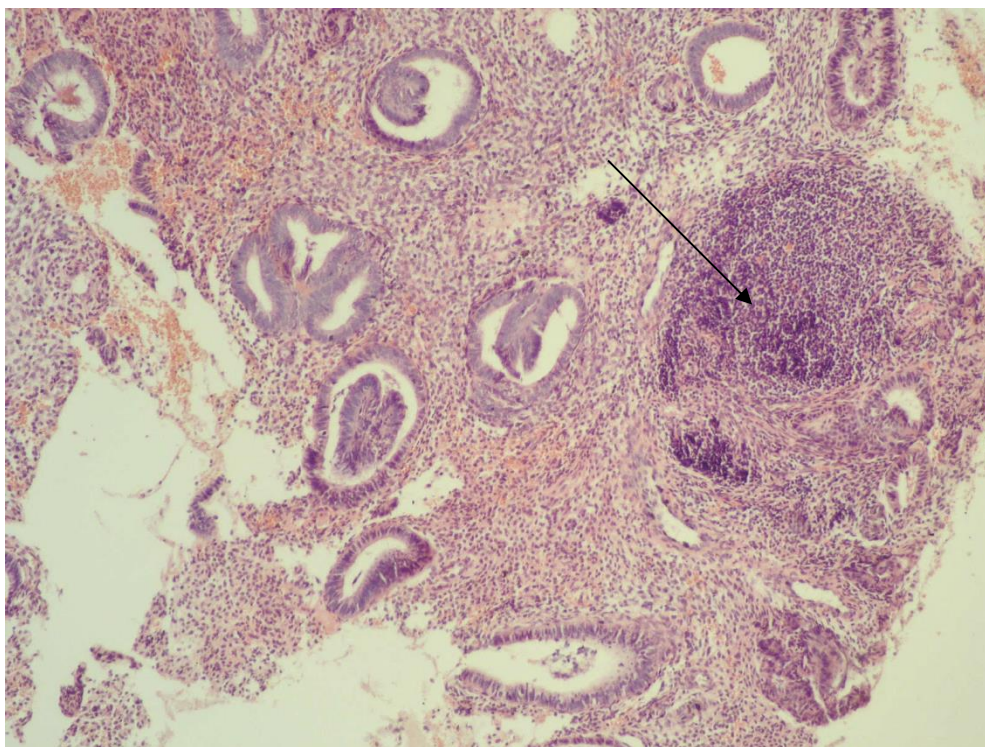


Рисунок 3.10. Фрагмент эндометрия женщины. Простая гиперплазия без атипии. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином Ув. 200х. Лимфоидный фолликул (стрелка).

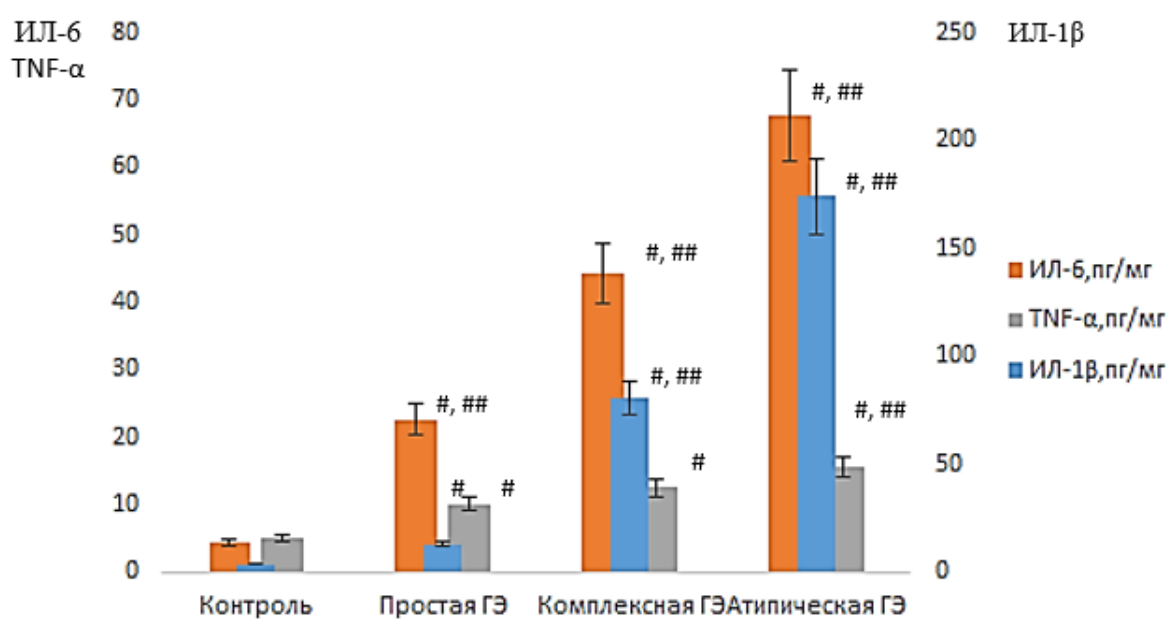


Рисунок 3.11. Различные виды гиперплазий эндометрия и уровень цитокинов в маточных смывах. Достоверность различий ($p < 0,05$) по отношению к контролю - #, по отношению к группе с простой ГЭ - ##.

Уровень ИЛ-1 β при простой ГЭ достоверно увеличивается в три-четыре раза, а при комплексной гиперплазии уже более чем в двадцать раз. Наиболее высокий рост отмечен при комплексной атипической гиперплазии. Прогрессивно увеличивается уровень двух других цитокинов с провоспалительными свойствами ИЛ-6 и TNF- α . В пять раз увеличивается уровень ИЛ-6 при простой гиперплазии и в десять раз при комплексной, а при атипической гиперплазии выявляется 15-ти кратное увеличение. Уровень TNF- α достоверно повышается в два-три раза при всех типах гиперплазий.

При формировании гиперпластического процесса в эндометрии и нарастании его тяжести отмечается аналогичная активация протеолитической активности в маточных смывах (рис.3.12).

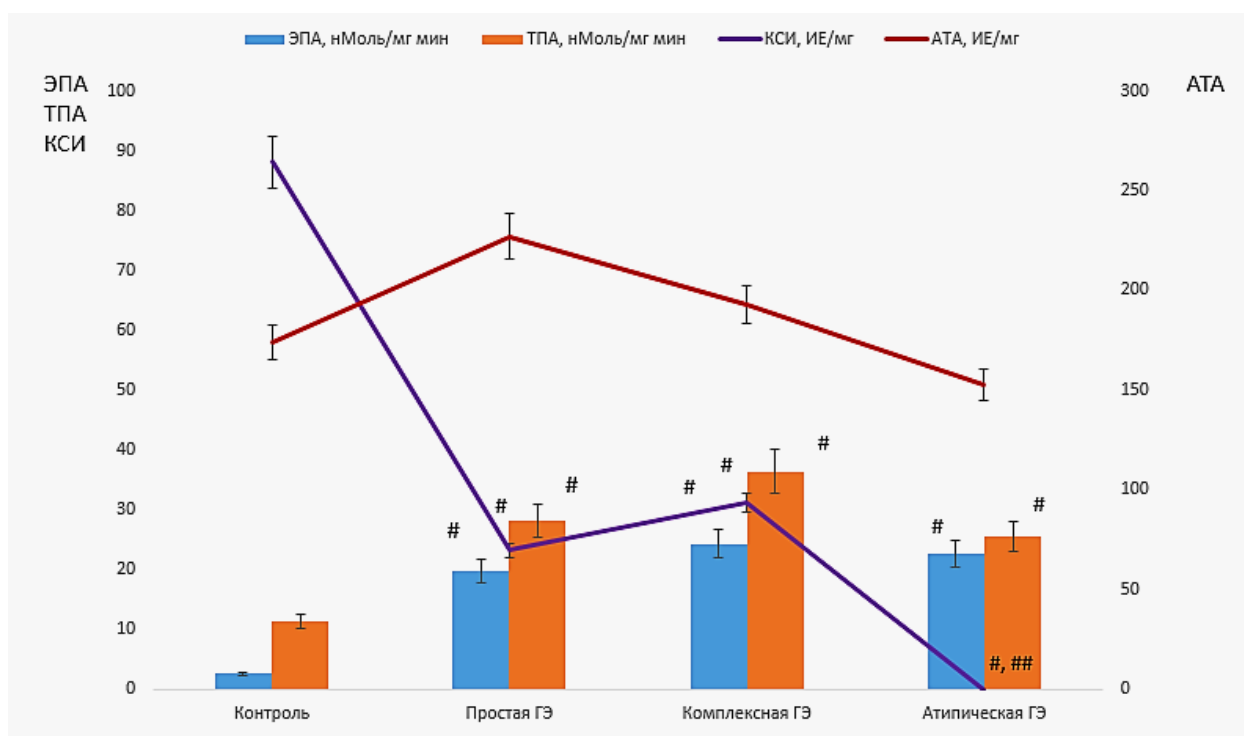


Рисунок 3.12 Различные виды гиперплазий эндометрия и активность неспецифических протеиназ и ингибиторов протеиназ в маточных смывах. Достоверность различий ($p < 0,05$ по отношению к контролю - #, по отношению к группе с простой ГЭ - ##).

Активность наиболее агрессивных эластолитических ферментов уже при простой ГЭ достоверно увеличивается более чем в семь раз и при комплексной гиперплазии без атипии и с атипией выше контроля почти в десять раз. Трипсиноподобная активность достоверно повышена в два-три раза при всех типах гиперплазии.

АТА, характеризующая антипротеиназный потенциал, в маточных смывах существенно не меняется. В тоже время, местносинтезируемые КСИ протеиназ достоверно снижаются при простой и комплексной гиперплазии в два-три раза. Причем при комплексной ГЭ с атипией они полностью перестали определяться в маточных смывах. В целом реакцию протеиназ-ингибиторной системы при ГЭ можно оценить как формирование дисбаланса, основной составляющей которого является увеличение активности протеиназ при абсолютной или относительной нехватки ингибиторов протеиназ.

Проведенные исследования по изучению содержания протеиназ и их ингибиторов, а также провоспалительных цитокинов в разные фазы менструального цикла не выявили существенного отличия показателей. Таким образом, для изменения уровня и активности провоспалительных факторов в маточных смывах первостепенное значение имеет принципиальное наличие гиперпластического процесса в эндометрии, не зависящая от фазы цикла при проведении исследования.

С точки зрения оценки патогенетических механизмов развития ГЭ активацию цитокинов можно расценивать как фактор стимуляции регуляторных сигналов, отвечающих за формирование воспалительных изменений в эндометрии. В тоже время прогрессивное повышение уровня цитокинов можно предложить в качестве информативного маркера развития воспалительного процесса в эндометрии, а в последующем для оценки прогноза развития гиперплазии.

С другой стороны, развитие дисбаланса в состоянии местных протеиназ и их ингибиторов, особенно ярко проявляющегося при комплексной ГЭ, свидетельствует об активации процессов деструкции в эндометрии. Рост

активности протеиназ и угнетение активности местно синтезируемых КСИ протеиназ отражают характер воспалительного процесса в эндометрии при его гиперплазии и выявленные изменения можно расценивать в качестве факторов риска малигнизации эндометрия.

**ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ
СИСТЕМНОГО И МЕСТНОГО ГОРМОНАЛЬНОГО ФОНА
ПРИ ГИПЕРПЛАЗИЯХ ЭНДОМЕТРИЯ**

В связи с тем, что уровень половых гормонов в крови у женщин зависит от фазы менструального цикла, анализ изменений гормонального фона обследованных женщин проводили в двух подгруппах в зависимости от фазы менструального цикла (табл. 4.1).

Таблица 4.1. Уровень эстрогенов и прогестерона в сыворотке крови у женщин с различными видами гиперплазии эндометрия

Группы Показатели	Контроль (n=18)		Простая ГЭ (n=41)		Комплексная ГЭ (n=36)		Атипическая ГЭ (n=24)
	Фаза цикла I (n=12)	II (n=6)	I (n=26)	II (n=15)	I (n=21)	II (n=15)	
Эстрадиол, пг/мл	66,4± 8,4	101,6± 9,7	* 111,2± 14,3	 113,9± 11,2	* 118,5± 12,7	** 129,1± 11,8	*,** 130,5± 9,3
Прогестеро н нМоль/л	5,3± 0,8	36,2± 5,4	6,1± 0,9	** 19,6± 6,4	5,3± 0,7	** 23,1± 4,1	* 22,3± 5,1

Примечание: достоверность различий ($p < 0,05$) показана по отношению к контролю * в I фазу менструального цикла, ** - во II фазу менструального цикла.

У женщин с простой ГЭ уровень эстрогенов в крови повышается, но достоверно повышен по сравнению с референсными значениями только при сравнении с I фазой цикла. В обе фазы цикла уровень эстрогенов достоверно повышен при комплексной ГЭ. При комплексной гиперплазии с атипией повышение эстрогенов достоверно по сравнению с обеими контролями. Причем максимум повышения эстрогенов в крови почти в 2 раза отмечается

при сравнении с контролем I фазы цикла. В отличие от эстрогенов уровень прогестерона в крови чаще остается на уровне контроля или достоверно снижен при неатипических гиперплазиях во II фазу цикла. При комплексной ГЭ с атипией сохраняется повышенный уровень прогестерона, но дальнейшего роста показателя не отмечается.

Учитывая, что реализация эффектов гормонов зависит как от состояния клеточных рецепторов, так и от локального уровня гормонов, следующим этапом было проведено исследование уровня стероидных гормонов в маточных смывах (табл. 4.2).

Таблица 4.2. Содержание половых гормонов в маточных смывах у женщин с различными видами гиперплазий эндометрия

Группы Показатели	Контроль (n=18)		Простая ГЭ (n=41)		Комплексная ГЭ (n=36)		Атипичная ГЭ (n=24)
	I (n=12)	II (n=6)	I (n=26)	II (n=15)	I (n=21)	II (n=15)	
Эстрадиол, пг/мл	6,3±0,8	8,2±1,2	* 19,9±4,3	** 43,7± 12,7	* 25,7±5,1	** 27,8±4,2	*, ** 20,7±4,9
Прогестеро н нМоль/л	0,4±0,1	0,7±0,1	* 0,8±0,1	** 2,2±0,6	* 1,3±0,3	1,6±0,5	0,58±0,21

Примечание: достоверность различий ($p < 0,05$) показана по отношению к контролю * в I фазу менструального цикла, ** - во II фазу менструального цикла.

Определение уровня стероидных гормонов в маточных смывах выявило более характерные изменения. Уже при простой гиперплазии отмечено увеличение эстрогенов в три раза при сравнении с первой фазой цикла, а при сравнении с II фазой цикла - в пять раз ($p < 0,001$). При комплексной гиперплазии разница в уровне эстрогенов в I и II фазу цикла выравнивается, превышая в среднем соответствующие показатели контроля в три-четыре раза

($p < 0,001$). Такой же характер изменений отмечен и при ГЭ с атипией.

Интересная закономерность отмечена при исследовании прогестерона в маточных смывах. При простой гиперплазии отмечено двухкратное повышение прогестерона, а при сравнении со II фазой более чем трехкратное повышение показателя ($p < 0,001$). При комплексной гиперплазии показатели прогестерона практически выравниваются и превышают соответствующие данные контроля в два-три раза. При комплексной атипической гиперплазии уровень прогестерона практически возвращается к уровню контрольных значений у здоровых обследованных. Таким образом, на локальном уровне отмечается более выраженное увеличение уровня эстрогенов по сравнению с прогестероном при всех типах гиперплазий. Эти изменения показывают, что в развитие относительной гиперэстрогении на локальном уровне более выражено.

Анализируя изменения в уровне половых гормонов в сыворотке крови и маточных смывах следует отметить, что уровень местных гормонов эффективно отражает локальные перестройки в изменении гормонального фона. Наряду с характером экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону по уровню гормонов в внутриматочных смывах можно судить о характере гиперпластического процесса и роли гормональных изменений в его развитии. Причем в нашей работе не установлено тесной корреляционной связи между системным и локальным содержанием гормонов. При этом тенденции и направленность сдвигов показателей в крови и маточных смывах совпадают и проявляются формированием относительной гиперэстрогении. При комплексной ГЭ происходит нивелирование разницы показателей на локальном уровне в зависимости от фазы цикла, что может свидетельствовать о превалирующем влиянии характера патологии на уровень изучаемых показателей.

Проведенное ИГХ исследование при различных видах гиперплазий показало, что гиперплазированный эндометрий по разному экспрессирует рецепторы к эстрогену и прогестерону. Причем степень экспрессии

рецепторов зависит от фазы менструального цикла и отличается в зависимости от локализации в строме или железистой ткани эндометрия. При простой ГЭ без атипии экспрессия рецепторов к эстрогенам увеличивается как в первую, так и во вторую фазу цикла с преимущественным увеличением в железах эндометрия (рис. 4.1).

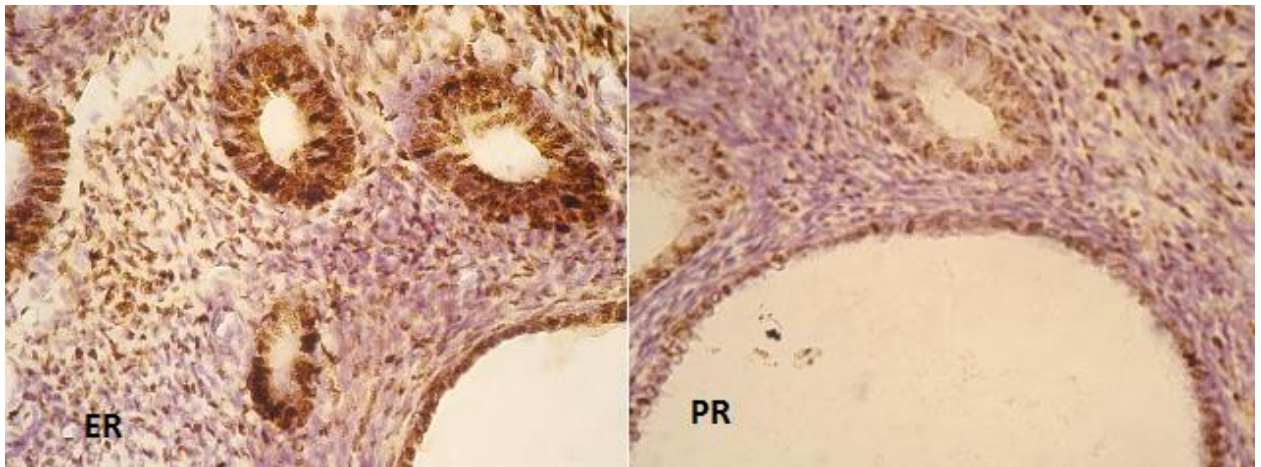


Рисунок 4.1. Фрагменты эндометрия женщины. Парафиновые срезы. Простая железистая гиперплазия эндометрия без атипии. ИГХ. Система визуализации EnVision FLEX+ . Ув. 200х. ER - Экспрессия рецепторов эстрогена. PR - Экспрессия рецепторов прогестерона.

В первую фазу цикла отмечался выраженный уровень экспрессии эстрадиола как в строме, так и в железах (табл. 4.3). Если увеличение экспрессии эстрогеновых рецепторов в строме недостоверно, то в эпителии желез количество рецепторов достоверно увеличивалось.

Во вторую фазу менструального цикла при простой гиперплазии без атипии уровень эстрогеновых рецепторов снижается по сравнению с первой фазой. Относительно контрольной группы, где отмечается слабая рецепция эстрогенов, интенсивность реакции усиливалась более чем в два раза ($p < 0,001$), особенно в эпителии желез эндометрия.

Таблица 4.3. Уровень экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону в строме и железах эндометрия в норме и при различных видах его гиперплазии (H-score), $M \pm m$

Группы	Фаза цикла	n	Экспрессия рецепторов к эстрогену		Экспрессия рецепторов к прогестерону	
			строма	железы	строма	железы
Контроль (n=18)	I	12	203,3±3,5	208,1±3,1	79,8±9,1	98,5±9,5
	II	6	77,8 ± 11,6	96,5 ± 9,5	209,8±11,6	201,5± 9,5
Простая ГЭ без атипии (n=41)	I	26	213,5±9,5	233,1±4,2	111,7±4,2	137,4±4,3
	II	15	128,6±16,4	196,9±14,6	156,3±16,7	193,9±8,3
Комплексная ГЭ без атипии (n=36)	I	21	138,6±16,4	196,9±14,6	126,2±8,1	167,4±6,5
	II	15	96,3±7,4	114,8±5,9	97,3±9,2	186,7±8,3
Комплексная атипическая ГЭ	I + II	24	38,6±5,2	126,7±9,3	28,6±12,3	247,4±7,2

Примечание: достоверность различий ($p < 0,05$) показана по отношению к контролю * в I фазу менструального цикла, ** - во II фазу менструального цикла.

В отличие от эстрогеновых рецепторов позитивная реакция к прогестерону при простой ГЭ без атипии имеет разную направленность в зависимости от фазы цикла. Если в первую фазу цикла у пациенток отмечалось увеличение экспрессии рецепторов к прогестерону как в строме, так и в железистой ткани эндометрия, то во второй фазе экспрессия рецепторов к прогестерону достоверно снижается по отношению к соответствующему контролю. Причем это снижение по отношению к показателям у здоровых сочетается с выравниванием уровня экспрессии прогестероновых рецепторов

в 1 и 2 фазу менструального цикла, где согласно оценке H-score определялась умеренная степень выраженности экспрессии.

При комплексной ГЭ без атипии увеличение экспрессии эстрогеновых рецепторов как в строме, так и в железистой ткани не отмечается (рис. 4.2).

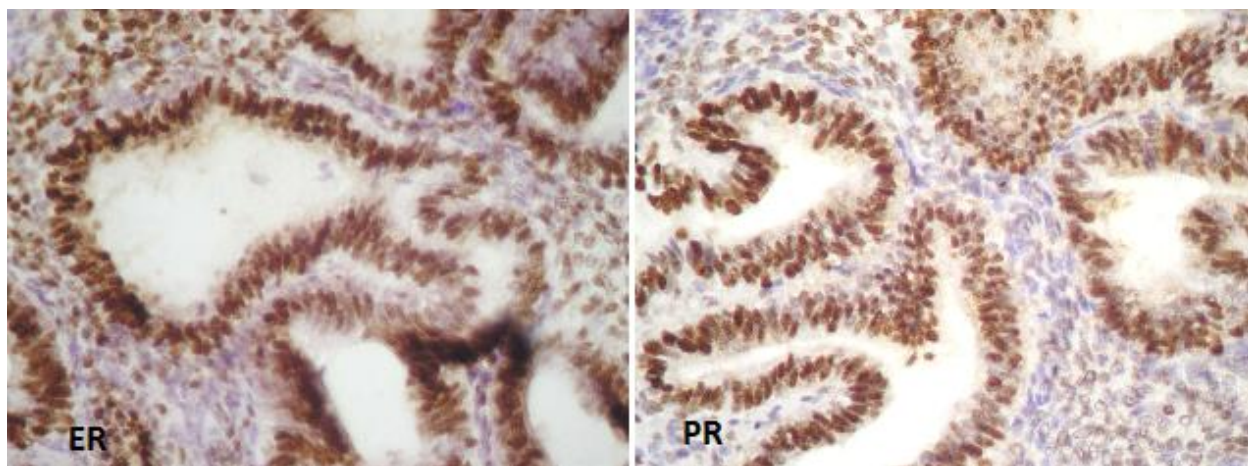


Рисунок 4.2. Фрагменты эндометрия женщины. Парафиновые срезы. Комплексная железистая гиперплазия эндометрия без атипии. ИГХ. Система визуализации EnVision FLEX+ . Ув. 400х. ER - Экспрессия рецепторов эстрогена. PR - Экспрессия рецепторов прогестерона.

Более того, в первую фазу цикла у женщин данной группы отмечается уменьшение экспрессии рецепторов к эстрогену, особенно в строме эндометрия на 32 % ($p < 0,01$). Экспрессия рецепторов к прогестерону в эту же фазу достоверно увеличивается по сравнению с соответствующим контролем. Во вторую фазу цикла наблюдали некоторое увеличение уровня эстрогенных рецепторов и резкое снижение уровня экспрессии рецепторов прогестерона в строме более чем в 2 раза ($p < 0,001$) по отношению к соответствующему контролю (согласно оценке H-score соответствует слабому уровню экспрессии). В тоже время уровень рецепторов прогестерона в железах снизился незначительно, что проявлялось умеренной степенью выраженности интенсивности реакции. Следует отметить, что разница в экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона между 1 и 2 фазами цикла еще более

нивелировалась.

При комплексной атипической ГЭ фактически не представляется возможным выявить фазу менструального цикла из-за выраженных нарушений менструального цикла по типу менометроррагий. Но при анализе экспрессии рецепторов выявлена характерная тенденция, свойственная как для экспрессии рецепторов эстрогена, так и прогестерона (рис. 4.3).

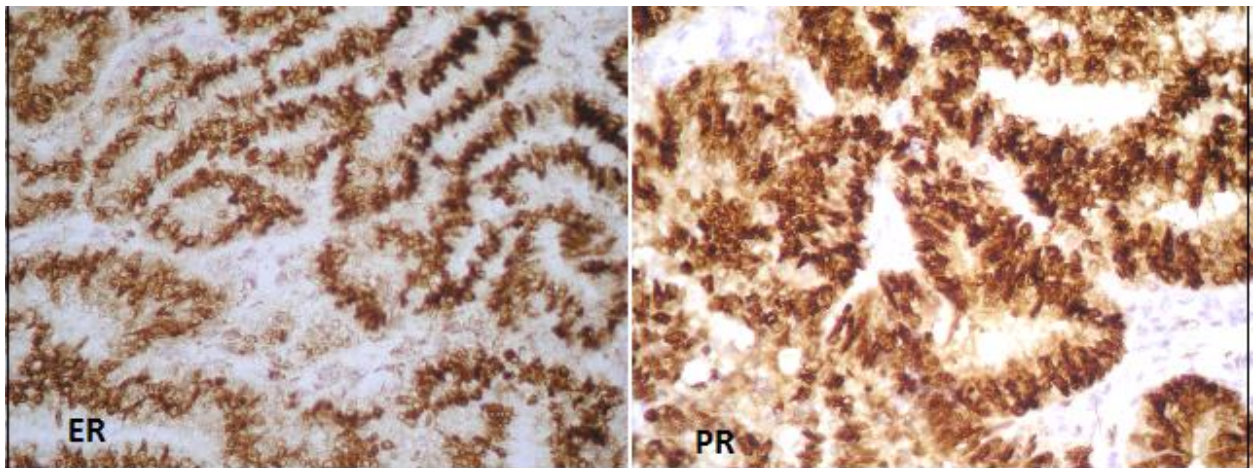


Рисунок 4.3. Фрагменты эндометрия женщины. Парафиновые срезы. Комплексная гиперплазия эндометрия с атипией. ИГХ. Система визуализации EnVision FLEX+ . ER - Экспрессия рецепторов эстрогена. Ув. 200х; PR - Экспрессия рецепторов прогестерона. Ув. 400х.

В строме эндометрия отмечено достоверное снижение экспрессии обоих типов рецепторов по отношению к обеим контролям, а в железистой ткани эндометрия выявлено увеличение экспрессии рецепторов эстрогена по отношению к контролю 2 фазы, и особенно рецепторов прогестерона по отношению к обеим контролям с выраженной степенью экспрессии.

На основании анализа полученных результатов складывается представление, что относительное преобладание рецепторов к эстрогенам над прогестероновыми рецепторами отмечается только при простой ГЭ. При комплексной ГЭ характерно уменьшение различий в экспрессии обоих типов рецепторов между фазами цикла, а относительное преобладание эстрогеновых

рецепторов отмечается во вторую фазу цикла. При комплексной гиперплазии с атипией экспрессия рецепторов к стероидным гормонам в строме эндометрия снижается, а в железистой ткани остается стабильно высокой. При этом можно отметить более высокий уровень экспрессии рецепторов к прогестерону в эпителии желез по сравнению с рецепторами к эстрогенам.

Следует отметить, что в нашем исследовании наиболее существенная разница в состоянии рецепторов к эстрогенам и прогестерону отмечена при простой ГЭ. При комплексной ГЭ происходит нивелирование разницы показателей как в зависимости от фазы цикла, так и по уровню относительного изменения экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону в тканях эндометрия. Эта тенденция характерна и для атипической ГЭ, при которой в тканях желез начинает превалировать экспрессия рецепторов к прогестерону. Данный результат позволяет предположить, что при простой гиперплазии гормональные нарушения с развитием относительной и абсолютной эстрогении является существенным фактором развития гиперплазии, а при комплексной гиперплазии без атипии и с атипией кроме нарушений гормонального фона можно предположить наличие других механизмов, способствующих формированию и прогрессированию патологии. По-видимому, нарастание воспалительных изменений в эндометрии может быть одним из факторов, способствующим прогрессированию патологического процесса и который может выходить на первый план при формировании комплексной ГЭ и развитии атипических изменений в эндометрии.

Анализируя результаты, полученные при изучении рецепции стероидных гормонов в тканях эндометрия, их уровень в сыворотке крови и маточных смывах следует отметить, что в нашем исследовании наиболее существенная разница как в состоянии рецепторов к эстрогенам и прогестерону, так и в уровне внутриматочных гормонов отмечена при простой ГЭ. При комплексной ГЭ происходит нивелирование разницы показателей в первую очередь в зависимости от фазы цикла, а также по уровню относительного изменения локального содержания эстрогенов и прогестерона

и экспрессии рецепторов к ним в тканях эндометрия. Для атипической ГЭ отмечается такая тенденция, при которой на фоне относительного преобладания местных эстрогенов в тканях желез начинает превалировать экспрессия рецепторов к прогестерону. Полученные данные позволяют предположить, что при простой гиперплазии гормональные нарушения с развитием относительной и абсолютной гиперэстрогении является существенным фактором развития гиперплазии, а при комплексной гиперплазии без атипии и с атипией кроме нарушений гормонального фона должны быть другие механизмы, способствующих формированию и прогрессированию патологии.

ГЛАВА 5. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И АПОПТОЗА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ГИПЕРПЛАЗИЙ ЭНДОМЕТРИЯ

В первую очередь ИГХ исследование ткани эндометрия было направлено на подтверждение наличия *воспалительных изменений* и возможной их зависимости от типа гиперплазии. Для этого проведена оценка экспрессии общего лейкоцитарного антигена CD45 с целью определения степени активности и выраженности воспаления в зависимости от характера гиперпластического процесса. Как показали проведенные исследования, у всех пациенток с ГЭ выявлены клетки с экспрессией CD45 (рис. 5.1).

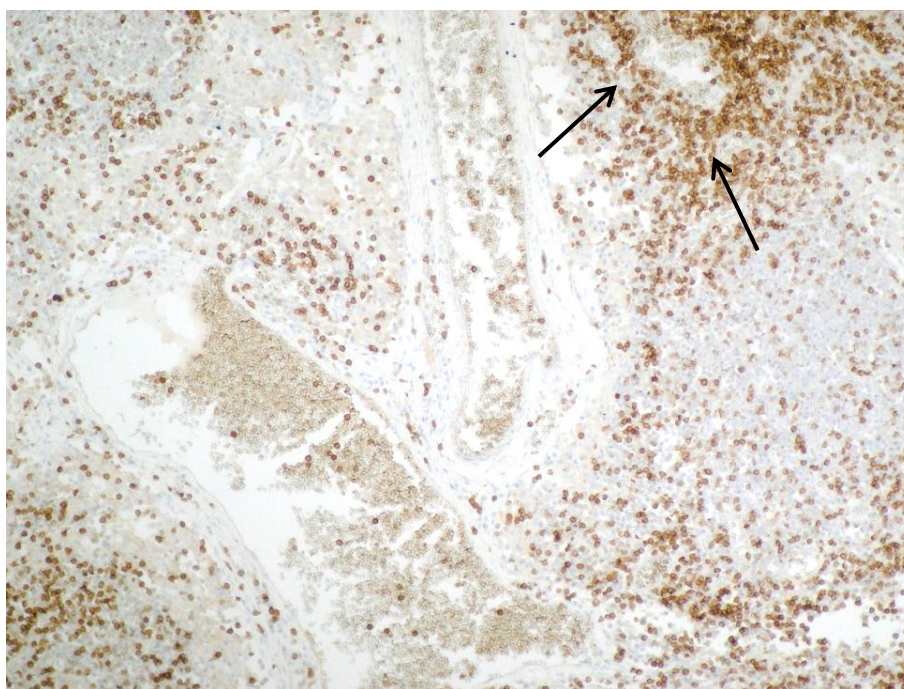


Рисунок 5.1. Фрагмент эндометрия женщины. Парафиновый срез. Выраженная периваскулярная экспрессия CD45 (стрелки) в строме эндометрия при гиперплазии эндометрия. ИГХ. Система визуализации EnVision FLEX+. Ув. 200х.

Количество таких клеток увеличивается при переходе гиперплазии от простой к комплексной, в том числе и комплексной атипической гиперплазии.

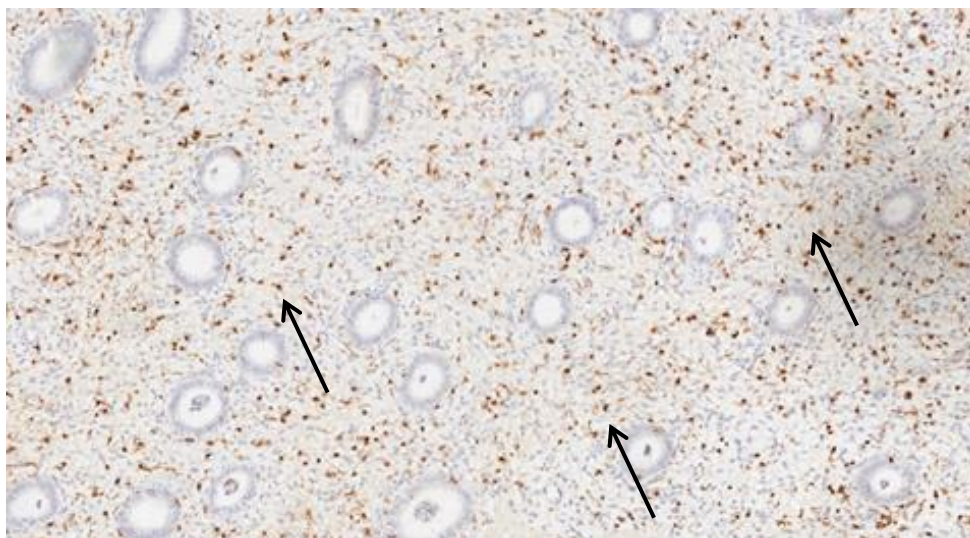


Рисунок 5.2. Фрагмент эндометрия женщины. Парафиновый срез. Экспрессия CD45 в тканях нормального эндометрия. ИГХ. Система визуализации EnVision FLEX+. Ув. 100х. Коричневые метки расположены в строме равномерно (стрелки).

Наращение лейкоцитарной инфильтрации, определяемое по уровню экспрессии CD45, достоверно отличалось при разных видах ГЭ. Так, если в тканях нормального эндометрия выявлялось всего $4,2 \pm 1,2$ % клеток, экспрессирующих CD45 в строме (рис.5.2), то уже при простой гиперплазии их процент увеличивался до $19,9 \pm 0,9$ % ($p < 0,001$) (рис.5.3), а при комплексной гиперплазии достигал $31,2 \pm 2,1$ % ($p < 0,001$) и локализовался группами с выходом CD45 в межэпителиальное пространство и собственно в просвет желез (рис.5.4). Максимальный уровень экспрессии CD45, достигающий $57,8 \pm 2,4$ ($p < 0,001$), отмечался при комплексной гиперплазии с атипией (рис.5.5).

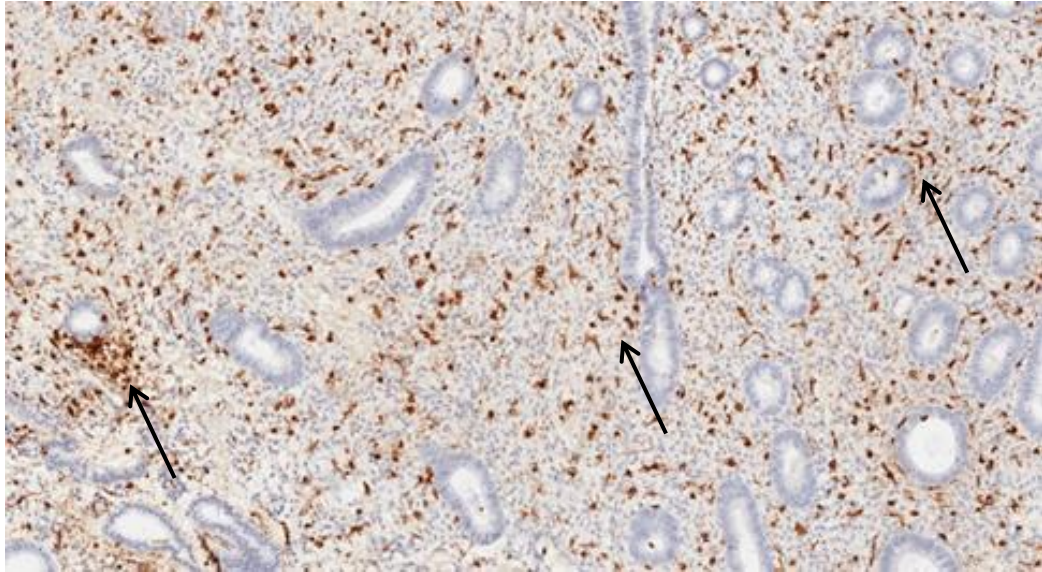


Рисунок 5.3. Фрагмент эндометрия женщины. Парафиновый срез. Экспрессия CD45 в тканях эндометрия при простой гиперплазии. ИГХ. Система визуализации EnVision FLEX+ . Ув. 100х. Усиление экспрессии маркера, очаговое расположение клеток в строме (стрелки).

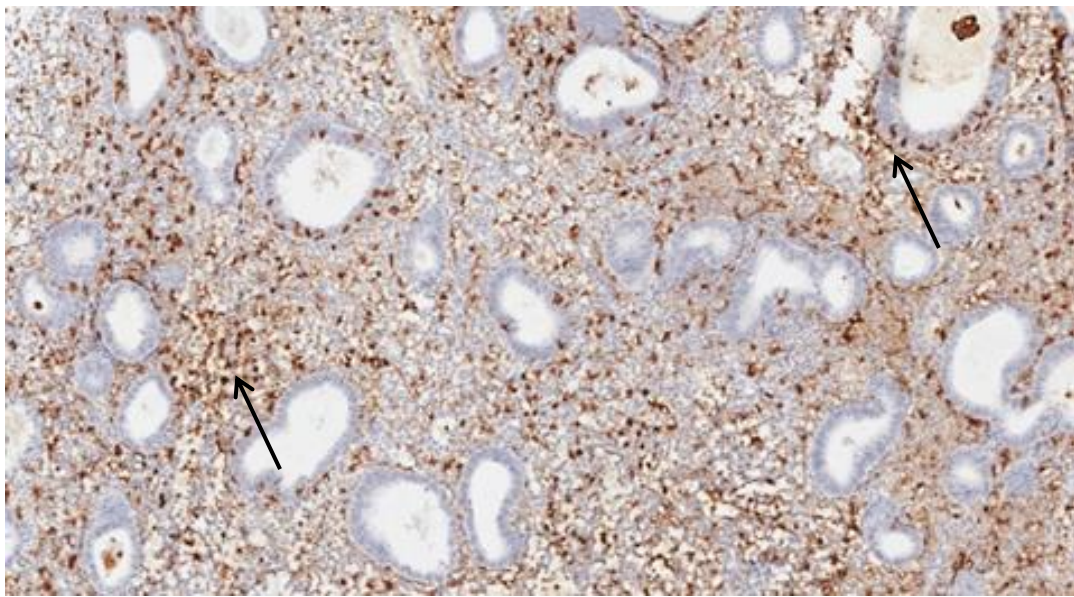


Рисунок 5.4. Фрагмент эндометрия женщины. Парафиновый срез. Экспрессия CD45 в тканях эндометрия при комплексной гиперплазии. ИГХ. Система визуализации EnVision FLEX+ . Ув. 100х. Выраженная экспрессия в строме и в основаниях желез (стрелки).

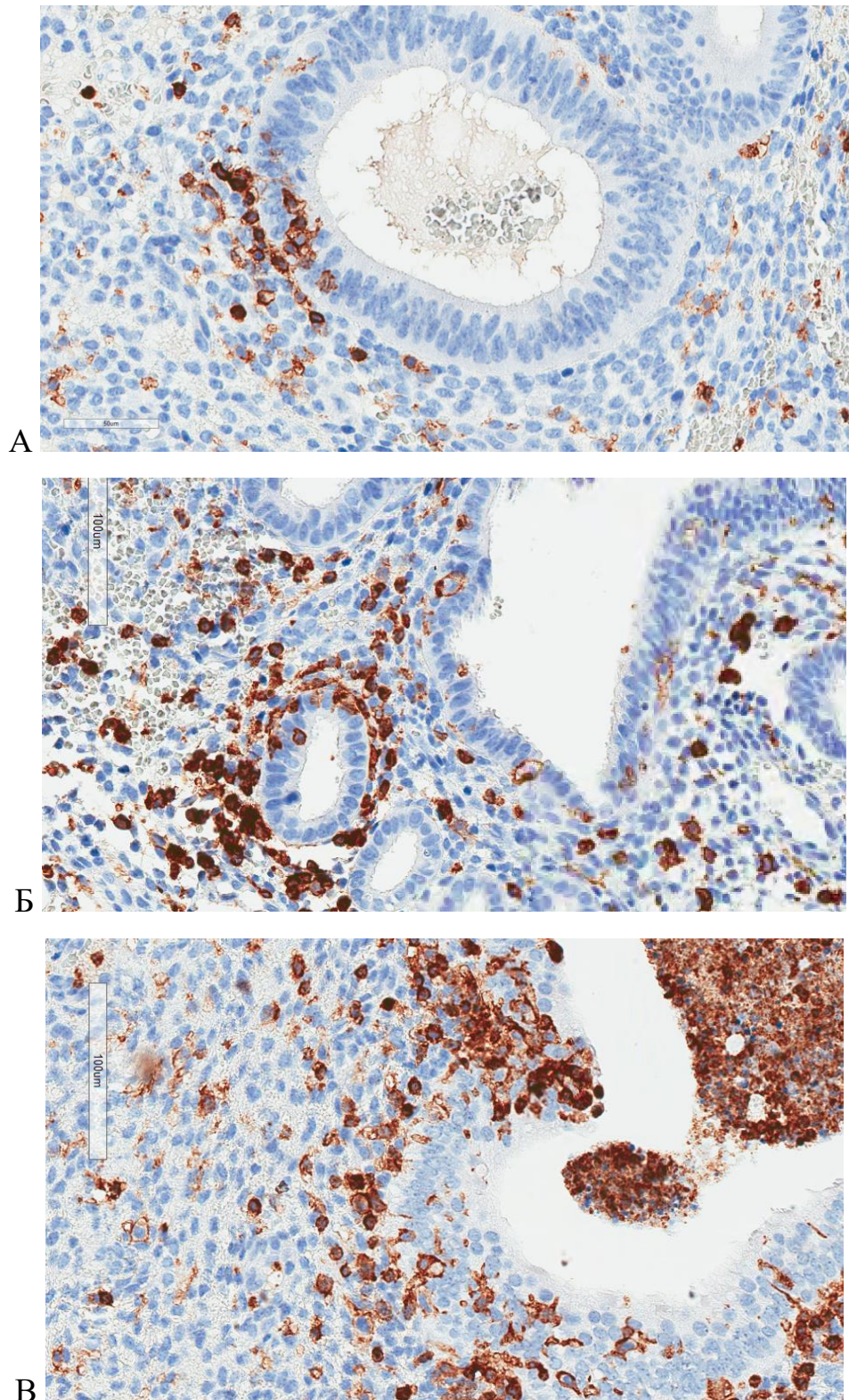


Рисунок 5.5. Фрагменты эндометрия женщины. Экспрессия CD45 в тканях эндометрия при простой (А), комплексной (Б) и комплексной с атипией (В) гиперплазиях эндометрия. Парафиновые срезы. ИГХ. Система визуализации En Vision FLEX+ . Ув. 400х. Нарастание экспрессии CD45 при прогрессировании гиперплазии.

Таким образом, существует четкая зависимость уровня экспрессии общего лейкоцитарного антигена, определяющего пул воспалительной инфильтрации в ткани эндометрия при различных вариантах гиперплазий, что представлено на рис. 5.6.

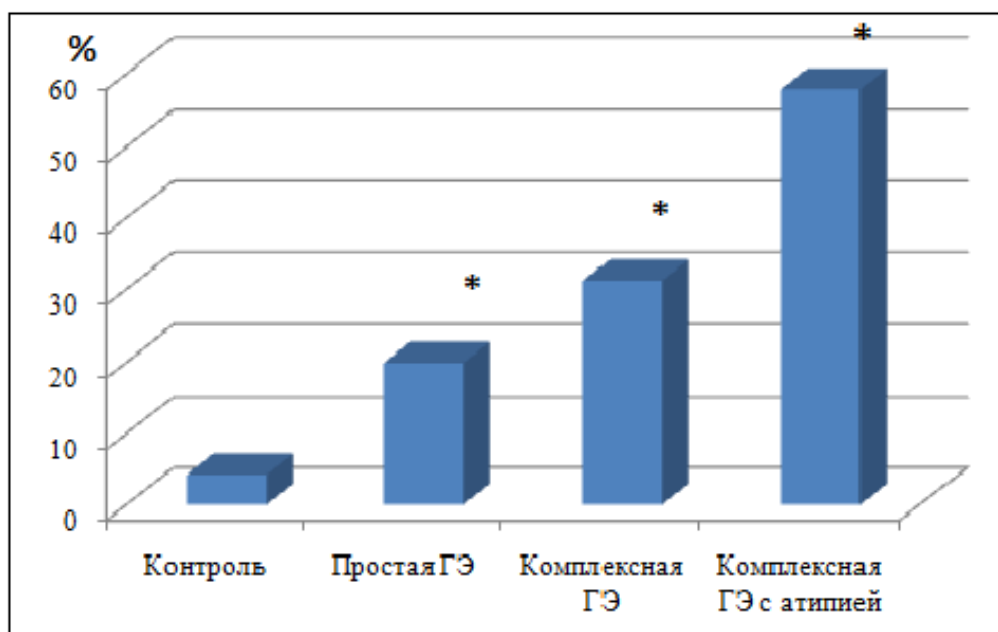


Рисунок 5.6. Уровень экспрессии рецепторов CD45 (%) в эндометрии с различными вариантами гиперплазий.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в развитии гиперплазии немаловажную роль играет воспалительная составляющая, что подтверждает ранее представленные данные о развитии дисбаланса в протеиназ ингибиторной системе с превалированием роста протеолитической активности и росте уровня провоспалительных цитокинов в маточных смывах. Наличие воспаления во многом объясняет патогенетические механизмы участия провоспалительных факторов в развитии патологических процессов в эндометрии и позволяет предполагать диагностическую ценность определения степени выраженности воспаления для понимания механизмов формирования гиперплазий и повышения качества диагностики патологии эндометрия.

Рост общего лейкоцитарного антигена свидетельствует о наличии воспалительного компонента в той или иной степени при гиперплазии любой формы. Мы попытались установить характер воспалительной реакции и выявить ряд специфических компонентов воспалительной реакции при различных формах ГЭ. Для этого в ткани эндометрия определяли популяцию натуральных киллеров (NK) CD 56, макрофагальный маркер CD 68 и популяцию натуральных Т-киллеров CD 8a (рис.5.7).

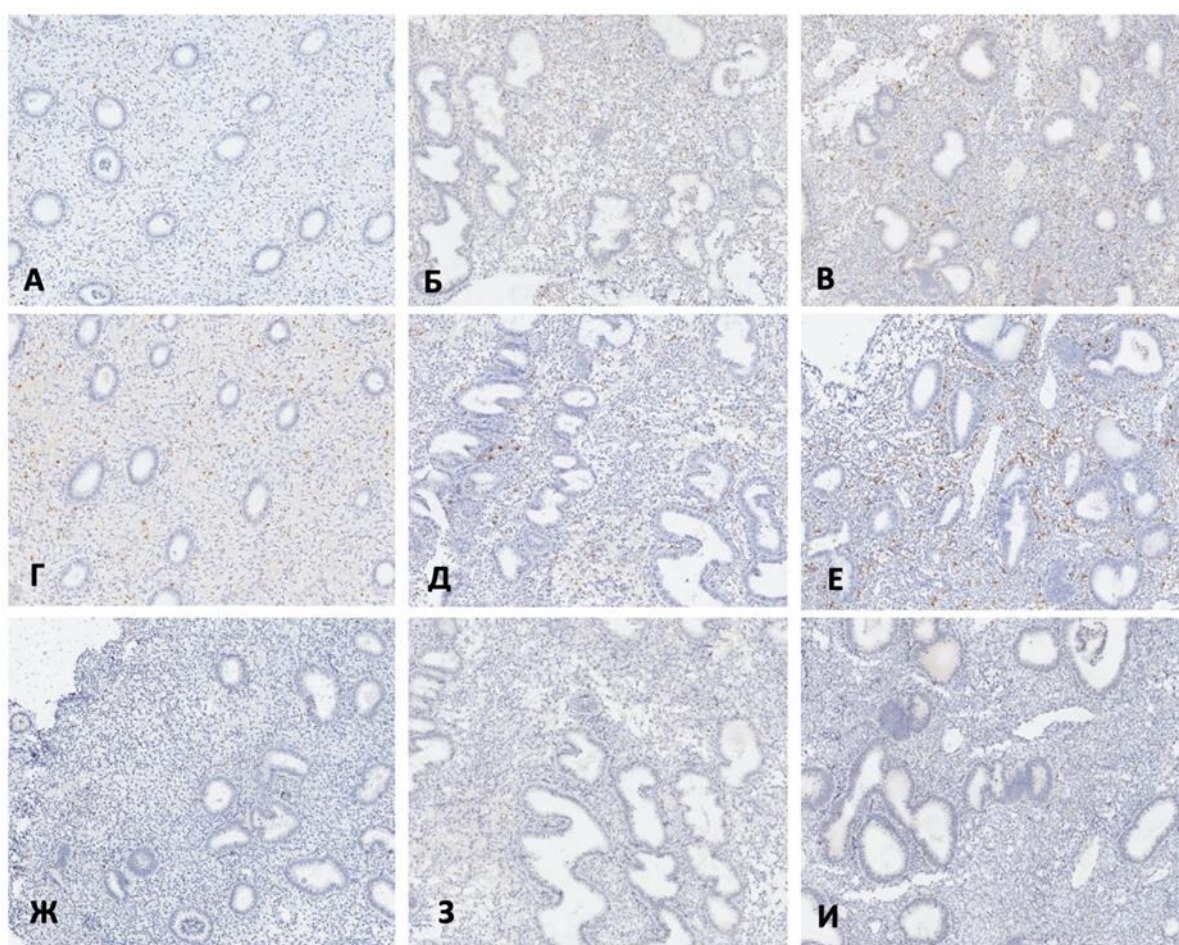


Рисунок 5.7. Фрагменты эндометрия женщины. Парафиновые срезы. Ув. 100х. Маркеры воспаления в ткани эндометрия. Иммуногистохимическая реакция с маркерами воспаления в эндометрии: CD68 (макрофаги) – А-В; CD56 (натуральные киллеры) – Г-Е и CD 8a (Т-киллеры) – Ж-И; визуализация в системе En vision. А, Г, Ж – контроль; Б, Д, З – гиперплазия без атипии (комплексная ГЭ); В, Е, И – атипическая ГЭ.

В проведенном исследовании не удалось обнаружить существенных изменений содержания в эндометрии натуральных киллеров CD56, макрофагального маркера CD68 и популяции CD8a лимфоцитов при сравнении ГЭ без атипии и с атипией. Таким образом, можно сделать вывод, что воспалительные изменения в эндометрии скорее всего носят неспецифический характер и в большей степени зависят от инфильтрации тканей эндометрия нейтрофилами. В единичных препаратах был обнаружен высокий уровень инфильтрации эндометрия CD56 NK-клетками и другими субпопуляциями лимфоцитов и плазмоцитов (рис. 5.8).

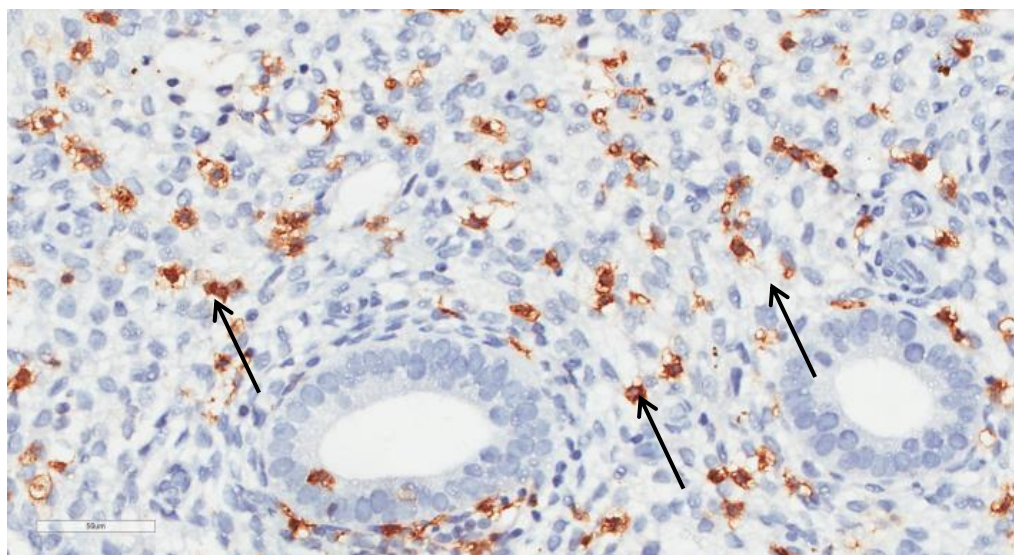


Рисунок 5.8. Фрагмент эндометрия женщины. Парафиновый срез. ИГХ реакция с антителом к CD-56. Ув. 400х, визуализация в системе En vision. Комплексная гиперплазия эндометрия без атипии. Эндометрий обильно инфильтрирован CD 56+ NK-клетками (30,1 %) (стрелки).

На фоне изменений маркеров воспаления в эндометрии женщин с различными типами гиперплазий проведены ИГХ реакции для *оценки изменений маркеров апоптоза с антителами к bcl-2 и CD95* (рис.5.9).

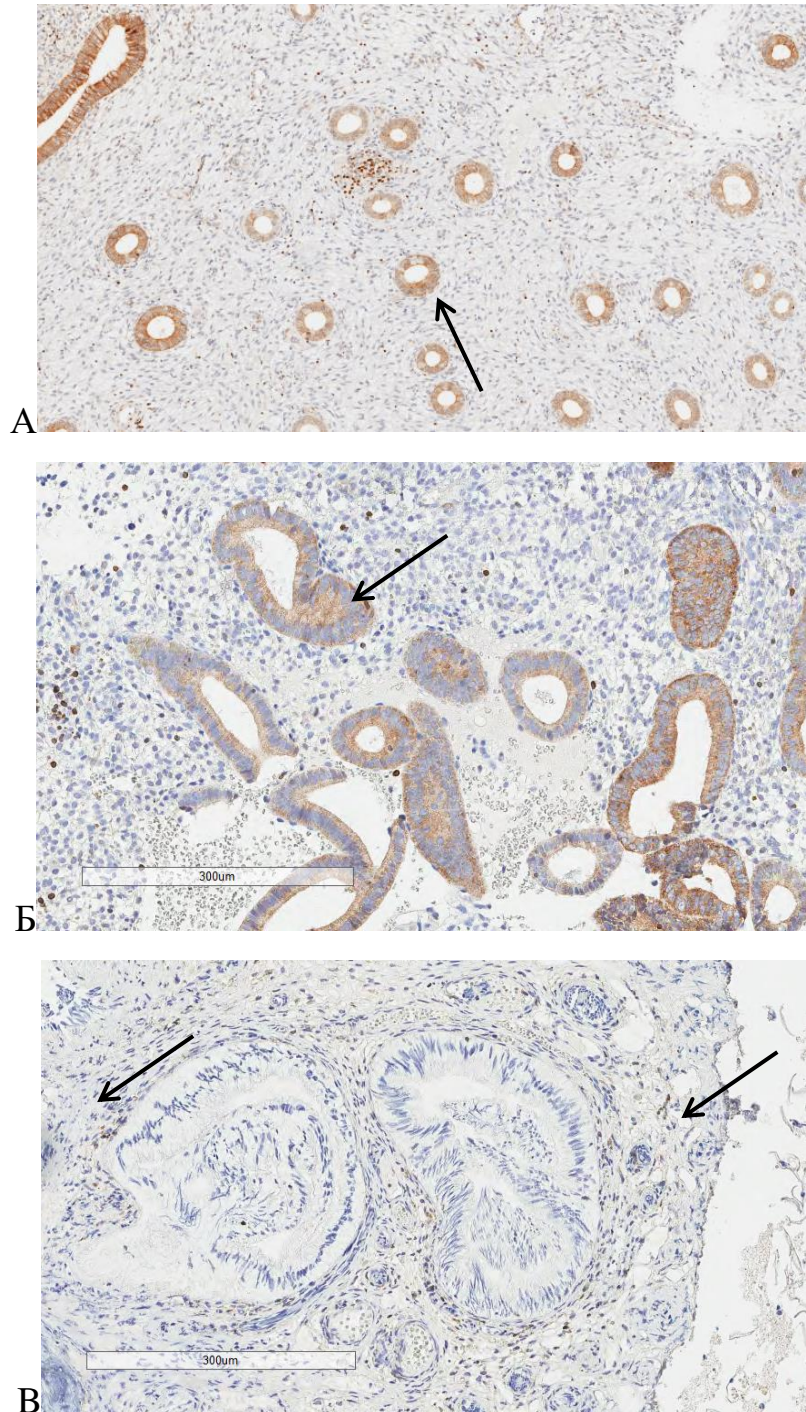


Рисунок 5.9. Фрагменты эндометрия женщины. Парафиновые срезы. ИГХ реакция с антителом к bcl-2, регулятор апоптоза, визуализация в системе Bond Polymer Refine Detection System. А. Контроль, ув. 100х. Интенсивная реакция в железах (стрелки) (3+) и слабая – в строме (1+). Б. Гиперплазия эндометрия без атипии, ув. 100х. Слабое цитоплазматическое окрашивание низкой интенсивности в клетках железистого эпителия (стрелки), единичное интенсивное ядерное окрашивание менее 25% клеток стромы (1+/0). В. Гиперплазия эндометрия с атипией., ув. 100х. Отсутствие окрашивания в клетках железистого эпителия, единичное окрашивание клеток стромы (стрелки).

Исследование маркера bcl-2 показало, что реакция окрашивания, как правило, достаточно интенсивна, однако в ряде случаев при комплексной гиперплазии встречается слабое окрашивание, что свидетельствует о снижении готовности клеток к апоптозу в эндометриальной ткани (рис. 5.9).

Более показательным в нашей работе проявил себя маркер апоптоза CD95, интенсивность экспрессии которого снижается при комплексной гиперплазии и, особенно, при появлении атипии. При этом в контрольной группе, а также при простой гиперплазии, интенсивность его реакции высокая.

Как показали проведенные исследования, в нормальной эндометрии выявляется интенсивная реакция в железах и в строме (3+)(рис. 5.10). При простой гиперплазии интенсивная реакция в железах (3+) и в строме (3+) сохранялась (рис. 5.11). При комплексной гиперплазии в абсолютном большинстве препаратов выявляется слабое цитоплазматическое окрашивание низкой интенсивности в клетках железистого эпителия и единичное интенсивное ядерное окрашивание менее 25% клеток стромы (1+/0).

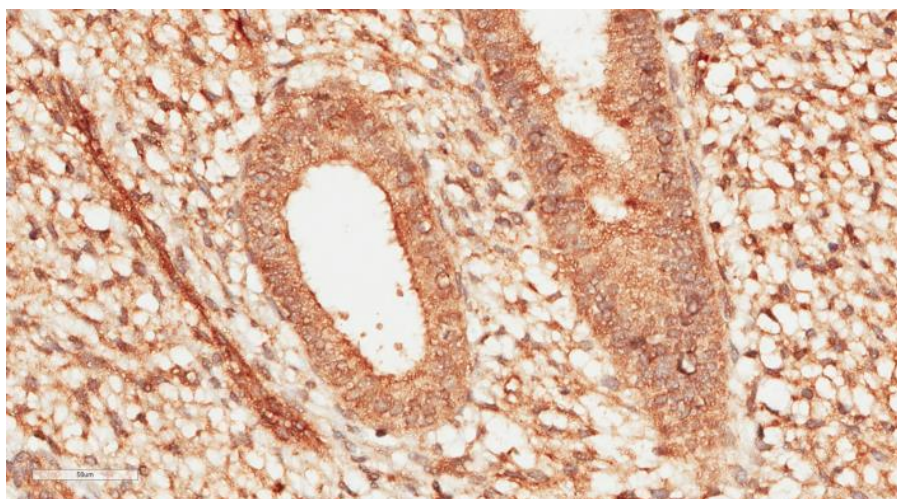


Рисунок 5.10. Фрагмент эндометрия женщины без гиперплазии. Парафиновый срез. Ув. 400х. ИГХ реакция с маркером апоптоза CD-95, визуализация в системе Bond Polymer Refine Detection System. Интенсивная реакция в железах (3+) и в строме (3+).

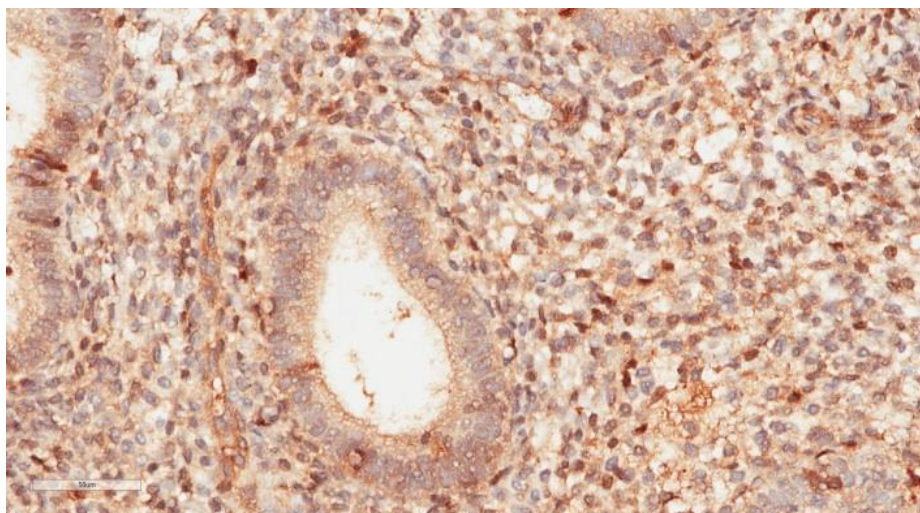


Рисунок 5.11. Фрагмент эндометрия женщины с простой гиперплазией. Парафиновый срез. Ув. 400х. ИГХ реакция с маркером апоптоза CD-95, визуализация в системе Bond Polymer Refine Detection System. Интенсивная реакция в железах (3+) и в строме (3+).

При атипичической ГЭ и РЭ начинает выявляться слабое низкоинтенсивное окрашивание клеток железистого эпителия и более интенсивное стромы (2+) (рис. 5.12).

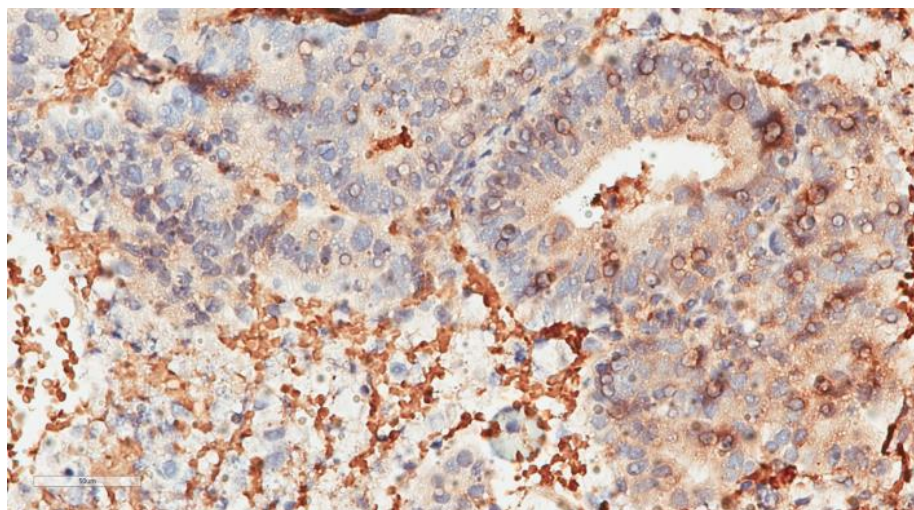


Рисунок 5.12. Фрагмент эндометрия женщины при аденокарциноме. Парафиновый срез. Ув. 400х. ИГХ реакция с маркером апоптоза CD-95, визуализация в системе Bond Polymer Refine Detection System. Слабое низкоинтенсивное окрашивание более 75% клеток железистого эпителия и более интенсивное стромы (1+/2+).

Кроме факторов апоптоза при ИГХ исследованиях определялась динамика *цитоплазматической экспрессии фактора роста сосудов VEGF* (рис. 5.13-5.16). Как показало проведенное исследование, в нормальной эндометрии выявляется слабое окрашивание части железистых клеток и очень слабое окрашивание стромальных клеток. При простой гиперплазии характерно отсутствие окрашивания железистых клеток и слабое очаговое окрашивание клеток стромы. При комплексной гиперплазии без атипии окрашивание маркера роста сосудов VEGF нарастает. Выявляется неравномерная окраска средней интенсивности более 75% железистых клеток, а клетки стромы окрашены слабо-интенсивно с очагами резко положительного окрашивания.

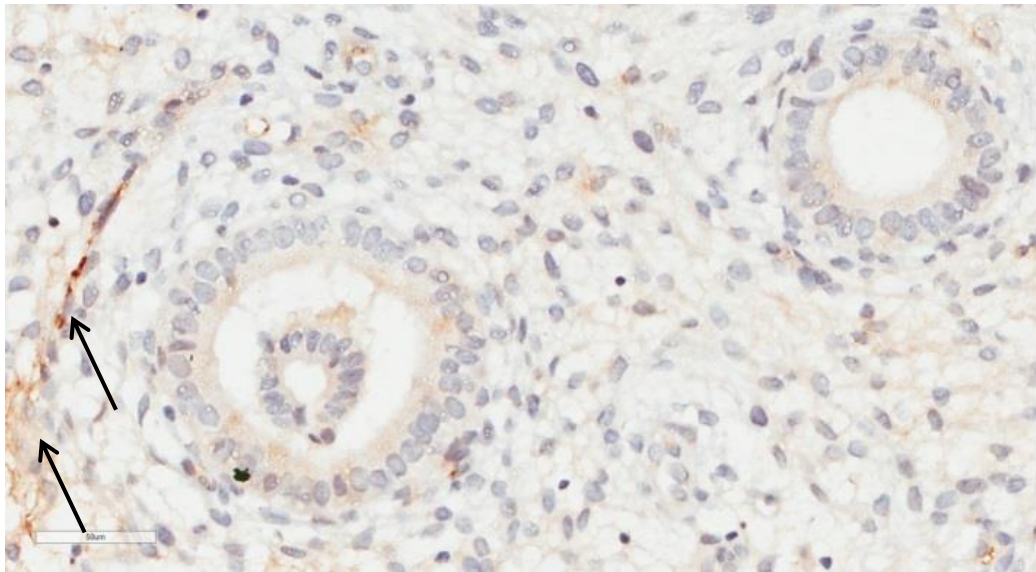


Рисунок 5.13. Фрагмент нормального эндометрия женщины. Парафиновый срез. Ув. 400х. ИГХ реакция с маркером роста сосудов VEGF, визуализация в системе Bond Polymer Refine Detection System. Метка локализуется в эндотелии и строме (стрелки). Слабое окрашивание 25-50 % железистых клеток, очень слабое окрашивание менее 25% стромальных клеток (1+/0).

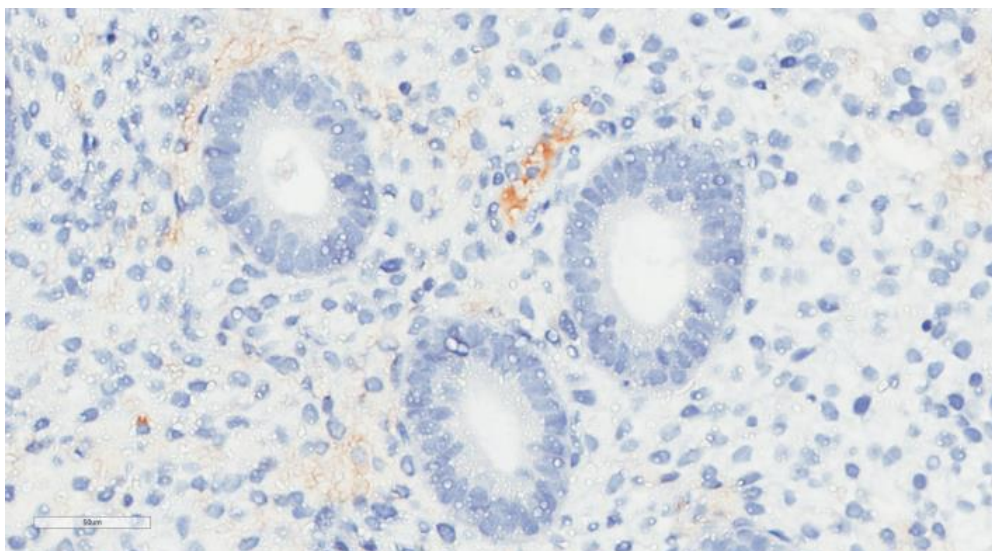


Рисунок 5.14. Фрагмент эндометрия женщины при простой гиперплазии. Парафиновый срез. Ув. 400х. ИГХ реакция с маркером роста сосудов VEGF, визуализация в системе Bond Polymer Refine Detection System. Отсутствие окрашивания железистых клеток, слабое очаговое окрашивание клеток стромы менее 25% площади. (0/0).

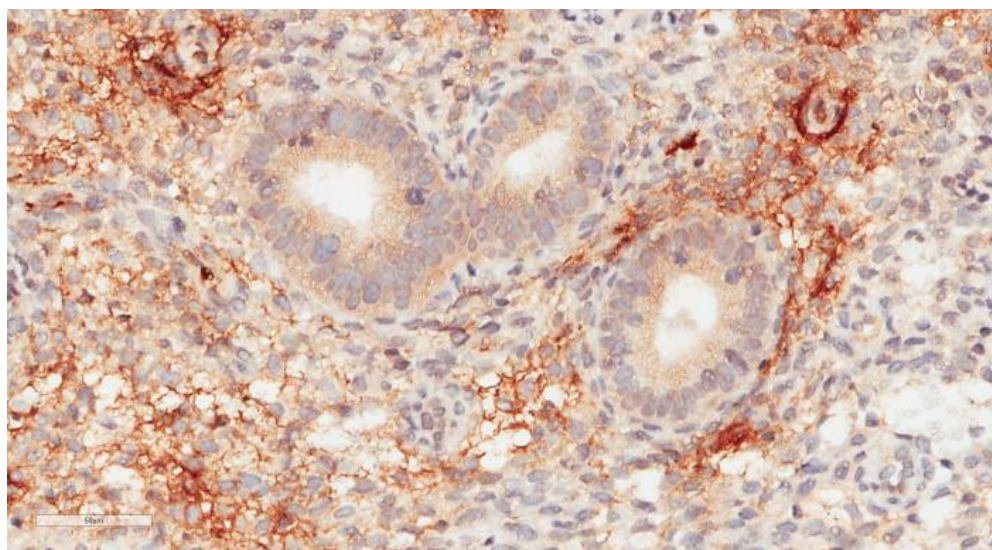


Рисунок 5.15. Фрагмент эндометрия женщины с комплексной гиперплазией без атипии. Парафиновый срез. Ув. 400х. ИГХ реакция с маркером роста сосудов VEGF, визуализация в системе Bond Polymer Refine Detection System. Неравномерная окраска. В части препарата железы имеют окраску средней интенсивности более 75% клеток, клетки стромы окрашены слабо-интенсивно с очагами резко положительного окрашивания (2-3+/2-3+).

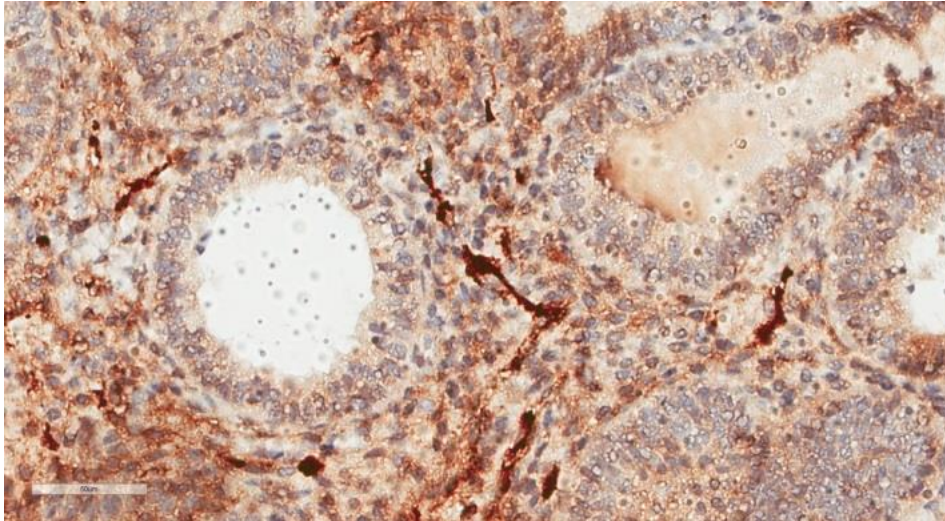


Рисунок 5.16 Фрагмент эндометрия женщины с атипической гиперплазией. Парафиновый срез. Ув. 400х. ИГХ реакция с маркером VEGF, визуализация Bond Polymer Refine Detection System. Среднеинтенсивное окрашивание более 75% железистых клеток, сильно-интенсивное цитоплазматическое окрашивание более 2/3 стромальных клеток. (3+/3+).

Полученные результаты свидетельствуют, что по мере формирования более тяжелой формы гиперплазии уровень маркера роста сосудов VEGF увеличивается.

Таким образом, в результате проведенного исследования по оценке ИГХ маркеров воспаления и апоптоза показано превалирование неспецифической воспалительной реакции с усилением экспрессии общего лейкоцитарного антигена (CD45), наиболее выраженного при атипической гиперплазии, на фоне отсутствия явных изменений в популяции натуральных киллеров (CD 56), фагоцитарной активности тканевых макрофагов (CD 68) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD 8a). Усиление неспецифического воспаления подтверждалось ранее показанной активацией провоспалительных цитокинов в маточных смывах и усилением протеолитической активности (трипсино- и эластазоподобной активности) на фоне снижения ингибиторного потенциала (АТА и, особенно, КСИ). Рост воспалительной реакции в эндометрии при атипической гиперплазии сопровождался понижением экспрессии CD95, что свидетельствует о параллельном снижении готовности

клеток эндометрия к апоптозу. Еще одной характерной особенностью изменений в тканях эндометрия при различных формах гиперплазий является активация фактора роста сосудов VEGF при более тяжелых формах гиперплазий, наиболее выраженного при атипической гиперплазии эндометрия. Рост неспецифического воспаления, снижение ткани эндометрия к готовности к апоптозу и активация фактора роста сосудов VEGF могут быть факторами, способствующими формированию эндометриальной аденокарциномы.

ГЛАВА 6. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ЭНДОМЕТРИЯ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ВОСПАЛЕНИЯ И СОСТОЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО ФОНА

Лечение ГЭ, особенно тяжелых форм, включающих комплексные ГЭ, остается сложной клинической проблемой. Основным направлением в терапии гиперплазий является назначение гормональных препаратов с целью нормализации эндокринного статуса женщины и морфологической структуры эндометрия. В соответствии с действующими на настоящий момент клиническими рекомендациями лечения ГЭ [26] гормональную терапию рекомендуется проводить в 2 этапа с включением 4 групп препаратов. Первый этап гормональной терапии направлен на супрессию эндометрия. Продолжительность данного этапа гормональной терапии - 6 месяцев с повторным гистологическим исследованием через 3 и 6 месяцев. Причем гормонотерапия проводится у всех женщин репродуктивного возраста, а в пери- и постменопаузе - только при нетипичных формах ГЭ. Препаратами выбора на первом этапе являются гестагены и агонисты Гн-РГ. Об эффективности проводимой терапии судят по характеру изменений эндометрия при контрольном гистологическом исследовании.

Второй этап гормональной терапии в первую очередь направлен на профилактику развития гиперэстрогемии. Препаратами выбора на этом этапе являются гормональные контрацептивы с гестагеном, имеющим выраженный антипролиферативный эффект на эндометрий (монофазные эстроген-гестагенные препараты) или локальное использование гестагенов (внутриматочная система с левоноргестрелом). Критериями эффективности в данном случае в репродуктивном возрасте является восстановление двухфазного менструального цикла при условии необходимости сохранения репродуктивной функции. Причем, параллельно с гормонотерапией, по клиническим показаниям, проводится коррекция обменно-эндокринных

нарушений, нормализация состояния центральной и вегетативной нервных систем, коррекция иммунного статуса.

Следует отметить, что в практике практического врача при применении гормональной терапии при ГЭ, и особенно при лечении тяжелых форм комплексных гиперплазий, возникает много вопросов. До конца неясно, при каких видах гиперплазий более целесообразно назначать те или иные препараты, в каких оптимальных сочетаниях можно их использовать, что может служить объективным критерием эффективности проводимой терапии, насколько изменения гормонального фона и рецепции эндометрия отражают нормализацию гормонального статуса пациенток. Кроме того, в нашем исследовании показано, что воспаление играет важную роль в развитии ГЭ, однако возможности применения противовоспалительной терапии при ГЭ практически не изучались и в связи с этим противовоспалительная терапия не описывается в протоколах лечения.

В нашем исследовании мы предприняли попытку провести оценку эффективности применения различных гормональных препаратов при лечении комплексной ГЭ у 43 женщин на основании оценки изменений локального уровня гормонов, а также провоспалительных цитокинов и клеточных протеиназ, характеризующих степень воспалительных изменений в эндометрии при ГЭ. Согласно протокола у 10 пациенток проведен курс лечения с использованием гестагенов в непрерывном режиме, у 10 пациенток применяли агонисты гонадотропинрилизинг гормона (аГн-РГ), у 11 пациенток лечение проведено с использованием комбинированных оральных контрацептивов (КОК), у 12 пациенток использовали внутриматочную систему с левоноргестрелом (ВСЛ).

Проведенные исследования показали, что по отношению к изученным показателям у женщин с комплексными ГЭ до проведения лечения, все виды гормональной коррекции сопровождались положительной динамикой практически всех показателей. Результаты лечения проявлялись тенденцией к нормализации уровня местных эстрадиола и прогестерона (рис. 6.1).

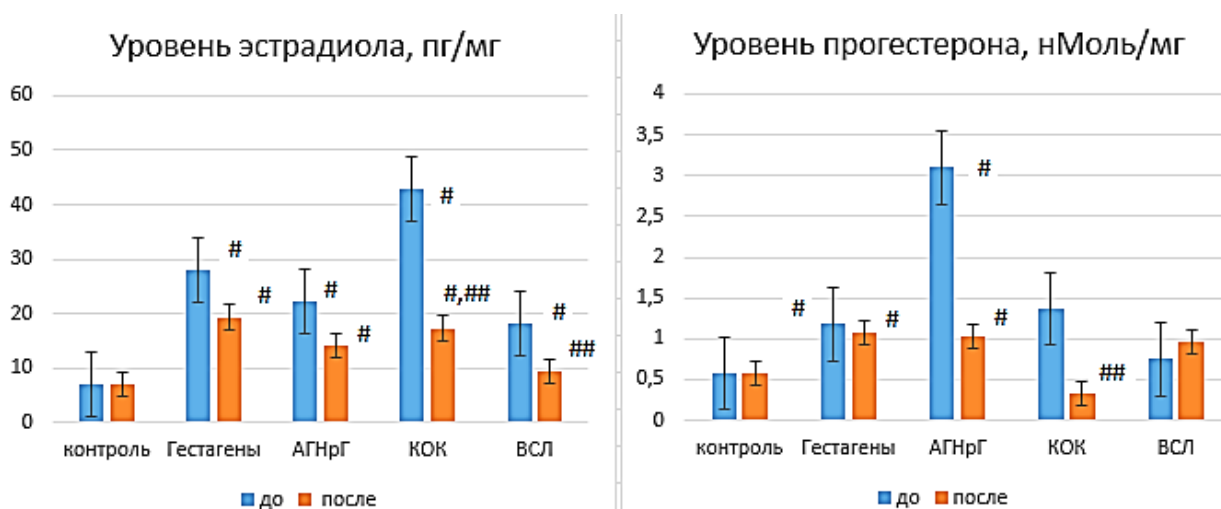


Рисунок 6.1. Влияние различных методов лечения комплексной гиперплазии эндометрия на уровень эстрадиола и прогестерона в маточных смывах пациенток. Достоверности различий ($p < 0,05$) по отношению к контролю - #; по отношению к группе до лечения - ##.

Наиболее оптимальный эффект в отношении нормализации уровня эстрогенов и прогестерона установлен при применении ВСЛ. В этой группе снижение уровня эстрогенов произошло в 2 раза и отличие показателя стало достоверным по отношению к результатам до лечения. В этой же группе уровень прогестерона практически не изменился и стал даже несколько выше. При этом соотношение эстрогенов и прогестерона практически стало соответствовать относительной норме даже с некоторым превалированием прогестерона.

На фоне указанных изменений в уровне локальных гормонов изменения в состоянии цитокинов и компонентов протеиназ-ингибиторной системы указывают на уменьшение воспалительных изменений в эндометрии при всех видах гормональной терапии. Однако степень изменений имела существенные отличия. В состоянии неспецифических протеиназ отмечено снижение как эластазоподобной, так и трипсиноподобной активности (рис. 6.2).

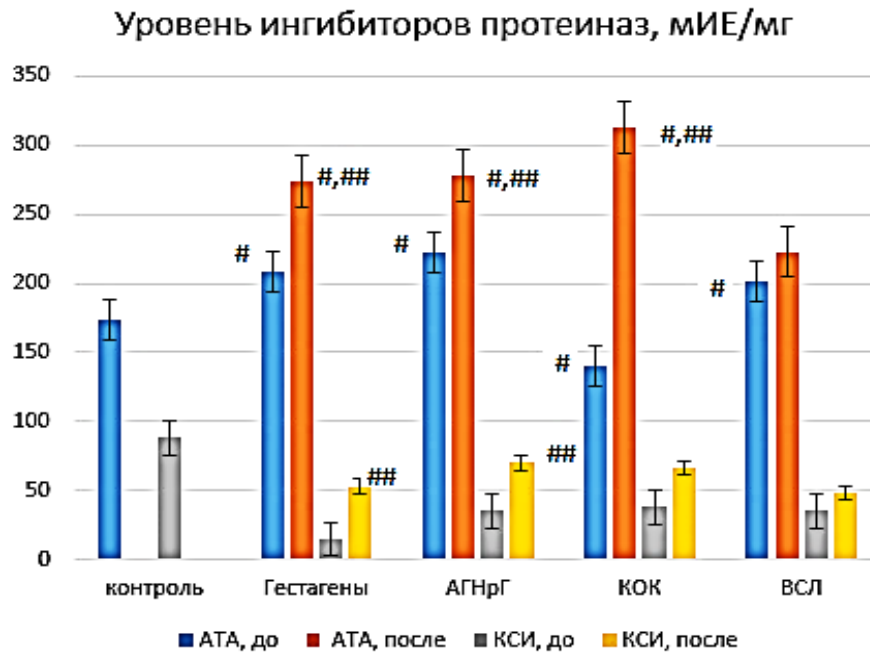
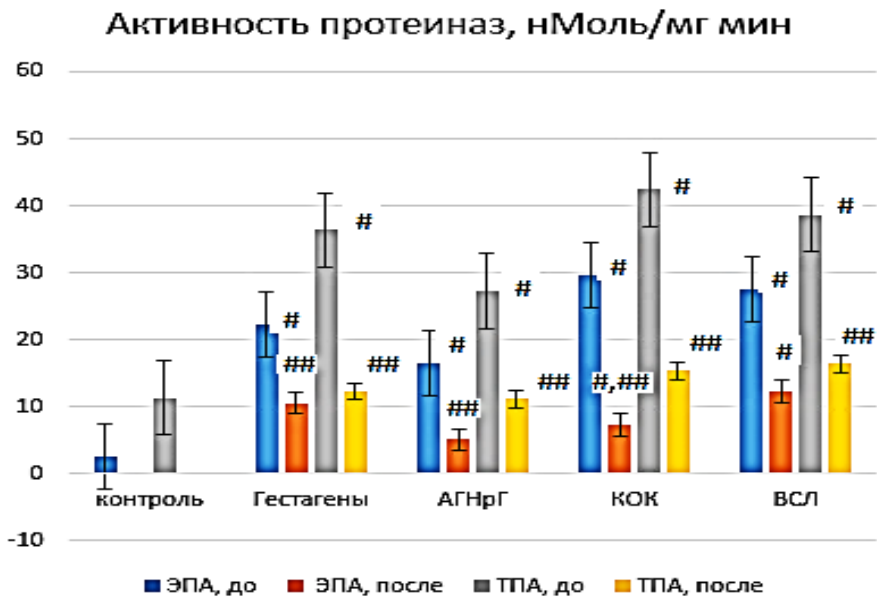


Рисунок 6.2. Влияние различных методов лечения комплексной гиперплазии эндометрия на активность протеиназ и уровень ингибиторов протеиназ в маточных смывах пациенток. Достоверности различий ($p < 0,05$) по отношению к контролю - #; по отношению к группе до лечения - ##.

Наиболее существенное снижение активности протеиназ было отмечено в группах с лечением агонистами и комбинированными оральными

контрацептивами. В этих группах эластазоподобная активность снизилась в 3,2 и в 4,1 раза, а трипсиноподобная активность в 2,4 и 2,8 раза соответственно. В этих же группах результаты после лечения наиболее существенно приближаются к результатам контрольной группы и теряют достоверность различий. Менее существенное снижение эластазоподобной активности и трипсиноподобной активности было выявлено на фоне лечения гестагенами и при использовании ВСЛ.

На фоне снижения активности неспецифических протеиназ при проведении лечения отмечен характерный рост уровня ингибиторов протеиназ. Причем параллельно отмечено увеличение как общей АТА, так и местносекретируемых КСИ. Максимальный рост выявлен при применении агонистов и КОК, причем в обеих группах рост АТА был достоверным по отношению к результатам до лечения. В группе с агонистами ГнРГ рост АТА составил 25%, а КСИ увеличились в 2 раза по сравнению с группой без лечения. На фоне лечения КОК рост АТА отмечен в 2 раза, а КСИ увеличились на 74%.

На фоне лечения гестагенами рост АТА и КСИ был также достоверным по отношению к результатам до лечения, но результаты менее выражено отличались от группы контроля. Минимально увеличение активности ингибиторов было установлено в группе с ВМС, в которой АТА увеличилась всего на 11%, а рост КСИ составил 37 % и изменение обоих показателей не было достоверным.

Изучение изменения внутриматочных цитокинов на фоне различных методов гормональной терапии показало, что наиболее выраженный эффект нормализации их уровня отмечен в группах с применением агонистов Гн-РГ и КОК (рис. 6.3).

При лечении агонистами выявлено достоверное снижение уровня ИЛ-1 β по сравнению с результатами до лечения в 11 раз, ИЛ-6 снизился в 7 раз, а TNF- α – в 3,9 раза. Примерно аналогичная степень нормализации показателей отмечена при применении терапии с использованием КОК. В этой группе

обследованных ИЛ-1 β снизился в 4,5 раза, ИЛ-6 – почти в 2 раза, а TNF- α – в 3,6 раз. Причем во всех группах степень снижения была достоверна по отношению к результатам до лечения, а результаты показателей после лечения максимально приближались к значениям показателей контрольной группы. Фактически можно говорить о максимальной нормализации уровня показателей у большинства больных.

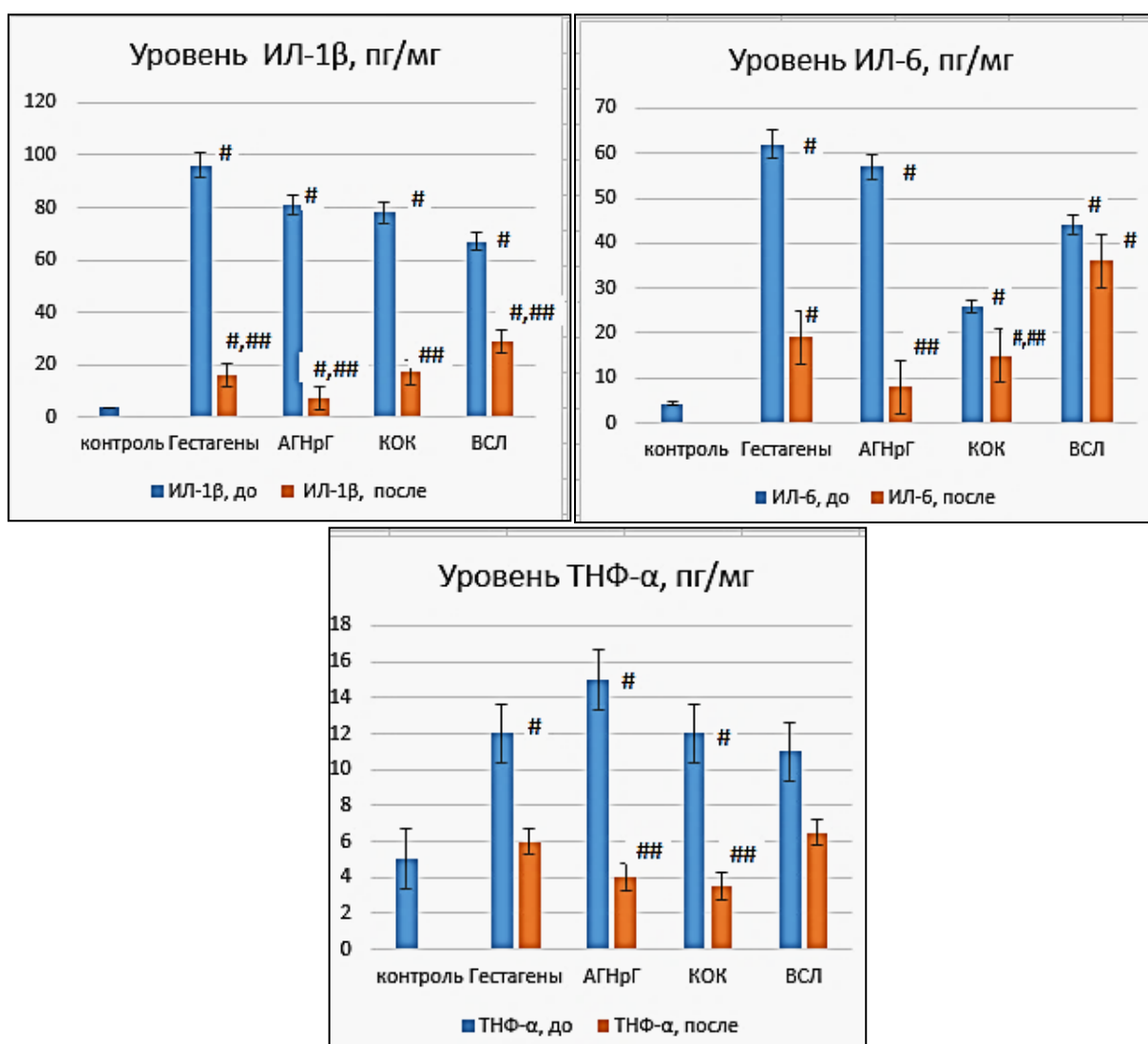


Рисунок 6.3. Влияние различных методов лечения комплексной гиперплазии эндометрия на уровень провоспалительных цитокинов в маточных смывах пациенток. Достоверности различий ($p < 0,05$) по отношению к контролю - #; по отношению к группе до лечения - ##.

Достаточно интенсивное снижение отмечено в группе с применением гестагенов. В данной группе больных зафиксировано снижение уровня ИЛ-1 β в 6 раз, ИЛ-6 был ниже, чем до лечения в 3,3 раза, а TNF- α – в 2 раза. Эффект нормализации уровня цитокинов, хотя и в меньшей степени, отмечен в группе с применением ВСЛ, в которой ИЛ-1 β снизился в 2,3 раза, ИЛ-6 – на 23%, а TNF- α – менее чем в 2 раза. Причем в уровне ИЛ-1 β и ИЛ-6 после проведенного лечения определялись наиболее высокие значения и сохранялось их достоверное отличие по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, динамика выявленных изменений при проведенной терапии в уровне локальных гормонов, провоспалительных цитокинов, неспецифических протеиназ и их ингибиторов позволяют заключить, что степень данных изменений можно использовать в качестве критериев эффективности проводимой терапии. Причем следует подчеркнуть, что динамика изменений специфических показателей коррелировала с клинической и морфологической оценкой эффективности лечения. Полученные результаты позволяют прийти к выводу, что наиболее выраженный эффект наблюдался при применении КОК и АГнРГ, в наименьшей степени маркеры воспаления нормализовались при применении ВСЛ. Таким образом, судя по подавлению воспалительной реакции в тканях эндометрия и учитывая параметры нормализации локального гормонального фона можно заключить, что при лечении тяжелых форм ГЭ на первом этапе наиболее целесообразно использовать агонисты ГнРГ, а на втором этапе комбинированные контрацептивные препараты. По всей видимости, степень воспалительных изменений в эндометрии можно рекомендовать в качестве критерия оценки эффективности лечения гиперпластических процессов эндометрия.

В соответствии с действующими рекомендациями оценку эффективности лечения оценивали через 3-6 месяцев по морфологическим изменениям эндометрия и через 12 месяцев на предмет формирования рецидивов развития гиперплазии. Морфологическая картина полученного

материала через 3 месяца от начала лечения у 18 (50%) пациенток при лечении гестагенами и у 37 (88%) пациенток при применении агонистов ГнРГ соответствовала атрофии эндометрия. У остальных пациенток отмечалось функциональное состояние эндометрия. Причем при первом варианте лечения при гистологическом исследовании через 3 месяца у 8 женщин отмечались изменения эндометрия, соответствующие фазе пролиферации, и у 8 женщин - фазе секреции. У 2 пациенток не отмечено реакции эндометрия на проведенное лечение. Таким образом, эффект лечения составил 94,4%. В группе с лечением агонистами фаза пролиферации эндометрия выявлена у 2 пациенток, фаза секреции также у 2 пациенток. У 1 пациентки эффект лечения не установлен, но прогрессирования процесса не наблюдалось и патоморфологический диагноз при контрольном исследовании через 3 месяца соответствовал исходному. Эффект лечения во второй группе составил соответственно 97,6%.

Клинико-морфологический анализ лечения пациенток через 12 месяцев показал, что в группе с применением гестагенов у 12 женщин (33,3%) выявлены гистологические признаки рецидивирования комплексной ГЭ. Причем рецидивы отмечены у 8 женщин, у которых через 3 месяца отмечалось функциональное состояние эндометрия, и у 4 женщин с атрофическим эндометрием. В группе с применением агонистов ГнРГ с последующим переходом на КОК через 12 месяцев морфологические признаки рецидивирования отмечены у 5 женщин (11,9 %), причем у 4 из которых эндометрий через 3 месяца лечения соответствовал функциональному состоянию эндометрия, и только у 1 пациентки ранее отмечалась атрофия эндометрия.

Таким образом, результаты сопоставления оценки эффективности лечения женщин с комплексной ГЭ по изменению локальных маркеров воспалительного процесса, гистологического анализа эндометрия через 3 месяца проведенной терапии и риска развития рецидивов гиперплазии показали, что в группах, в которых при проведении терапии максимально

выражено снижение воспалительных изменений в эндометрии отмечено достоверное на 21,4 % ($\chi^2 = 4,44$, $p = 0,0444$) снижение развития рецидивов гиперплазии.

ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная концепция формирования ГЭ основана на ведущей роли избыточной эстрогенной стимуляции эндометрия в сочетании с недостаточностью прогестеронового влияния. Однако, по мнению ряда авторов, «развитие гиперпластических процессов в эндометрии связано с включением других патогенетических механизмов, лежащих в основе патогенеза данной патологии» [1,19,20]. В связи с этим возрастает интерес исследователей к изучению разнообразных молекулярных механизмов, которые могут быть вовлечены в патогенез ГЭ. Среди множества «факторов, которые могут быть триггерами гиперпластических процессов, особое внимание привлекают механизмы, связанные с развитием воспалительных изменений эндометрия» [20]. Описано «генотоксическое и мутагенное действие продуктов свободнорадикального окисления тканей, образующихся в зоне воспаления» [21,22]. Показана роль пироптоза [24] и аутофагии [25] в развитии ГЭ. Кроме того, при «гиперплазии эндометрия и в большей степени при раке эндометрия происходит локальное накопление провоспалительных цитокинов (TGF- β , TNF- α , IL-6) с развитием дисбаланса» [29].

Второй по важности вопрос, который напрямую связан с патогенетическими особенностями формирования ГЭ, касается совершенствования подходов к лечению данной патологии. Основа лечения гиперпластических процессов построена на применении гормональной терапии. Однако многие вопросы оптимального сочетания применяемых препаратов, прогнозирования эффекта лечения и критериев оценки его эффективности, особенно при тяжелых формах комплексных ГЭ, остаются дискуссионными и до конца не разработанными [20,239].

В проведенном исследовании внимание было сосредоточено на изучении роли воспалительных изменений в эндометрии при его гиперплазии, сопоставление данных изменений с изменениями в первую очередь локального гормонального статуса пациенток, и оценки полученных

результатов с точки зрения возможности их использования для оценки эффективности гормонального лечения комплексных неатипических ГЭ.

Таким образом, цель проведенного исследования состояла в установлении роли воспалительных изменений и выявления характера изменений маркеров апоптоза при развитии различных форм гиперплазии эндометрия.

Проведенный в процессе выполнения работы анализ гормонального статуса пациенток позволил установить, что в контрольной группе женщин в первой фазе цикла отмечалась выраженная экспрессия эстрадиола (H-score в строме $203,3 \pm 3,5$; в железах $208,1 \pm 3,1$) и слабая экспрессия прогестерона (H-score в строме $79,8 \pm 9,1$; в железах $98,5 \pm 9,5$). Во второй фазе цикла наблюдалась обратно-пропорциональная зависимость: слабый уровень экспрессии эстрадиола (H-score в строме $77,8 \pm 11,6$; в железах $96,5 \pm 9,5$) и выраженный уровень экспрессии прогестерона с преобладанием в строме соответственно оценке H-score $209,8 \pm 11,6$, что согласуется с исследованиями других авторов [240].

Изучение экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в строме и железистой ткани эндометрия, а также уровня эстрогенов и прогестерона в маточных смывах у женщин показало, что при простой гиперплазии эндометрия без атипии экспрессия рецепторов к эстрогенам увеличивалась преимущественно в железах эндометрия. При комплексной гиперплазии эндометрия преобладание экспрессии эстрогеновых рецепторов отмечено только во вторую фазу менструального цикла (H-score $96,3 \pm 7,4$), что свидетельствует о нивелировании разницы в экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону в тканях эндометрия. При комплексной гиперплазии с атипией в строме эндометрия отмечено достоверное снижение экспрессии как рецепторов эстрогенов (H-score $38,6 \pm 5,2$), так и рецепторов прогестерона (H-score $28,6 \pm 12,3$). При этом в железистой ткани эндометрия отмечается увеличение экспрессии рецепторов прогестерона с выраженной степенью экспрессии.

В процессе проведенных исследований не выявлена тесная корреляционная связь между содержанием гормонов в крови и маточных смывах. При совпадающих тенденциях и направленности сдвигов половых гормонов в крови и полости матки на локальном уровне роль относительной гиперэстрогении проявляется более интенсивно. У женщин с простой ГЭ уровень эстрогенов в крови достигал достоверно повышенных значений только в 1 фазу менструального цикла. При комплексной ГЭ уровень эстрогенов достоверно повышался в обе фазы цикла. Повышенный уровень эстрогенов сохранялся и при комплексной атипической гиперплазии. Прогестерон в крови при этом или оставался на уровне контроля в 1 фазу цикла, или достоверно снижался при комплексной ГЭ во II фазу цикла. При комплексной атипической ГЭ показатель соответствовал уровню показателя у женщин с простой и с комплексной ГЭ.

В маточных смывах изменения эстрогенов и прогестерона носило более специфичный характер. При простой гиперплазии происходило трехкратное увеличение эстрогенов в первую фазу цикла, и увеличение в пять раз ($p < 0,001$) во вторую фазу. При комплексной гиперплазии и атипической гиперплазии разница в уровне эстрогенов в разные фазы цикла выравнивалась, превышая в среднем соответствующие показатели контроля в четыре раза ($p < 0,001$).

По полученным в ходе исследования данным, можно заключить, что изменения в маточных смывах более показательны для оценки уровня гиперэстрогении. Можно отметить, что выявленные изменения в крови хоть и показывают достоверные изменения, но часто не выходят за пределы референсных значений показателей. В маточных смывах изменения этих показателей более специфичны. Можно заключить, что определение внутриматочных гормонов, наряду с уровнем экспрессии их рецепторов, является более чувствительным критерием для оценки гормональных нарушений при гиперпластических процессах эндометрия.

Следует отметить, что именно «наличие гиперэкспрессии ER в середине лютеиновой фазы менструального цикла может быть лучшим биомаркером нарушения функции эндометрия» [241]. С другой стороны, «отсутствие физиологического снижения ER в средне-секреторную фазу менструального цикла может быть связано с неадекватными уровнями прогестерона в сыворотке крови, чрезмерной экспрессией ароматаз, коактиваторов стероидных рецепторов или некоторых провоспалительных цитокинов» [11].

В нашем исследовании наиболее существенная разница как в уровне внутриматочных гормонов, так и в состоянии рецепторов к эстрогенам и прогестерону, отмечена при простой ГЭ. При комплексной ГЭ и даже при атипичской гиперплазии происходит нивелирование разницы показателей по уровню относительного изменения локального содержания эстрогенов и прогестерона и экспрессии рецепторов к ним в тканях эндометрия. Таким образом можно предположить, что при простой гиперплазии гормональные нарушения с развитием относительной и абсолютной эстрогении является существенным фактором развития гиперплазии. Вместе с тем для формирования более тяжелых типов ГЭ, в том числе и для развития атипичии, скорее всего включаются другие механизмы, способствующие формированию и прогрессированию патологии.

Полученные в нашей работе результаты показали, что важным фактором развития гиперплазии эндометрия может быть формирование воспалительной реакции в эндометрии, причем морфологические признаки воспалительного процесса в эндометрии были выявлены почти у 2/3 женщин с гиперплазией.

Более углубленное исследование с определением уровня экспрессии общего лейкоцитарного антигена CD45 показали, что максимальный рост экспрессии CD45 отмечался при комплексной атипичской гиперплазии. Если в тканях нормального эндометрия выявлялось не более пяти процентов клеток, экспрессирующих CD45 в строме, то при комплексной атипичской ГЭ процент таких клеток составил более 50% ($p < 0,001$). Установлена выраженная зависимость уровня экспрессии общего лейкоцитарного

антигена, характеризующего пул воспалительной инфильтрации ткани эндометрия, в зависимости от типа гиперплазии.

Среди других факторов, отражающих степень выраженности и характер воспалительных изменений в эндометрии, показательно определение провоспалительных цитокинов. Известно, что «при гиперплазии эндометрия и особенно при раке эндометрия происходит повышение локальной продукции провоспалительных цитокинов, в состоянии которых можно отметить развитие дисбаланса» [140]. Кроме того, развивающаяся гиперкоагуляция при ГЭ находится «в прямой зависимости от концентрации провоспалительных цитокинов в эндометрии и не зависит от степени тяжести его патологической трансформации» [171]. Однако, исследования цитокинов в большинстве исследований проводились в крови, что не в полной мере отражает процессы, развивающиеся в месте формирования патологии.

В нашем исследовании установлено, что в маточных смывах, то есть на локальном уровне, отмечается выраженный рост уровня цитокинов. Уровень ИЛ-1 β уже при простой ГЭ увеличивался более чем в три раза ($p < 0,05$) и достигал значений, превосходящих уровень контроля почти в пятьдесят раз ($p < 0,001$) при атипической форме гиперплазии. Прогрессивно увеличивался уровень ИЛ-6 и TNF- α , которые достигали максимальных значений при атипической гиперплазии, превышая контрольный уровень в пятнадцать ($p < 0,001$) и три раза ($p < 0,05$) соответственно. Причем содержание провоспалительных цитокинов в маточных смывах зависело только от типа гиперплазии и не зависело от фазы менструального цикла.

Другой важной системой, отражающей характер воспалительных изменений, и которая пристально изучена в работе, является система протеолитических ферментов и их ингибиторов. Следует отметить, что «протеиназы и их ингибиторы участвуют в регуляции множества различных функций организма и немаловажную роль играют в реализации репродуктивной функции женщин» [81-83], однако изучению их роли в

этих процессах и развитии патологии уделяется явно недостаточно внимания. В настоящее время активно изучается «роль матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в развитии гиперплазии эндометрия, а также в возникновении и прогрессии злокачественных процессов в слизистой оболочке матки» [104-106]. Кроме того, протеолитические ферменты выделяемые активированными лейкоцитами, «способны разрушать матрикс соединительной ткани и базальной мембраны эпителия, нарушая гистоархитектонику тканей, что в свою очередь может способствовать нарушению процессов пролиферации и дифференцировки эндометрия» [27,142,242]. Следует отметить, что изучение компонентов протеиназ-ингибиторной системы в крови чаще носит неспецифический характер и не в полной мере отражает состояние местных процессов протеолиза.

В ходе проведенного исследования был показан рост протеолитической активности в маточных смывах на фоне потери контроля со стороны ингибиторов протеиназ. Активность эластолитических ферментов при формировании ГЭ прогрессивно увеличивалась с максимальными значениями в 8-9 раз ($p < 0,001$) превосходящими контрольный уровень при обеих формах комплексной гиперплазии. Уровень трипсиноподобных протеиназ так же повышался в 2,5 - 3 раза ($p < 0,05$) при всех типах гиперплазий.

На фоне роста в маточных смывах активности протеиназ, которые обладают выраженным деструктивным действием, АТА, характеризующая способность ингибировать трипсиноподобные протеиназы, существенно не менялась. При этом КСИ протеиназ, которые в большинстве своем секретируются тканями местно, снижались при ГЭ в 2-3 раза ($p < 0,01$) и падали до нулевых значений ($p < 0,001$) в маточных смывах при атипической гиперплазии. Данные изменения можно охарактеризовать, как развитие дисбаланса с увеличением активности протеиназ при абсолютном или относительном дефиците ингибиторов протеиназ.

Таким образом, проведенные исследования показали, что с точки зрения оценки патогенетических механизмов развития ГЭ, определение показателей

протеиназ-ингибиторной системы внутриматочных смывов может дать ценную дополнительную информацию, характеризующую особенности течения патологии. С одной стороны, активация протеиназ может играть существенную роль в деградации ВКМ эндометрия. На подобную способность протеиназ нейтрофильных гранулоцитов указывается в ряде исследований [243, 244]. Известно, что лизосомальные гранулы нейтрофилов содержат более 20 различных ферментов, среди которых присутствуют металлопротеиназы, коллагеназы, эластаза и катепсин G, обладающие выраженным деструктивным потенциалом [121,245]. В нормальных тканях деструктивное действие протеиназ контролируется мощной системой ингибиторов [246]. В частности, α 1-ингибитор протеиназ и секреторный ингибитор эластазы эффективно ингибируют активность нейтрофильных протеиназ [123,124]. В нашем исследовании показано, что интенсивный рост трипсино- и эластазоподобных протеиназ сопровождается снижением в первую очередь местносинтезируемых КСИ протеиназ, что подтверждает возможность участия данного механизма в деструкции тканей при гиперплазии.

С другой стороны, прогрессивное повышение активности эластазо- и трипсиноподобных протеиназ на фоне снижения антипротеиназной активности, можно рассматривать и в качестве фактора риска малигнизации эндометрия.

Следует отметить, что развитие протеиназ-ингибиторного дисбаланса в тканях эндометрия при развитии патологии может иметь важное значение в оценке клинического течения заболеваний эндометрия. Дальнейшее изучение роли протеиназ-ингибиторных взаимоотношений может позволить подойти к пониманию роли изменений данных показателей при развитии воспалительных процессов, трансформации доброкачественного патологического процесса в сторону малигнизации и нарушений в тонких механизмах, участвующих в процессах оплодотворения.

Кроме того, в результате проведенного исследования на основе изучения маркеров апоптоза показано, что рост воспалительной реакции в эндометрии

при атипической гиперплазии сопровождался существенным понижением экспрессии CD95 и неоднозначными реакциями Bcl-2 с увеличением окрашивания ядер в железах эндометрия, что больше можно трактовать как снижение готовности клеток эндометрия к апоптозу. Следует отметить, что хорошо известно «влиянии аномальной сверхэкспрессии белков Bcl-2, способствующих выживанию, а также аномально сниженной экспрессии проапоптотических членов семейства Bcl-2 на развитие опухоли и устойчивость злокачественных клеток к противораковым агентам» [247]. При формировании рака эндометрия однозначных данных о реакции Bcl-2 в тканях эндометрия не отмечено. Описано, что переход EIN в аденокарциному сопровождается снижением экспрессии Bcl-2 [248]. Кроме того, «сравнение полученных ИГХ показателей p53, экспрессии Bcl-2 и Вах в нормальной ткани эндометрия, образцах эндометрия с ГЭ и образцах с карциномой показало, что недостаточная экспрессия Вах, сверхэкспрессия p53 и высокое соотношение Bcl-2 к Вах были связаны с степенью злокачественности РЭ» [249]. С другой стороны, CD95 (Fas/APO-1) и его лиганд CD95L долгое время рассматривались как система рецептор смерти/лиганд смерти, которая опосредует индукцию апоптоза для поддержания иммунного гомеостаза. Кроме того, эти молекулы важны для иммунной элиминации инфицированных вирусом клеток и раковых клеток. Как правило, при развитии злокачественной опухоли экспрессия CD95 снижалась, а CD95L считался полезным для терапии рака [250]. Однако накапливающиеся за последние 10 лет данные указывают на глубокую роль CD95 в альтернативных неапоптотических сигнальных путях, которые усиливают онкогенез. Этот факт бросает вызов первоначальной клинической идее использования CD95 в качестве «убийцы опухолей», одновременно создавая основу для клинических исследований, нацеленных на неапоптотическую сигнальную ветвь CD95 [251].

Еще одной характерной особенностью изменений в тканях эндометрия при различных формах гиперплазий является активация фактора роста сосудов VEGF при более тяжелых формах гиперплазий, наиболее

выраженного при атипической ГЭ. Причем в параллельных исследованиях установлена аналогичная картина изменений экспрессии VEGF, которая «характеризовалась практически отсутствием эндотелиального фактора роста сосудов в здоровом эндометрии, увеличением при EIN и очень выраженным увеличением при развитии карциномы» [185].

Проведенное нами исследование демонстрирует, что воспалительные изменения в эндометрии при развитии гиперплазии зависят от типа ГЭ и нарастают по мере увеличения тяжести гиперпластического процесса. Можно предположить, что ГЭ ассоциируется с формированием и развитием воспалительного процесса, который способствует как поддержанию, так и возможному прогрессированию и трансформации гиперпластического процесса. Следует отметить, что в последнее время особое значение придается воспалению, ассоциированному с опухолевым ростом [146,252], которое описано как один из общих признаков рака [253]. В частности указывается, что ««канцер ассоциированное воспаление» может влиять на генетическую перестройку опухолевой ткани и способствовать процессам инвазии и метастазирования» [254]. Полученные в нашей работе результаты свидетельствуют о важной роли воспаления в развитии гиперпластических процессов в эндометрии, которые можно трактовать с точки зрения формирования воспаления, ассоциированного с ГЭ.

Результаты проведенного исследования показывают, что определение уровня экспрессии CD45 в тканях эндометрия можно использовать в качестве чувствительного критерия формирования неспецифического воспаления в эндометрии и оценки степени его активности. Причем увеличение CD45 было также обнаружено при проведении экспериментальных исследований при моделировании ГЭ у мышей путем нокаута гена *Wdr13* [255]. В тоже время уровень локальной цитокинемии можно использовать в качестве критерия как для оценки характера гиперпластического процесса в эндометрии, так и для оценки эффективности проводимого лечения в случаях, когда сложно взять материал для ИГХ исследования.

Анализ полученных данных позволяет предположить, что воспаление может играть важную роль в формировании и ГЭ (рис. 7.1). В результате проведенных исследований предложен термин «воспаление, ассоциированное с гиперплазией эндометрия», и воспаление при гиперплазии следует рассматривать в качестве терапевтической мишени при совершенствовании подходов к лечению гиперпластических процессов эндометрия.

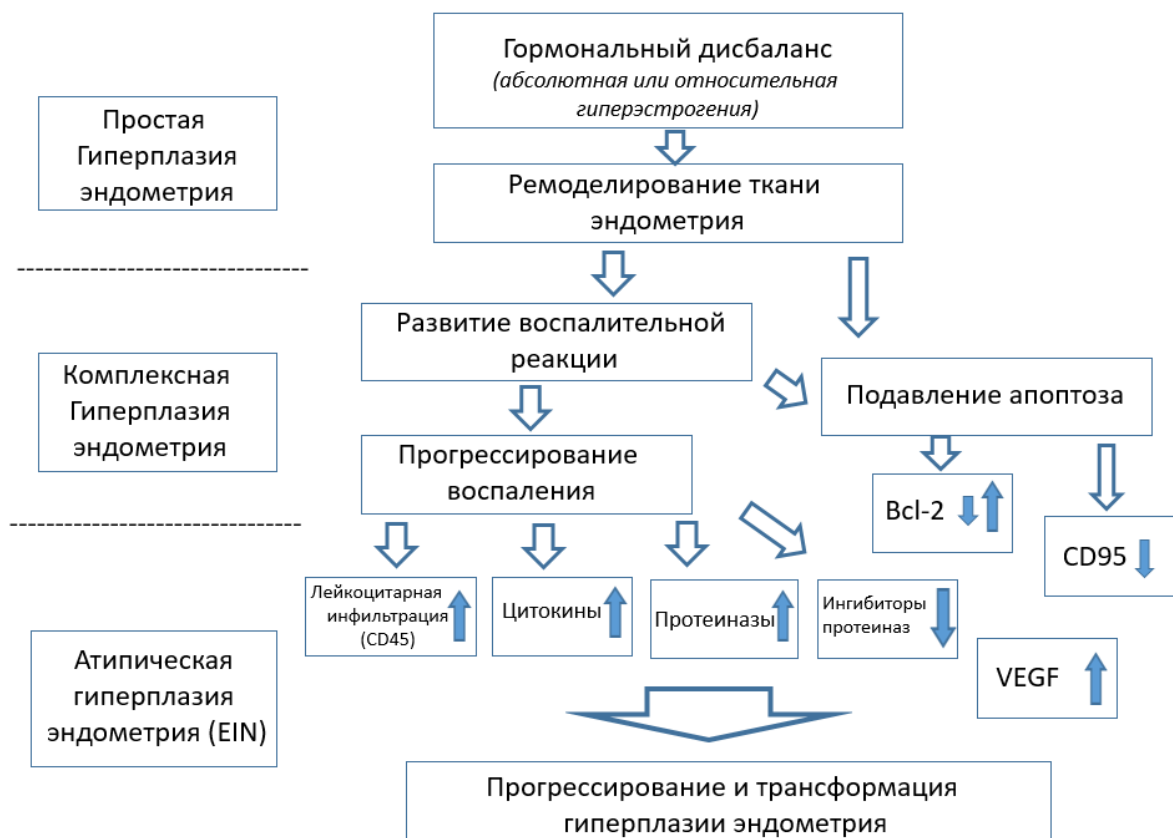


Рисунок 7.1. Патогенетическая схема участия воспалительной реакции и маркеров апоптоза в развитии гиперплазии эндометрия

Складывается представление, что при простых формах ГЭ развитие дисбаланса стероидных гормонов с абсолютным или относительным преобладанием эстрогенов действительно является пусковым фактором и ключевым механизмом развития гиперпластического процесса. На это указывает как относительная, пусть и не всегда выраженная, гиперэстрогения, так и выраженное увеличение уровня половых гормонов в маточных смывах с преобладанием эстрогенов, показанное в нашей работе.

При простой форме гиперплазии показано также существенное превалирование экспрессии эстрогеновых рецепторов как в строме, так и в железах эндометрия.

Однако происходящее в связи с гормональным дисбалансом ремоделирование тканей эндометрия сопровождается формированием воспалительного процесса. Причем выраженность воспалительных проявлений в тканях эндометрия увеличивается при нарастании морфологической перестройки эндометрия и при утяжелении клинического течения гиперплазии. Степень нарастания воспалительных изменений характеризует рост экспрессии рецепторов общего лейкоцитарного антигена CD45 в тканях эндометрия, увеличение уровня провоспалительных цитокинов, повышение активности неспецифических протеиназ и снижение уровня секреции местных КСИ протеиназ. При этом степень выраженности абсолютной или относительной гиперэстрогении нивелируется, отмечается прогрессивное снижение уровня экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в тканях эндометрия, а при атипической форме гиперплазии можно даже отметить некоторое превалирование экспрессии рецепторов прогестерона, особенно выраженное в железистой ткани. В этой связи становится понятным, почему некоторые авторы указывают на эффективности применения терапии гестагенами при атипической ГЭ [256,257].

Следует отметить, что применение гормональной терапии при ГЭ, и особенно при лечении тяжелых форм комплексных гиперплазий, вызывает много вопросов. До конца неясно, при каких видах гиперплазий более целесообразно назначать те или иные препараты, в каких оптимальных сочетаниях можно их использовать, что может служить объективным критерием эффективности проводимой терапии, насколько изменения гормонального фона и рецепции эндометрия отражают нормализацию гормонального статуса пациенток [258]. Как показано в нашем исследовании, воспаление играет важную роль в развитии и прогрессировании ГЭ, однако

применение противовоспалительной терапии при ГЭ ранее практически не изучалось, вследствие чего в протоколах лечения отсутствует указание на данный вид терапии. Более того, установленная в исследовании важная роль воспалительных изменений в развитии ГЭ на фоне нарушений биоценоза влагалища, может сказываться на формировании локальной гиперэстрогении и таким образом обуславливать возможную толерантность к гормональной терапии гиперпролиферативных процессов эндометрия.

В нашем исследовании проведена оценка эффективности применения различных гормональных препаратов при лечении комплексной ГЭ на основании определения изменений локального уровня гормонов, провоспалительных цитокинов и клеточных протеиназ. Проведенные исследования показали, что все виды гормональной коррекции сопровождались положительной динамикой практически всех изученных показателей. Наиболее оптимальный эффект в отношении нормализации уровня эстрогенов и прогестерона установлен при применении внутриматочной системы с левоноргестрелом, где их соотношение стало практически соответствовать относительной норме даже с некоторым превалированием прогестерона.

Наиболее существенное снижение уровня цитокинов и активности протеиназ было отмечено в группах с лечением аГн-РГ и комбинированными оральными контрацептивами. В этих группах выявлено 3-10 кратное снижение уровня цитокинов. В этих же группах отмечено 2-5 кратное снижение активности протеиназ. Менее существенное снижение эластазоподобной активности и трипсиноподобной активности было выявлено на фоне лечения гестагенами и при использовании ВСЛ. На фоне снижения активности неспецифических протеиназ при проведении лечения отмечен характерный рост уровня ингибиторов протеиназ. Максимальный рост ингибиторов также выявлен при применении АГнРГ и КОК.

Полученные результаты свидетельствуют, что наиболее существенный эффект нормализации уровня маркеров воспалительной реакции отмечался

при применении КОК и аГн-РГ. При этом наиболее оптимальный эффект нормализации локального уровня эстрогенов и прогестерона отмечен при использовании внутриматочной системы с ЛНГ. Однако в группе с ВСЛ отмечено минимальное снижение воспалительных маркеров в маточных смывах, что можно объяснить длительным нахождением инородного тела в полости матки.

Таким образом, сопоставление результатов эффективности лечения женщин с неатипической ГЭ по изменению локального гормонального фона и локальных маркеров воспалительного процесса, гистологического анализа эндометрия через 3 месяца проведенной терапии и риска развития рецидивов гиперплазии показало, что в группах, в которых при проведении терапии максимально выражено снижение воспалительных изменений в эндометрии также отмечено достоверное снижение развития рецидивов гиперплазии.

Полученные в нашем исследовании результаты свидетельствуют, что оценку динамики показателей, таких как уровень экспрессии рецепторов общего лейкоцитарного антигена CD45, провоспалительных цитокинов, протеиназ и их ингибиторов в маточных смывах, которые эффективно характеризуют степень воспалительных изменений в эндометрии, можно рекомендовать в качестве критериев эффективности лечения гиперпластических процессов эндометрия. Основываясь на данных критериях, исходя из эффекта подавления воспалительной реакции в тканях эндометрия и учитывая параметры нормализации локального гормонального фона можно заключить, что при лечении тяжелых форм ГЭ на первом этапе гормональной терапии наиболее целесообразно использовать агонисты Гн-РГ, а на втором этапе – комбинированные контрацептивные препараты.

ВЫВОДЫ

1. При развитии ГЭ происходит изменение гормонального фона с развитием абсолютной или относительной гиперэстрогении, что проявляется увеличением экспрессии рецепторов к эстрогенам в строме и железах эндометрия при простой гиперплазии и сохранением высоких значений в железах при комплексной и атипической гиперплазии. На этом фоне повышение содержания эстрогенов и прогестерона в маточных смывах с относительным преобладанием эстрогенов указывает на формирования локальной гиперэстрогении, особенно выраженной с увеличением эстрадиола в 5 раз ($p < 0,001$) при простой ГЭ.

2. Локальная активация провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и TNF- α происходит при развитии ГЭ и их уровень, определяемый в маточных смывах, увеличивается от простой гиперплазии к комплексной, и достигает максимальных цифр, в 15-20 раз ($p < 0,001$) превосходящих уровень контроля, у пациенток с атипической гиперплазией.

3. Для комплексной ГЭ характерно существенное увеличение активности местных протеиназ в 5-10 раз ($p < 0,001$) и угнетение активности их ингибиторов в 2-3 раза ($p < 0,001$). Дисбаланс протеиназ-ингибиторного потенциала минимально выражен при простой ГЭ и максимально проявляется при атипической ГЭ, что указывает на потенциальную роль протеиназ в процессах ремоделирования и атипической трансформации эндометрия.

4. Формирование ГЭ сопровождается ИГХ выявляемым ростом экспрессии CD45 с ее прогрессивным увеличением до максимальных значений при комплексной гиперплазии с атипией ($p < 0,001$) (от $4,2 \pm 1,2$ % в норме, до $19,9 \pm 0,9$ % при простой гиперплазии и до $57,8 \pm 2,4$ при ГЭ с атипией), что позволяет говорить о развитии «воспаления, ассоциированного с гиперплазией эндометрия».

5. Усиление воспалительной реакции в эндометрии при атипической гиперплазии сопровождается существенным понижением экспрессии CD95 и

неоднозначными реакциями Vc1-2 с увеличением окрашивания ядер в железах эндометрия, что можно трактовать как снижение готовности клеток эндометрия к апоптозу. Параллельно определяется активация фактора роста сосудов VEGF, экспрессия которого более выражена при атипической ГЭ.

6. Гистоморфологические изменения в эндометрии, динамика уровня местных стероидных гормонов, провоспалительных цитокинов, неспецифических протеиназ и их ингибиторов при различных вариантах гормональной терапии пациенток с комплексными ГЭ продемонстрировал оптимальную эффективность лечения при применении агонистов гонадотропин-рилизинг гормона с использованием комбинированных оральных контрацептивов на втором этапе гормонального лечения. При применении данного вида гормональной терапии максимально выраженное снижение воспалительных изменений в эндометрии сопровождалось достоверным на 21,4 % ($\chi^2 = 4,44$, $p = 0,0444$) снижением развития рецидивов гиперплазии в течение 12 месяцев наблюдения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение уровня эстрогенов и прогестерона в маточных смывах при ГЭ совместно с оценкой состояния рецепторов к стероидным гормонам в тканях эндометрия может быть дополнительным эффективным критерием оценки характера и степени гиперэстрогении.

2. Исследование уровня цитокинов, неспецифических протеиназ, их ингибиторов в маточных смывах и оценка лейкоцитарной инфильтрации эндометрия по уровню экспрессии CD45 объективно отражает степень воспалительных изменений в тканях эндометрия при гиперплазии и может быть предложено в качестве дополнительного критерия оценки прогноза ее течения и эффективности проводимой терапии.

3. При консервативном лечении тяжелых форм ГЭ на первом этапе лечения в качестве препаратов выбора наиболее оптимально использование агонистов Гн-РГ, а на втором этапе – применение комбинированных оральных контрацептивов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

аГн-РГ – агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона

АТА – антитриптическая активность

ВКМ – внеклеточный матрикс

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВСЛ – внутриматочная система с левоноргестрелом

ГЭ – гиперплазия эндометрия

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГХ – иммуногистохимия

ИЛ – интерлейкин

КОК – комбинированные оральные контрацептивы

КСИ – кислотостабильные ингибиторы

ММП (ММР) – матриксные металлопротеиназы

РЭ – рак эндометрия

ТИМП – тканевой ингибитор металлопротеиназ

ТПА – трипсиноподобная активность

УЗИ – ультразвуковое исследование

ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

ЭПА – эластазоподобная активность

Акт – серин/треониновые протеинкиназы (продукт генов akt)

АМРК – 5'АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФК, англ. AMP activated protein kinase) – клеточная протеинкиназа, контролирующая энергетический баланс клетки

Bcl-2 – регулятор апоптоза – (англ. Apoptosis regulator Bcl-2) — внутриклеточный белковый фактор

CD – кластер дифференцировки

CD95 - Fas-рецептор или кластер дифференцировки CD95

EIN – (англ. endometrial intraepithelial neoplasia) – интраэпителиальная неоплазия эндометрия

ER- α , - β – рецептор эстрогена альфа, бета

HIF – фактор, индуцируемый гипоксией

MAPK – (англ. mitogen-activated protein kinase) – митоген-активируемая протеинкиназа

mTOR – мишень рапамицина млекопитающих (англ. target of rapamycin (TOR); mammalian target of rapamycin)

NF- κ B – ядерный фактор- κ B

NK – натуральные киллеры

PI3K – фосфоинозитид-3-киназа

PR – рецептор прогестерона

Ras – семейство генов (Retrovirus Associated DNA Sequences), а также белки, которые они кодируют

TNF- α (ФНО- α) – фактор некроза опухоли альфа

VEGF – фактор роста сосудов

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. «Уязвимый» эндометрий: современный взгляд на патогенез и патогенетическую терапию гиперпластических процессов эндометрия / В. Е. Радзинский, М. Р. Оразов, М. Б. Хамошина [и др.]. – Текст : непосредственный // *Reproductive Medicine*. – 2021. – № 3 (48). – С.52–58.
2. Эндокринная гинекология : избранные семинары / Е. Н. Андреева, О. Р. Григорян; под ред. И. И. Дедова, Н. Г. Мокрыщевой. – Москва : МЕДпрессинформ, 2023. – 436 с. – Текст : непосредственный.
3. Cancer statistics / R. L. Siegel, K. D. Miller, H. E. Fuchs, A. Jemal. – Текст : непосредственный // 2022. *CA: Cancer J. Clin.* – 2022. – Vol. 72. – P. 7–33.
4. Ring, K. L. Endometrial Hyperplasia / K. L. Ring, A. M. Mills, S. C. Modesitt. – Текст : непосредственный // *Obstet Gynecol.* – 2022. – Vol.140(6). – P. 1061–1075.
5. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова. – Москва : МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. – 252 с. – Текст : непосредственный.
6. Злокачественная трансформация гиперплазированного эндометрия: эпидемиология и прогнозирование /Р. Г. К. Гусейнова, И. М. Ордянц, А. А. Ямурзина [и др.]. – Текст : непосредственный // *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения.* –2020. – №8(Приложение 3 (29)). – С. 100–105.
7. Endometrial hyperplasia as a risk factor of endometrial cancer / L. K. Nees, S. Heublein, S. Steinmacher [et al.]. – Текст : непосредственный // *Arch Gynecol Obstet.* –2022. – Vol.306(2). – P. 407–421.
8. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 г. по данным федерального статистического наблюдения / Г. В. Петрова, В. В. Старинский, О. П. Грецова [и др.]. – Текст : непосредственный // *Онкология.*

Журнал имени П.А. Герцена. – 2019. – Т. 8, № 1. – С. 32–40.

9. Rekhi, B. Pathology of Endometrial Hyperplasia and Carcinoma / B. Rekhi, K. K. Deodhar, S. Menon // S. K. C. Rajaram, A. Maheshwari, A. (eds) Uterine Cancer. – Текст : электронный. – New Delhi : Springer, 2015. – URL: https://doi.org/10.1007/978-81-322-1892-0_10

10. New concepts for an old problem : the diagnosis of endometrial hyperplasia / P. A. Sanderson, H. O. Critchley, A. R. Williams [et al.]. – Текст : непосредственный // Hum Reprod Update. – 2017. – Vol. 23(2). – P.232–254.

11. Endometrium and steroids, a pathologic overview / F. Plaza-Parrochia, C. Romero, L. Valladares, M. Vega. – Текст : непосредственный // Steroids. – 2017. – Vol.126. – P.85–91.

12. Pandey, J. Premalignant Lesions of the Endometrium / J. Pandey, S. Yonder // StatPearls [Internet]. – Текст : электронный. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. – PMID: 32965886.

13. Bell, D.W. Molecular Genetics of Endometrial Carcinoma / D. W. Bell, L. H. Ellenson. – Текст : непосредственный // Annu Rev Pathol. – 2019. – Vol.14. – P.339–367.

14. The genomic landscape and evolution of endometrial carcinoma progression and abdominopelvic metastasis / W. J. Gibson, E. A. Hoivik, M. K. Halle [et al.] – Текст : непосредственный // Nat. Genet. – 2016. – Vol.48(8). – P.848–855.

15. Guideline No. 390-Classification and Management of Endometrial Hyperplasia / M. H. Auclair, P. J. Yong, S. Salvador [et al.]. – Текст : непосредственный // J. Obstet. Gynaecol. Can. –2019. – Vol.41(12). – P.1789–1800.

16. Bedoui, S. Emerging connectivity of programmed cell death pathways and its physiological implications / S. Bedoui, M. J. Herold, A. Strasser. – Текст : непосредственный // Nature reviews Molecular cell biology. – 2020. – Vol.21(11). – P. 678–695.

17. Гормональный статус женщин с гиперпластическими процессами

эндометрия / О. В. Шарапова А. А. Осипова, А. В. Самойлова [и др.]. – Текст : непосредственный // Проблемы репродукции. – 2006. – Т. 12, N 3. – С.31–36.

18. Cancer of the corpus uteri : 2021 update / M. Koskas, F. Amant, M. R. Mirza, C. L. Creutzberg. – Текст : непосредственный // Int J Gynaecol Obstet. – 2021. – Vol.155 Suppl 1(Suppl 1). – P. 45–60.

19. Гиперплазия эндометрия : поиск оптимальных решений и стратегий / М. Р. Думановская, Г. Е. Чернуха, Г. И. Табеева, А. В. Асатунова. – Текст : непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 4. – С. 23–31.

20. Оразов, М.Р. Гиперплазия эндометрия : современный взгляд на проблему / М. Р. Оразов, Л. М. Михалева, И. А. Муллина. – Текст : непосредственный // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. – 2022. – Т.10 (3 (37)). – С. 62–67.

21. Попов, Э. Н. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе гиперпластических заболеваний матки / Э. Н. Попов, А. В. Арутюнян, Е. А. Безрукова. – Текст : непосредственный // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. LIX, N 3. – С. 92–97.

22. The relationship between oxidative stress markers and endometrial hyperplasia: A case-control study / E. Yıldırım, C. Türkler, Ü. Görkem [et al.]. – Текст : непосредственный // Turk J Obstet Gynecol. – 2021. – Vol.18(4). – P.298–303.

23. Генетические и эпигенетические механизмы развития гиперплазии эндометрия у женщин репродуктивного возраста / И. М. Ордянец, А. А. Куулар, А. А. Ямурзина [и др.]. – Текст : непосредственный // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. – 2020. – Т. 8(3 (29)). – С. 67–70.

24. Huang, Y. Role of Pyroptosis in Gynecological Oncology and Its Therapeutic Regulation / Y. Huang, R. Li, Y. Yang. – Текст : непосредственный // Biomolecules. – 2022. – Vol.12(7). – P.924.

25. Autophagy in the physiological endometrium and cancer / L. Devis-Jauregui, N. Eritja, M. L. Davis [et al.]. – Текст : непосредственный // Autophagy. – 2021. – Vol. 17(5). – P. 1077–1095.

26. Адамян, Л. В. Гиперплазия эндометрия : клинические рекомендации / Л. В. Адамян, Е. Н. Андреева, Н. В. Артымук. – Москва, 2021. – 45 с. – Текст : непосредственный.

27. Changes in the Extracellular Matrix in Endometrial and Cervical Cancer: A Systematic Review / T. Padežnik, A. Oleksy, A. Cokan [et al.]. – Текст : непосредственный // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol.24(6). –P.5463.

28. Michalczyk, K. Metalloproteinases in Endometrial Cancer-Are They Worth Measuring? / K. Michalczyk, A. Cymbaluk-Płoska. – Текст : непосредственный // *Int J Mol Sci.* –2021. –Vol.22(22). –P.12472.

29. The Role of Cytokines in Epithelial-Mesenchymal Transition in Gynaecological Cancers : A Systematic Review /I. Ray, A. Michael, L. B. Meira, P. E. Ellis. – Текст : непосредственный // *Cells.* – 2023. – Vol.12(3). – P. 416.

30. Руководство по эндокринной гинекологии / Под ред. Е. М. Вихляевой. – 3-е изд., доп. – Москва : ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 784 с. – Текст : непосредственный.

31. Singh, G. Endometrial Hyperplasia. 2023 Jul 17 / G. Singh, Y. Puckett // *StatPearls [Internet].* – Текст : электронный. –Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. – PMID: 32809528.

32. Endometrial hyperplasia in pre-menopausal women: A systematic review of incidence, prevalence, and risk factors / K. Petersdorf, E. Groettrup-Wolfers, P. M. Overton [et al.]. – Текст : непосредственный // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* – 2022. – Vol.271. – P. 158–171.

33. Long-term diabetes risk among endometrial cancer survivors in a population-based cohort study / S. Kim, J. Park, Y. Chen [et al.] – Текст : непосредственный // *Gynecol Oncol.* – 2020. – Vol.156(1). – P.185–193.

34. Impact of uterine manipulator on oncological outcome in endometrial cancer surgery / P. Padilla-Iserte, V. Lago, C. Tauste [et al.]. – Текст : непосредственный // *Am J Obstet Gynecol.* – 2021. – Vol.224(1). – P.65.e61–65.e11.

35. Practice Bulletin No. 149 : Endometrial cancer. – Текст :

непосредственный // *Obstet Gynecol.* – 2015. – Vol.125(4). – P.1006–1026.

36. Лактионов, К. П. Современные представления о терапии редких форм рака тела матки / К. П. Лактионов, Г. М. Абдуллаева, О. А. Анурова. – Текст : непосредственный // *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.* – 2009. – Т.20, №4. – С. 9–14.

37. sahBody mass index and mortality in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis / A. A. Secord, V. Hasselblad, V. E. Von Gruenigen [et al.]. – Текст : непосредственный // *Gynecol Oncol.* – 2016. – Vol.140(1). – P.184–190.

38. Yang, X. The role of metabolic syndrome in endometrial cancer : a review / X. Yang, J. Wang. – Текст : непосредственный // *Front Oncol.* – 2019. – N 9. – P.744.

39. Metabolic syndrome and risk of cancer : a systematic review and meta-analysis / K. Esposito, P. Chiodini, A. Colao [et al.]. – Текст : непосредственный // *Diabetes Care.* – 2012. – Vol.35(11). – P.2402–2411.

40. McDonald, M.E. Endometrial Cancer: Obesity, Genetics, and Targeted Agents / M. E. McDonald, D. P. Bender. – Текст : непосредственный // *Obstet Gynecol Clin North Am.* – 2019. – Vol.46(1). – P.89–105.

41. Thrastardottir, T. O. The Association Between Nutrition, Obesity, Inflammation, and Endometrial Cancer: A Scoping Review / T. O. Thrastardottir, V. J. Copeland, C. Constantinou. – Текст : непосредственный // *Curr Nutr Rep.* – 2023 –Vol.12(1). – P. 98–121.

42. Obesity, inflammation, and cancer / T. Deng, C. J. Lyon, S. Bergin [et al.]. – Текст : непосредственный // *Annu Rev Pathol.* – 2016. – N 11. – P.421–449.

43. Endometrial cancer / E. J. Crosbie, S. J. Kitson, J. N. McAlpine [et al.]. – Текст : непосредственный // *Lancet.* – 2022. – Vol.399(10333). –P.1412–1428.

44. King, L. Endometrial cancer and obesity: Addressing the awkward silence / L. King, S. Gajarawala, M. D. McCrary. – Текст : непосредственный // *JAAPA.* – 2023. –Vol. 36(1). – P. 28–31.

45. Understanding obesity and endometrial cancer risk: opportunities for

prevention / R. E. Schmandt, D. A. Iglesias, N. N. Co [et al.]. – Текст : непосредственный // *Am J Obstet Gynecol.* – 2011. – Vol.205(6). – P. 518–525.

46. Bariatric surgery decreases the risk of uterine malignancy / K. K. Ward, A. M. Roncancio, N. R. Shah [et al.]. – Текст : непосредственный // *Gynecol Oncol.* – 2014. – Vol.133(1). – P. 63–66.

47. Kim S. Long-term diabetes risk among endometrial cancer survivors in a population-based cohort study / S. Kim, J. Park, Y. Chen, et al. // *Gynecol Oncol.* – 2020. – №156(1). – PP.185-193.

48. High glucose-mediated STAT3 activation in endometrial cancer Is inhibited by metformin: therapeutic implications for endometrial cancer / J. J. Wallbillich, S. Josyula, U. Saini [et al.]. – Текст : непосредственный // *PLoS One.* – 2017. – Vol.12(1). – P.e0170318.

49. Free fatty acids rewire cancer metabolism in obesity-associated breast cancer via estrogen receptor and mTOR signaling / Z. Madak-Erdogan, S. Band, Y.C. Zhao [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cancer Res.* – 2019. – Vol.79(10). – P. 2494–2510.

50. The impact of 27-hydroxycholesterol on endometrial cancer proliferation / D.A. Gibson, F. Collins, F. L. Cousins [et al.]. – Текст : непосредственный // *Endocr Relat Cancer.* – 2018. – Vol.25(4). – P. 381–391.

51. Aune, D. Hypertension and the risk of endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis of case-control and cohort studies / D. Aune, A. Sen, L. J. Vatten. – Текст : непосредственный // *Sci Rep.* – 2017. – N 7. – P.44808.

52. Correlation of Metabolic Factors with Endometrial Atypical Hyperplasia and Endometrial Cancer: Development and Assessment of a New Predictive Nomogram / H. Zhang, W. Kong, C. Han [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cancer Manag Res.* – 2021. – Vol.13. –P. 7937–7949.

53. Clinicopathologic Comparison of Lynch Syndrome-associated and "Lynch-like" Endometrial Carcinomas Identified on Universal Screening Using Mismatch Repair Protein Immunohistochemistry / A. M. Mills, E. A. Sloan, M. Thomas [et al.]. – Текст : непосредственный // *Am J Surg Pathol.* – 2016. –

Vol.40(2). – P.155–165.

54. Converging endometrial and ovarian tumorigenesis in Lynch syndrome : Shared origin of synchronous carcinomas / A. Niskakoski, A. Pasanen, N. Porkka [et al.]. – Текст : непосредственный // *Gynecol Oncol.* – 2018. – Vol.150(1). – P.92–98.

55. Clinicopathologic characteristics of endometrial cancer in lynch syndrome A French multicenter study / L. Rossi, M. A. Le Frere-Belda, P. Laurent-Puig [et al.]. – Текст : непосредственный // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2017. – Vol.27(5). – P. 953–960.

56. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion No. 426 : The role of transvaginal ultrasonography in the evaluation of postmenopausal bleeding. – Текст : непосредственный // *Obstet Gynecol.* – 2009. – Vol.113, №2, pt 1. – P. 462–464.

57. Wouk, N. Abnormal Uterine Bleeding in Premenopausal Women / N. Wouk, M. Helton. – Текст : непосредственный // *Am Fam Physician.* – 2019. – Vol.99(7). – P. 435–443.

58. New WHO Classification of Endometrial Hyperplasias / G. Emons, M.W. Beckmann, D. Schmidt [et al.]. – Текст : непосредственный // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 2015. – Vol.75(2). – P.135–136.

59. Wilson, P. C. Progression of endometrial hyperplasia : a revisit under the 2014 WHO classifications / P. C. Wilson, N. Buza, P. Hu. – Текст : непосредственный // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2015. – Vol. 9. – P.1617–1625.

60. Association FRDGoPBoCM. Pathological diagnosis criteria for endometrial cancer. – Текст : непосредственный // *Chin J Pathol.* – 2020. – Vol. 49(3). – P.214–9.

61. Prognostic impact of EMT (epithelial-mesenchymal-transition)-related protein expression in endometrial cancer / Y. Tanaka, Y. Terai, H. Kawaguchi [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cancer Biol. Ther.* – 2013. – Vol.14(1). – P.13–19.

62. Endometrial hyperplasia and the risk of coexistent cancer: WHO versus

EIN criteria / A. Travaglino, A. Raffone, G. Saccone [et al.]. – Текст : непосредственный // *Histopathology*. – 2019. – Vol.74(5). – P.676–687.

63. Gallos, I. D. Management of Endometrial Hyperplasia / I. D. Gallos, M. Alazzam, T. J. Clark. – Текст : непосредственный // *RCOG/BSGE Green-top Guideline*. – 2016. – Vol.67. – P. 2–30.

64. World Health Organization Histologic typing of tumors of the female genital tract / R. E. Scully, T. A. Bonfiglio, R. J. Kurman [et al.]. – Текст : непосредственный. – Heidelberg, Springer : Verlag, 1994. – P. 26–28.

65. Comparison of the reproducibility of the WHO classifications of 1975 and 1994 of endometrial hyperplasia / B. G. Skov, H. Broholm, U. Engel [et al.]. – Текст : непосредственный // *Int J Gynecol Pathol*. – 1997. – Vol.16(1). – P.33–37.

66. Kurman, R. J. Endometrial hyperplasia and related cellular changes / R. J. Kurman, H. J. Norris. – Текст : непосредственный // *Blaustein's pathology of the female genital tract*. – 5 ed. / Ed. Kurman R.J. – New York, Springer : Verlag, 1995. – P. 411–437.

67. Grundker, C. Hormonal heterogeneity of endometrial cancer / C. Grundker, A. R. Gunthert, G. Emons. – Текст : непосредственный // *Adv. Exp. Med. Biol*. – 2008. – Vol. 630. – P. 166–188.

68. Akça, K.T. The Role of Aromatase Enzyme in Hormone Related Diseases and Plant- Based Aromatase Inhibitors as Therapeutic Regimens / K. T. Akça, M. A. Demirel, I. Süntar. – Текст : непосредственный // *Curr Top Med Chem*. – 2022. – Vol.22(3). – P. 229–246.

69. Differential expression of inflammatory cytokines, prostaglandin synthases and secretory leukocyte protease inhibitor in the endometrium and circulation in different graded CEH-pyometra in bitch / J. K. Sasidharan, M. K. Patra, J. A. Khan [et al.]. – Текст : непосредственный // *Theriogenology*. – 2023. – Vol.197. – P.139–149.

70. Hyperandrogenism and Its Possible Effects on Endometrial Receptivity: A Review / A. N. M. Yusuf, M. F. Amri, A. Ugusman [et al.]. – Текст : непосредственный // *Int J Mol Sci*. – 2023. – Vol.24(15). – P.12026.

71. Bulun, S. E. Aromatase expression in women's cancers / S. E. Bulun, E. R. Simpson. – Текст : непосредственный // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2008. – Vol. 630. – P. 112–132.

72. Estrogen Receptor Function : Impact on the Human Endometrium / K. Yu, Z. Y. Huang, X. L. Xu [et al.]. – Текст : непосредственный // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2022. – Vol.13. – P. 827724.

73. Breast Cancer : Targeting of Steroid Hormones in Cancerogenesis and Diagnostics / M. Valko-Rokytkovská, P. Očenáš, A. Salayová, Z. Kostecká. – Текст : непосредственный // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol.22(11). – P. 5878.

74. Endometrial Stromal Expression of ER, PR, and B-Catenin Toward Differentiating Hyperplasia Diagnoses / P. Chatzipantelis, M. Koukourakis, K. Balaska, A. Giatromanolaki. – Текст : непосредственный // *Int J Surg Pathol.* – 2022. – Vol.30(5). – P. 492–498.

75. Antiproliferative effects of antiestrogens and inhibitors of growth factor receptor signaling on endometrial cancer cells / M. Block, S. Fister, G. Emons [et al.]. – Текст : непосредственный // *Anticancer Res.* – 2010. – Vol.30(6). – P.2025–2031.

76. Effects of α and β recombinant FSH (Gonal-F, Puregon) and progesterone upon human endometrial cell proliferation in-vitro: a preliminary study / C. C. Chang, Y. Y. Hsieh, K. H. Hsu, C. S. Lin. – Текст : непосредственный // *Gynecol Endocrinol.* – 2011. – Vol.27(2). – P.110–116.

77. Expression and correlation of Bcl-2, ER and PR in endometrial hyperplasia / J. Wu, Y. Xue, L. Lin [et al.]. – Текст : непосредственный // *Minerva Med.* – 2023. – Vol.114(2). – P. 269–271.

78. Endometrial carcinoma : molecular subtypes, precursors and the role of pathology in early diagnosis / J. Huvila, J. Pors, E. F. Thompson, C. B. Gilks. – Текст : непосредственный // *J Pathol.* – 2021. – Vol.253(4). – P.355–365.

79. Mutational profile of endometrial hyperplasia and risk of progression to endometrioid adenocarcinoma / M. Russo, J. M. Newell, L. Budurlean [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cancer.* – 2020. – Vol.126(12). – P. 2775–2783.

80. Proteomic analysis in endometrial cancer and endometrial hyperplasia tissues by 2D-DIGE technique / Y. Ceylan, G. Akpınar, E. Doger [et al.]. Текст : непосредственный // *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* – 2020. – Vol.49(2). – P. 101652.

81. Aplin, J. D. Embryo-epithelium interactions during implantation at a glance / J.D. Aplin, P. T. Ruane. – Текст : непосредственный // *J. Cell Sci.* – 2017. – Vol.130. – P. 15–22.

82. Buffone, M.G. The role of the acrosomal matrix in fertilization / M.G. Buffone, J. A. Foster, G. L. Gerton. – Текст : непосредственный // *Int. J. Dev. Biol.* – 2008. – Vol. 52(5–6). –P.511–522.

83. The role of metalloproteinases in endometrial remodelling during menstrual cycle / B. Grzechocińska, F. Dąbrowski, A. Cyganek [et al.]. – Текст : непосредственный // *Ginekol Pol.* – 2017. – Vol.88(6). – P. 337–342.

84. Causes and consequences of sperm mitochondrial dysfunction /D. Durairajanayagam, D. Singh, A. Agarwal, R. Henkel. – Текст : непосредственный // *Andrologia.* –2021. – Vol.53(1). –P. e13666.

85. ACROSIN deficiency causes total fertilization failure in humans by preventing the sperm from penetrating the zona pellucid / R. Hua, R. Xue, Y. Liu [et al.]. – Текст : непосредственный // *Hum Reprod.* – 2023. – Vol.38(6). – P.1213–1223.

86. Russell, D. L. ADAMTS proteases in fertility / D. L. Russell, H. M. Brown, K. R. Dunning. – Текст : непосредственный // *Matrix Biol.* – 2015. – Vol.44–46. – P.54–63.

87. TMPRSS12 Functions in Meiosis and Spermiogenesis and Is Required for Male Fertility in Mice / J. Zhang, X. Zhou, D. Wan [et al.]. – Текст : непосредственный // *Front Cell Dev Biol.* – 2022. – Vol.10. – P.757042.

88. Watanabe, H. Extracellular matrix--regulation of cancer invasion and metastasis / H. Watanabe. – Текст : непосредственный // *Gan. To Kagaku Ryoho.* – 2010. –Vol. 37, N 11. – P. 2058–2061.

89. Organoid co-culture model of the human endometrium in a fully synthetic

extracellular matrix enables the study of epithelial-stromal crosstalk / J. S. Gnecco, A. Brown, K. Buttrey [et al.]. – Текст : непосредственный // *Med.* – 2023. – Vol.4(8). – P.554–579.e9.

90. Flores-Reséndiz, D. Proteases in cancer progression / D. Flores-Reséndiz, E. Castellanos-Juárez, L. Benítez-Bribiesca. – Текст : непосредственный // *Gac. Med. Mex.* – 2009. – Vol. 145, N 2. – P.131–142.

91. Martin, C. E. Cell surface-anchored serine proteases in cancer progression and metastasis / C. E. Martin, K. List. – Текст : непосредственный // *Cancer Metastasis Rev.* – 2019. – Vol.38(3) – P.357–387.

92. A sellsword of cancer progression / O. Mijanović, A. Branković, A. N. Panin [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cancer Lett.* – 2019. – Vol. 449. – P.207–214.

93. Cathepsins : Proteases that are vital for survival but can also be fatal / S. Patel, A. Homaei, H. R. El-Seedi, N. Akhtar. – Текст : непосредственный // *Biomed Pharmacother.* – 2018. – Vol.105. – P. 526–532.

94. Defective autophagy contributes to endometrial epithelial-mesenchymal transition in intrauterine adhesions / Z. Zhou, H. Wang, X. Zhang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Autophagy.* – 2022. – Vol.18(10). – P.2427–2442.

95. Turk, B. Lysosomes cysteine proteases; more than scavengers / B. Turk, D. Turk, V. Turk. – Текст : непосредственный // *Biochimica et biophysica acta.* – 2000. – Vol. 1477. – P. 98–111.

96. The Role of Cysteine Protease Cathepsins B, H, C, and X/Z in Neurodegenerative Diseases and Cancer / V. Stoka, O. Vasiljeva, H. Nakanishi, V. Turk. – Текст : непосредственный // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol.24(21). – P.15613.

97. Cysteine Cathepsins in Tumor-Associated Immune Cells / T. Jakoš, A. Pišlar, A. Jewett, J. Kos. – Текст : непосредственный // *Front Immunol.* – 2019. – Vol.10. – P.2037.

98. Hölzen, L. Tumor cell- and microenvironment-specific roles of cysteine cathepsins in mouse models of human cancers / L. Hölzen, M. A. Parigiani, T.

Reinheckel. – Текст : непосредственный // *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.* – 2020. – Vol.1868(7). – P. 140423.

99. Cathepsin B in human myometrium and in uterine leiomyomas at various stages of tumour growth / T. Gogiel, M. Wolańska, Z. Galewska [et al.]. – Текст : непосредственный // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2015. – Vol.185. – P.140–4.

100. The Role of Cathepsin B in Pathophysiologies of Non-tumor and Tumor tissues: A Systematic Review / J. Wang, M. Zheng, X. Yang [et al.]. – Текст : непосредственный // *J Cancer.* – 2023. – Vol.14(12). – P.2344–2358.

101. Lobov, S. Molecular competition between plasminogen activator inhibitors type -1 and -2 for urokinase : Implications for cellular proteolysis and adhesion in cancer / S. Lobov, M. Ranson. – Текст : непосредственный // *Cancer Lett.* – 2011. – Vol. 303, N 2. – P.118–127.

102. SERPINE2, an inhibitor of plasminogen activators, is highly expressed in the human endometrium during the secretory phase / R. K. Lee, C. C. Fan, Y. M. Hwu [et al.]. – Текст : непосредственный // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2011. – Vol.9. – P.38.

103. Prognostic significance of VEGF and components of the plasminogen activator system in endometrial cancer / K. Abbink, P. L. M. Zusterzeel, A. Geurts-Moespot [et al.]. – Текст : непосредственный // *J Cancer Res Clin Oncol.* – 2020. – Vol.146(7). – P.1725–1735.

104. Cui, N. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases / N. Cui, M. Hu, R. A. Khalil // *Prog Mol Biol Transl Sci.* – 2017. – Vol.147. –P.1–73.

105. Bassiouni, W. Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease / W. Bassiouni, M. A. M. Ali, R. Schulz. – Текст : непосредственный // *FEBS J.* – 2021. – Vol.288(24). – P.7162–7182.

106. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases / G. A. Cabral-Pacheco, I. Garza-Veloz, C. Castruita-De la Rosa [et al.]. – Текст : непосредственный // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol.21(24). – P.9739.

107. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: A minireview / S. Mondal, N. Adhikari, S. Banerjee [et al.]. – Текст : непосредственный // Eur J Med Chem. – 2020. – Vol.194. – P.112260.
108. Hey, S. Matrix metalloproteinases at a glance / S. Hey, S. Linder. – Текст : электронный // J Cell Sci. – 2024. – Vol.137(2). – jcs261898.
109. Matrix metalloproteinases: evolution, gene regulation and functional analysis in mouse models / M. Fanjul-Fernández, A.R. Folgueras, S. Cabrera, C. López-Otín. – Текст : непосредственный // Biochim Biophys Acta. – 2010. – Vol. 1803, N 1. – P.3–19.
110. Protein kinase D1 regulates matrix metalloproteinase expression and inhibits breast cancer cell invasion / T. Eiseler, H. Döppler, I. K. Yan [et al.]. – Текст : непосредственный // Breast Cancer Res. – 2009. – Vol. 11, N 1. – P.R13.
111. Matrix Metalloproteinases' Role in Tumor Microenvironment / G. Gonzalez-Avila, B. Sommer, A. A. García-Hernández, C. Ramos. – Текст : непосредственный // Adv Exp Med Biol. – 2020. – Vol.1245. –P.97–131.
112. Bourboulia, D. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion / D. Bourboulia, W.G. Stetler-Stevenson. – Текст : непосредственный // Semin Cancer Biol. – 2010. – Vol.20, N 3. – P. 161–168.
113. Henriet, P. Matrix metalloproteinase-2: Not (just) a "hero" of the past / P. Henriet, H. Emonard. – Текст : непосредственный // Biochimie. – 2019. – Vol.166. – P. 223–232.
114. Li, S. Regulation and Function of Matrix Metalloproteinase-13 in Cancer Progression and Metastasis / S. Li, D. M. Pritchard, L. G. Yu. – Текст : непосредственный // Cancers (Basel). – 2022. – Vol.14(13). – P. 3263.
115. Matrix Metalloproteinases Inhibitors in Cancer Treatment : An Updated Review (2013-2023) / S. Almutairi, H. M. Kalloush, N. A. Manoon, S. K. Bardaweel. – Текст : непосредственный // Molecules. – 2023. – Vol.28(14). – P.5567.
116. Functional disparities within the TIMP family in cancer: hints from

molecular divergence / C. Eckfeld, D. Häußler, B. Schoeps [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cancer Metastasis Rev.* – 2019. – Vol.38(3). – P.469–481.

117. The TIMP protein family : diverse roles in pathophysiology / S. Coates-Park, J. A. Rich, W. G. Stetler-Stevenson, D. Peeney. – Текст : непосредственный // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2024. – Vol.326(3). – P. C917–C934.

118. Insights into the immunomodulatory regulation of matrix metalloproteinase at the maternal-fetal interface during early pregnancy and pregnancy-related diseases / M. Jing, X. Chen, H. Qiu [et al.]. – Текст : непосредственный // *Front Immunol.* – 2023. – Vol.13. – P. 1067661.

119. Regulation of matrix metalloproteinases activity studied in human endometrium as a paradigm of cyclic tissue breakdown and regeneration / H. P. Gaide Chevronnay, C. Selvais, H. Emonard [et al.]. – Текст : непосредственный // *Biochim Biophys Acta.* – 2012. – Vol.1824(1). – P.146–56.

120. Neutrophil Elastase and Neutrophil Extracellular Traps in the Tumor Microenvironment / H. Huang, H. Zhang, A. E. Onuma, A. Tsung. – Текст : непосредственный // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – Vol.1263. – P.13–23.

121. Kettritz, R. Neutral serine proteases of neutrophils / R. Kettritz. – Текст : непосредственный // *Immunol Rev.* – 2016. – Vol.273(1). – P.232–48.

122. Lerman, I. Neutrophil elastase in the tumor microenvironment / I. Lerman, S. S. R. Hammes. – Текст : непосредственный // *Steroids.* – 2018. – Vol.133 – P.96–101.

123. Role of protease and protease inhibitors in cancer pathogenesis and treatment / A. Eatemadi, H. T. Aiyelabegan, B. Negahdari [et al.]. – Текст : непосредственный // *Biomed Pharmacother.* – 2017. – Vol.86. – P.221–231.

124. Sanrattana, W. SERPINS-From Trap to Treatment / W. Sanrattana, C. Maas, S. de Maat. – Текст : непосредственный // *Front Med (Lausanne).* – 2019. – Vol.6. – P.25.

125. Alpha-1-antitrypsin deficiency: Genetic variations, clinical manifestations and therapeutic interventions / Y. M. Hazari, A. Bashir, M. Habib [et al.]. – Текст : непосредственный // *Mutat Res Rev Mutat Res.* – 2017. – Vol.773.

– P.14–25.

126. Biller, J.D. Oxidative stress and fish immune system : phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity / J. D. Biller, L. S. Takahashi. – Текст : непосредственный // *An Acad Bras Cienc.* – 2018. – Vol.90(4). – P.3403–3414.

127. Effects of venoms on neutrophil respiratory burst : a major inflammatory function / J. El-Benna, M. Hurtado-Nedelec, M. A. Gougerot-Pocidalò, P. M. Dang. – Текст : непосредственный // *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* – 2021. – Vol.27. – P.e20200179.

128. Thomas, D. C. The phagocyte respiratory burst : Historical perspectives and recent advances / D. C. Thomas. – Текст : непосредственный // *Immunol Lett.* – 2017. – Vol.192. – P.88–96.

129. The role of the host-Neutrophil biology / I. L. C. Chapple, J. Hirschfeld, A. Kantarci [et al.]. – Текст : электронный // *Periodontol 2000.* – 2023. May 18. doi: 10.1111/prd.12490.

130. Stockley, R.A. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency : Have We Got the Right Proteinase? / R. A. Stockley. – Текст : непосредственный // *Chronic Obstr Pulm Dis.* – 2020. – Vol.7(3). – P. 163–171.

131. Alpha-1 antitrypsin in autoimmune diseases: Roles and therapeutic prospects / R. Sun, Z. Xu, C. Zhu [et al.]. – Текст : электронный // *Int Immunopharmacol.* –2022. Sep;110:109001. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109001. Epub 2022, 6 июля.

132. Ismail, A. A. The Plasminogen-Activator Plasmin System in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis / A. A. Ismail, B. T. Shaker, K. Bajou. – Текст : непосредственный // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol.23(1). – P.337.

133. Biological wound matrices with native dermis-like collagen efficiently modulate protease activity / R. Tati, S. Nordin, S. M. Abdillahi, M. Mörgelin. – Текст : непосредственный // *J Wound Care.* – 2018. – Vol.27(4). – P. 199–209.

134. Unus pro omnibus, omnes pro uno: A novel, evidence-based, unifying theory for the pathogenesis of endometriosis /A. S. Laganà, S. G. Vitale, F. M. Salmeri [et al.]. – Текст : непосредственный // *Med Hypotheses.* –2017. – Vol.103.

–P. 10–20.

135. Immunology of endometriosis / L. D. G. C. Riccio, P. Santulli, L. Marcellin [et al.]. – Текст : непосредственный // Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. – 2018. – Vol.50. – P.39–49.

136. Expression of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Endometrium: High Levels in Endometriotic Lesions /A. Luddi, C. Marrocco, L. Governini [et al.]. – Текст : непосредственный // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol.21(8). – P.2840.

137. Expression of laminin-1 and matrix metalloproteinase-9 in benign and malignant endometrium / Z. Küçükaydın, M. Başaran, Y. Ünlü [et al.]. – Текст : непосредственный // Turk J Med Sci. – 2023. – Vol.53(1). – P.149–159.

138. Metalloproteinase-2, -7 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium : a clinical-pathological correlation study / O. Graesslin, A. Cortez, R. Fauvet [et al.]. – Текст : непосредственный // Ann Oncol. – 2006. – Vol.17(4). – P.637–645.

139. Valsamakis, G. Stress, female reproduction and pregnancy / G. Valsamakis, G. Chrousos, G. Mastorakos. – Текст : непосредственный // Psychoneuroendocrinology. – 2019. – Vol.100 – P.48–57.

140. Correlation of Leptin, Proinflammatory Cytokines and Oxidative Stress with Tumor Size and Disease Stage of Endometrioid (Type I) Endometrial Cancer and Review of the Underlying Mechanisms / C. Madeddu, E. Sanna, G. Gramignano [et al.]. – Текст : непосредственный // Cancers (Basel). – 2022. – Vol.14(2). – P.268.

141. Increased natural killer cells and decreased regulatory T cells are seen in complex atypical endometrial hyperplasia and well-differentiated carcinoma treated with progestins / A. K. Witkiewicz, T. McConnell, M. Potoczek [et al.]. – Текст : непосредственный // Hum Pathol. – 2010. – Vol.41(1). – P.26–32.

142. Casas-Arozamena, C. Endometrial Tumour Microenvironment / C. Casas-Arozamena, M. Abal. – Текст : непосредственный // Adv Exp Med Biol. –

2020. – Vol.1296. – P.215–225.

143. Suppression of lipopolysaccharide-stimulated tumor necrosis factor- α production by adiponectin is mediated by transcriptional and post-transcriptional mechanisms / P. H. Park, H. Huang, M. R. McMullen [et al.]. – Текст : непосредственный // *J Biol Chem.* – 2008. – Vol.283(40). – P.26850–26858.

144. Transient receptor potential melastatin 2 is required for lipopolysaccharide-induced cytokine production in human monocytes / J. Wehrhahn, R. Kraft, C. Harteneck, S. Hauschildt. – Текст : непосредственный // *J Immunol.* – 2010. – Vol.184(5). – P.2386–2393.

145. Circulating inflammatory cytokines and risk of five cancers: a Mendelian randomization analysis / E. Bouras, V. Karhunen, D. Gill [et al.]. – Текст : непосредственный // *BMC Med.* – 2022. – Vol.20(1). – P.3.

146. Inflammation and cancer / N. Singh, D. Baby, J. P. Rajguru [et al.]. – Текст : непосредственный // *Ann Afr Med.* – 2019. – Vol.18(3). – P.121–126.

147. Khandia, R. Interplay between inflammation and cancer / R. Khandia, A. Munjal. – Текст : непосредственный // *Adv Protein Chem Struct Biol.* – 2020. – Vol.119 – P.199–245.

148. Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms / E. Elinav, R. Nowarski, C. A. Thaiss [et al.] // *Nat Rev Cancer.* – 2013. – Vol.13(11). – P.759–71.

149. Advances in research on the interaction between inflammation and cancer / X. D. Song, Y. N. Wang, A. L. Zhang, B. Liu. – Текст : электронный // *J Int Med Res.* – 2020. – Vol.48(4):300060519895347. – doi : 10.1177/0300060519895347.

150. Murata, M. Inflammation and cancer / M. Murata. – Текст : непосредственный // *Environ Health Prev Med.* – 2018. – Vol.23(1). – P. 50.

151. NF- κ B : At the Borders of Autoimmunity and Inflammation / L. Barnabei, E. Laplantine, W. Mbongo [et al.]. – Текст : электронный // *Front Immunol.* – 2021. – Vol.12.716469. – doi : 10.3389/fimmu.2021.716469.

152. Lan, T. Inflammatory Cytokines in Cancer: Comprehensive

Understanding and Clinical Progress in Gene Therapy / T. Lan, L. Chen, X. Wei. – Текст : непосредственный // Cells. – 2021. – Vol.10(1). – P.100.

153. Monitoring the Levels of Cellular NF- κ B Activation States / J. Meier-Soelch, C. Mayr-Buro, J. Juli [et al.]. – Текст : непосредственный // Cancers (Basel). – 2021. – Vol.13(21). – P.5351.

154. Inflammation, NF- κ B, and Chronic Diseases: How are They Linked? / A. B. Kunnumakara, B. Shabnam, S. Girisa [et al.]. – Текст : непосредственный // Crit Rev Immunol. – 2020. – Vol.40(1). – P. 1–39.

155. TNF stimulation primarily modulates transcriptional burst size of NF- κ B-regulated genes / V. L. Bass, V. C. Wong, M. E. Bullock [et al.]. – Текст: электронный // Mol Syst Biol. – 2021. – Vol.17(7):e10127. – doi: 10.15252/msb.202010127.

156. NF- κ B : Governing Macrophages in Cancer / J. Cornice, D. Verzella, P. Arboretto [et al.]. – Текст : непосредственный // Genes (Basel). – 2024. – Vol.15(2). – P.197.

157. Biasizzo, M. Interplay Between NLRP3 Inflammasome and Autophagy / M. Biasizzo, N. Kopitar-Jerala. – Текст : электронный // Front Immunol. – 2020. – Vol.11:591803. – doi: 10.3389/fimmu.2020.591803.

158. Fu, J. Structural Mechanisms of NLRP3 Inflammasome Assembly and Activation / J. Fu, H. Wu. – Текст : непосредственный // Annu Rev Immunol. – 2023. – Vol.41 – P.301–316.

159. Bullon, P. Inflammasome as a Key Pathogenic Mechanism in Endometriosis / P. Bullon, J. M. Navarro. – Текст : непосредственный // Curr Drug Targets. – 2017. – Vol.18(9). – P.997–1002.

160. Kumar, V. The complement system, toll-like receptors and inflammasomes in host defense: three musketeers' one target / V. Kumar. – Текст : непосредственный // Int Rev Immunol. – 2019. – Vol.38(4). – P.131–156.

161. The Role of NLRP3 Inflammasomes in Trained Immunity / G. Lee, H. Ahn, E. Lee, G. S.Lee. – Текст : непосредственный // Front Biosci (Landmark Ed). – 2023. – Vol.28(9). – P.210.

162. van Loo, G. Death by TNF: a road to inflammation / G. van Loo, M. J. M. Bertrand. – Текст : непосредственный // *Nat Rev Immunol.* – 2023. – Vol.23(5). – P.289–303.
163. The dual role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in breast cancer: molecular insights and therapeutic approaches /D. Cruceriu, O. Baldasici, O. Balacescu, I. Berindan-Neagoe. – Текст : непосредственный // *Cell Oncol (Dordr).* – 2020. – Vol.43(1). –P.1–18.
164. Choksi, S. Transition from TNF-Induced Inflammation to Death Signaling / S. Choksi, G. Choudhary, Z. G. Liu. – Текст : непосредственный // *Methods Mol Biol.* – 2021. –Vol.2248. – P. 73–80.
165. Immunogenicity of TNF-Inhibitors / S. Atiqi, F. Hooijberg, F. C. Loeff [et al.]. – Текст : непосредственный // *Front Immunol.* – 2020. – Vol.11. – P. 312.
166. Inflammation-targeted therapies and cancer / J. Kedra, G. Nocturne, X. Mariette, R. Seror. – Текст : электронный // *Joint Bone Spine.* – 2021 – Vol.88(4):105176. – doi: 10.1016/j.jbspin.2021.105176.
167. Do tumor necrosis factor inhibitors increase cancer risk in patients with chronic immune-mediated inflammatory disorders? / Y. Chen, M. Friedman, G. Liu [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cytokine.* – 2018. – Vol.101. – P.78–88.
168. Anti-inflammatory and immune-regulatory cytokines in rheumatoid arthritis / Z. Chen, A. Vozec, A. Ramming [et al.]. – Текст : непосредственный // *Nat Rev Rheumatol.* – 2019. – Vol.15. – P. 9–17.
169. Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects / A. K. Abbas, E. R. Trota, D. Simeonov [et al.]. – Текст : электронный // *Sci Immunol.* – 2018. – Vol.3(25):eaat1482. –doi: 10.1126/sciimmunol.aat1482.
170. Sprent, J. Optimising IL-2 for Cancer Immunotherapy /J. Sprent, O. Boyman. – Текст : электронный // *Immune Netw.* – 2024 – Vol.24(1):e5. – doi: 10.4110/in.2024.24.e5.
171. Ахметова, Е. С. Диагностическое значение цитокинов в аспирате из полости матки при заболеваниях эндометрия / Е. С. Ахметова, Т. Е. Белокриницкая, Ю. А. Витковский. – Текст : непосредственный //

Дальневосточный медицинский журнал. – 2008. – N 1. – С. 72–74.

172. Endometrial Cancer and BRCA Mutations : A Systematic Review / M. L. Gasparri, S. Bellaminutti, A. A. Farooqi [et al.]. – Текст : электронный // J Clin Med. – 2022. – Vol.11(11):3114. –doi: 10.3390/jcm11113114.

173. Immunohistochemical analysis of steroid receptors, proliferation markers, apoptosis related molecules, and gelatinases in non-neoplastic and neoplastic endometrium / C.Amalinei, C. Cianga, R. Balan [et al.]. – Текст : непосредственный // Ann Anat. – 2011. – Vol.20(1). – P.43–55.

174. Determining the level of stromal and epithelial cells activity in normal and hyperplastic endometrium of late reproductive and perimenopausal women / Z. V. Chumak, V. V. Artyomenko, M. V. Shapoval [et al.]. – Текст : непосредственный // J Med Life. – 2023. – Vol.16(2). – P.210–214.

175. Atypical endometrial hyperplasia and unexpected cancers at final histology: a study on endometrial sampling methods and risk factors / L. Giannella, G. Delli Carpini, F. Sopracordevole [et al.]. – Текст : непосредственный // Diagnostics (Basel). – 2020. – N 10(7). – P.474.

176. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma / C. Kandoth, N. Schultz, A. D. Cherniack [et al.]. – Текст: непосредственный // Nature. – 2013. – Vol.497(7447). – P.67–73.

177. Ovarian and endometrial endometrioid carcinomas have distinct CTNNB1 and PTEN mutation profiles / M. K. McConechy, J. Ding, J. Senz [et al.]. – Текст : непосредственный // Mod. Pathol. – 2014. – Vol.27(1). – P.128–134.

178. Use of mutation profiles to refine the classification of endometrial carcinomas / M. K. McConechy, J. Ding, M. C. Cheang [et al.]. – Текст : непосредственный // J. Pathol. – 2012. – Vol.228(1). – P.20–30.

179. Endometrial Carcinoma : Specific Targeted Pathways / N. Eritja, A. Yeramian, B. J. Chen [et al.]. – Текст : непосредственный // Adv Exp Med Biol. – 2017. – Vol.943. – P.149–207.

180. Integrated miRNA and mRNA omics reveal dioscin suppresses

migration and invasion via MEK/ERK and JNK signaling pathways in human endometrial carcinoma in vivo and in vitro / X. L. Li, X. X. Zhang, R. H. Ma, [et al.]. – Текст : электронный // J Ethnopharmacol. – 2023. – Vol.303:116027. – doi: 10.1016/j.jep.2022.116027.

181. The Role of Hypoxia in Endometrial Cancer / Y. M. Salinas-Vera, D. Gallardo-Rincón, E. Ruíz-García [et al.]. – Текст : непосредственный // Curr Pharm Biotechnol. – 2022. – Vol.23(2). – P.221–234.

182. Regulatory mechanisms of hypoxia-inducible factor 1 activity : Two decades of knowledge / S. Koyasu, M. Kobayashi, Y. Goto [et al.]. – Текст : непосредственный // Cancer Sci. – 2018. – Vol.109(19). – P.560–571.

183. Hypoxia-inducible factor-1alpha promotes endometrial stromal cells migration and invasion by upregulating autophagy in endometriosis / H. Liu, Z. Zhang, W. Xiong [et al.]. – Текст : непосредственный // Reproduction. – 2017. – Vol.153(6). – P.809–820.

184. Hypoxia-inducible factor-1 as a therapeutic target in endometrial cancer management / L. M. Seeber, R. P. Zweemer, R. H. Verheijen [et al.]. – Текст : непосредственный // Obstet. Gynecol. Int. – 2010. – Vol.2010(18). – P.580971.

185. Kettran, W.A. Expression of CD117, CD34, and VEGF proteins in progression from endometrial hyperplasia to endometrioid carcinoma / W. A. Hassan, R. Ibrahim. – Текст : непосредственный // Int J Clin Exp Pathol. – 2020. – Vol.13(8). – P.2115–2122.

186. Adipose-Derived VEGF-mTOR Signaling Promotes Endometrial Hyperplasia and Cancer : Implications for Obese Women / S. S. Sahoo, J. M. Lombard, Y. Ius [et al.]. – Текст : непосредственный // Mol. Cancer Res. – 2018. – Vol.16(2). – P.309–321.

187. Effects of estradiol on VEGF and bFGF by Akt in endometrial cancer cells are mediated through the NF-kappaB pathway / J. Zhang, H. Song, Y. Lu [et al.]. – Текст : непосредственный // Oncol. Rep. – 2016. – Vol.36(2). – P.705–714.

188. PI3K/mTOR pathway inhibition overcomes radioresistance via suppression of the HIF1-alpha/VEGF pathway in endometrial cancer / A. Miyasaka,

K. Oda, Y. Ikeda [et al.]. – Текст : непосредственный // *Gynecol. Oncol.* – 2015. – Vol.138(1). – P.174–180.

189. Clinical significance of pretreatment serum levels of VEGF and its receptors, IL- 8, and their prognostic value in type I and II endometrial cancer patients / B. Kotowicz, M. Fuksiewicz, J. Jonska-Gmyrek [et al.]. – Текст : непосредственный // *PLoS ONE.* – 2017. – Vol.12(10). – P.e0184576.

190. Mahecha, A. M. The influence of vascular endothelial growth factor-A and matrix metalloproteinase-2 and -9 in angiogenesis, metastasis, and prognosis of endometrial cancer / A. M. Mahecha, H. Wang. – Текст : непосредственный // *Oncotargets Ther.* – 2017. – N 10. – P. 4617–4624.

191. Hypoxia and angiogenesis in endometrioid endometrial carcinogenesis / N. Horree, P.J. P. van Diest, P. van der Groep [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cell. Oncol.* – 2007. – Vol.29(3). – P.219–227.

192. Sahoo, S. S. VEGF-mTOR signaling links obesity and endometrial cancer / S. S. Sahoo, P. S. Tanwar. – Текст : непосредственный // *Oncoscience.* – 2018. – Vol.5(5–6). – P.150–151.

193. Lymphangiogenesis of normal endometrium and endometrial adenocarcinoma / J. F. Donoghue, F. L. Lederman, B. J. Susil [et al.]. – Текст : непосредственный // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol.22(6). – P.1705–1713.

194. Targeting angiogenesis in endometrial cancer — New agents for tailored treatments / A. Papa, E. Zaccarelli, D. Caruso [et al.]. – Текст : непосредственный // *Exp. Opin. Investig. Drugs.* – 2016. – Vol.25(1). – P.31–49.

195. Activation of PI3K/Akt/mTOR pathway and dual inhibitors of PI3K and mTOR in endometrial cancer / J. Chen, K. N. Zhao, R. Li [et al.]. – Текст : непосредственный // *Curr. Med. Chem.* – 2014. – Vol.21(26). – P. 3070–3080.

196. Lack of estrogen receptor-alpha is associated with epithelial-mesenchymal transition and PI3K alterations in endometrial carcinoma / E. Wik, M. B. Raeder, C. Krakstad [et al.]. – Текст : непосредственный // *Clin. Cancer Res.* – 2013. – Vol.19(5). – P.1094–1105.

197. Dual Inhibition of PI3K/AKT and MEK/ERK Pathways Induces

Synergistic Antitumor Effects in Diffuse Intrinsic Pontine Glioma Cells / Y. L. Wu, U.B. Maachani, M. Schweitzer [et al.]. – Текст : непосредственный // *Transl. Oncol.* – 2017. – Vol.10(2). – P.221–228.

198. Inhibition of PI3K-AKT-mTOR pathway sensitizes endometrial cancer cell lines to PARP inhibitors / C. A. Philip, I. Laskov, M. C. Beauchamp [et al.]. – Текст : непосредственный // *BMC Cancer.* – 2017. – Vol.17(1). – P.638.

199. Integrated genomic profiling of endometrial carcinoma associates aggressive tumors with indicators of PI3 kinase activation / H. B. Salvesen, S. L. Carter, M. Mannelqvist [et al.]. – Текст : непосредственный // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – Vol.106. – P.4834–4839.

200. Oda, K. Targeting Ras-PI3K/mTOR pathway and the predictive biomarkers in endometrial cancer / K. Oda, Gan Kagaku Ryoho. – Текст : непосредственный // *Cancer Chemother.* – 2011. – Vol.38(7). – P.1084–1087.

201. Kestler, Hans A. From individual Wnt pathways towards a Wnt signalling network / A. Kestler Hans, M. Kühl. – Текст : непосредственный // *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* – 2008. – Vol.363(1495). – P.1333–1347.

202. Yang, Y. Wnt signaling in development and disease / Y. Yang. – Текст : непосредственный // *Cell Biosci.* – 2012. – Vol.2(1). – P.14.

203. Role of canonical Wnt signaling in endometrial carcinogenesis / T. H. Dellinger, K. Planutis, K. S. Tewari [et al.]. – Текст : непосредственный // *Expert Rev. Anticancer Ther.* – 2012. – Vol.12(1). – P.51–62.

204. An update of Wnt signalling in endometrial cancer and its potential as a therapeutic target / A. Coopes, C. E. Henry, E. Llamosas [et al.]. – Текст : непосредственный // *Endocr. Relat. Cancer.* – 2018. – Vol.25, N 12. – P.R647–R662.

205. Signalling pathways in endometrial cancer / A. Markowska, M. Pawałowska, J. Lubin [et al.] // *Contemp. Oncol.* – 2014. – Vol.18(3). – P.143–148.

206. Targeting Wnt-driven cancer through the inhibition of Porcupine by LGK974 / J. Liu, S. Pan, M. H. Hsieh [et al.]. – Текст : непосредственный // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – Vol.110(50). – P. 20224–20229.

207. Wnt/ β -Catenin Pathway Regulates Cementogenic Differentiation of Adipose Tissue-Deprived Stem Cells in Dental Follicle Cell-Conditioned Medium / N. Liu, B. Gu, N. Liu [et al.]. – Текст : непосредственный // PLoS ONE. – 2014. – Vol.9(5). – P.e93364.
208. Progesterone Inhibition of Wnt/ β -Catenin Signaling in Normal Endometrium and Endometrial Cancer / Y. Wang, P. Hanifi-Moghaddam, E. E. Hanekamp [et al.]. – Текст : непосредственный // Clin. Cancer Res. – 2009. – Vol.15(18). – P.5784–5793.
209. Wnt/ β -catenin and sex hormone signaling in endometrial homeostasis and cancer / Y. Wang, M. van der Zee, R. Fodde [et al.]. – Текст : непосредственный // Oncotarget. – 2010. – Vol.1(7). – P.674–684.
210. Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling / P. Yaşar, G. Ayaz, S. D. User [et al.]. – Текст : непосредственный // Reprod. Med. Biol. – 2017. – Vol.16(1). – P.4–20.
211. Kim, J. J. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer / J. J. Kim, T. Kurita, S. E. Bulun. – Текст : непосредственный // Endocr. Rev. – 2013. – Vol.34(1). – P.130–162.
212. Novel Aspects Concerning the Functional Cross-Talk between the Insulin/IGF-I System and Estrogen Signaling in Cancer Cells / P. De Marco, F. Cirillo, A. Vivacqua [et al.]. – Текст : непосредственный // Front. Endocrinol. – 2015. – №6. – P.30.
213. Insulin-like growth factor-I regulates GPER expression and function in cancer cells / P. De Marco, V. Bartella, A. Vivacqua [et al.]. – Текст : непосредственный // Oncogene. – 2013. – Vol.32(6). – P.678–688.
214. Cancer-associated fibroblasts induce epithelial-mesenchymal transition through secreted cytokines in endometrial cancer cells / X. Wang, W. Zhang, X. Sun [et al.]. – Текст : непосредственный // Oncol Lett. – 2018. – Vol.15(4). – P. 5694–5702.
215. Piera-Velazquez, S. Endothelial to Mesenchymal Transition: Role in Physiology and in the Pathogenesis of Human Diseases / S. Piera-Velazquez, S. A.

Jimenez. – Текст : непосредственный // *Physiol Rev.* – 2019. – Vol.99(2). – P. 1281–1324.

216. Kent, C. N. Regulation of epithelial-mesenchymal transition in endometrial cancer : Connecting PI3K, estrogen signaling, and microRNAs / C.N. Kent, I.K. Guttilla Reed. – Текст : непосредственный // *Clin. Transl. Oncol.* – 2016. – Vol.18(11). – P.1056–1061.

217. Kalluri, R. The basics of epithelial-mesenchymal transition / R. Kalluri, R. A. Weinberg. – Текст : непосредственный // *J. Clin. Investig.* – 2009. – Vol.119(6). – P.1420–1428.

218. Lamouille, S. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition / S. Lamouille, J. Xu, R. Derynck. – Текст : непосредственный // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2014. – Vol.15(3). – P.178–196.

219. Makker, A. Tumor progression, metastasis, and modulators of epithelial-mesenchymal transition in endometrioid endometrial carcinoma: An update / A. Makker, M. M. Goel. – Текст : непосредственный // *Endocr. Relat. Cancer.* – 2016. – Vol.23(2). – P.R85–R111.

220. Clere N. Endothelial-to-Mesenchymal Transition in Cancer / N. Clere, S. Renault, I. Corre. – Текст : непосредственный // *Front Cell Dev Biol.* – 2020. – Vol.8. – P.747.

221. Gonzalez, D. M. Signaling mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition / D. M. Gonzalez, D. Medici. – Текст : непосредственный // *Sci. Signal.* – 2014. – №7. – P.re8.

222. Yin, Z. Endothelial-to-mesenchymal transition in tumour progression and its potential roles in tumour therapy / Z. Yin, L. Wang. – Текст : непосредственный // *Ann Med.* – 2023. – Vol.55(1). – P.1058–1069.

223. Epithelial to Mesenchymal Transition and Cell Biology of Molecular Regulation in Endometrial Carcinogenesis / H. C. Chiu, C. J. Li, G. T. Yiang [et al.]. – Текст : непосредственный // *J Clin Med.* – 2019. – Vol.8(4). – P.439.

224. Epithelial-Mesenchymal Transition with Malignant Transformation Leading Multiple Metastasis from Disseminated Peritoneal Leiomyomatosis / H. C.

Chiu, M. Y. Wu, C. H. Li [et al.]. – Текст : непосредственный // J. Clin. Med. – 2018. – Vol.7(8). – P.207.

225. Wendt, M. K. Deconstructing the mechanisms and consequences of TGF-beta-induced EMT during cancer progression / M. K. Wendt, M. Tian, W.P. Schiemann. – Текст : непосредственный // Cell Tissue Res. – 2012. – Vol.347(1). – P.85–101.

226. Cancer-associated fibroblasts promote the progression of endometrial cancer via the SDF-1/CXCR4 axis / F. Teng, W.Y. Tian, Y.M. Wang [et al.]. – Текст : непосредственный // J. Hematol. Oncol. – 2016. – N 9. – P.8.

227. Cancer-Associated Fibroblasts in Inflammation and Antitumor Immunity / K. B. Kennel, M. Bozlar, A. F. De Valk, F. R. Greten. – Текст : непосредственный // Clin Cancer Res. – 2023. – Vol.29(6). – P.1009–1016.

228. Signaling pathways in cancer-associated fibroblasts: recent advances and future perspe / Z. Fang, Q. Meng, J. Xu [et al.]. – Текст : непосредственный // Cancer Commun (Lond). – 2023. – Vol.43(1). – P.3–41.

229. Massague, J. Smad transcription factors / J. Massague, J. Seoane, D. Wotton. – Текст : непосредственный // Genes Dev. – 2005. – Vol.19(23). – P. 2783–2810.

230. Papageorgis, P. Role of TGFβ in regulation of the tumor microenvironment and drug delivery / P. Papageorgis, T. Stylianopoulos. – Текст : непосредственный // Int. J. Oncol. – 2015. – Vol.46(3). – P. 933–943.

231. Transforming growth factor beta signaling is disabled early in human endometrial carcinogenesis concomitant with loss of growth inhibition / T.V. Parekh, P. Gama, X. Wen [et al.]. – Текст : непосредственный // Cancer Res. – 2002. – Vol.62(10). – P.2778–2790.

232. High-risk endometrial carcinoma profiling identifies TGF-beta1 as a key factor in the initiation of tumor invasion / L. Muinelo-Romay, E. Colas, J. Barbazan [et al.]. – Текст : непосредственный // Mol. Cancer Ther. – 2011. – Vol.10(8). – P.1357–1366.

233. TGFbeta signaling supports survival and metastasis of endometrial

cancer cells / X. Lei, L. Wang, J. Yang [et al.]. – Текст : непосредственный // Cancer Manag. Res. – 2009. – Vol.2009(1). – P.15–24.

234. Reproducibility of current classifications of endometrial endometrioid glandular proliferations: further evidence supporting a simplified classification / J. Ordi, C. Bergeron, D. Hardisson [et al.]. – Текст : непосредственный // Histopathology. – 2014. – Vol. 64, N 2. – P. 284–292.

235. Микроскопическая техника / Под ред. Саркисова Д.С., Перова Ю.Л. – Москва : Медицина, 1996. – 548 с. – Текст : непосредственный.

236. Dabbs, D. J. Diagnostic immunohistochemistry / D. J. Dabbs. – London: Churchill Livingstone, 2006. – 828 p. – Текст : непосредственный.

237. Кубышкин, А. В. Эластолитическая активность бронхоальвеолярного лаважа при моделировании воспалительного процесса в легких / А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина. – Текст : непосредственный // Український біохімічний журнал. – 2008. – Т. 80, N 1. – С. 89–95.

238. Юнкеров, В. И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В. И. Юнкеров, С. Г. Григорьев. – Санкт-Петербург : ВМедА, 2002. – 266 с. – Текст : непосредственный.

239. Современное представление о проблеме гиперплазии эндометрия / Л. Г. Ерофеева, А. Г. Сидоркина, Г. Н. Новопашина, Б. Б. Ерофеев. – Текст : непосредственный // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2022. – N 6. – С. 82–88.

240. Морфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия женщин с первичным и вторичным бесплодием / Бессмертная В.С., Самойлов М.В., Серебренникова К.Г., Бабиченко И.И. – Текст : непосредственный // Архив патологии. – 2008. – Т.70, N 4. – С.31–34.

241. Иммуногистохимическое исследование эндометрия в программах ВРТ / Е. В. Дюжева Е. А. Калинина, Л. Н. Кузьмичев, Е. А. Коган. – Текст : непосредственный // Вестник РУДН. Серия Медицина: Акушерство и гинекология. – 2009. – N 6. – С. 98 – 104.

242. Walker, C. Role of Extracellular Matrix in Development and Cancer

Progression / C. Walker, E. Mojares, A. Del Río Hernández. – Текст : непосредственный // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol.19(10). – P.3028.

243. Sun, Z. Role of imbalance between neutrophil elastase and alpha 1-antitrypsin in cancer development and progression / Z. Sun, P. Yang. – Текст : непосредственный // *The lancet oncology.* – 2004. – N 5. – P. 182–190.

244. Chua, F. Neutrophil elastase: mediator of extracellular matrix destruction and accumulation / F. Chua, G. J. Laurent. – Текст : непосредственный // *Proc. Am Thorac Soc.* – 2006. – Vol. 3, N 5. –P. 424–427.

245. Benarafa, C. Role of granule proteases in the life and death of neutrophils / C. Benarafa, H. U. Simon. – Текст : непосредственный // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2017. – Vol.482(3). – P.473–481.

246. Proteases and protease inhibitors in infectious diseases / A. A. Agbowuro, W. M. Huston, A. B. Gamble, J. D. A. Tyndall. – Текст : непосредственный // *Med Res Rev.* – 2018. – Vol.38(4). – P.1295–1331.

247. Yip, K. Bcl-2 family proteins and cancer / K. Yip, J. Reed.– Текст : непосредственный // *Oncogene.* – 2008. – Vol.27. – P.6398–6406.

248. The role of immunohistochemical adrenomedullin and Bcl-2 expression in development of type-1 endometrial adenocarcinoma : Adrenomedullin expression in endometrium / K. K. Bozkurt, Y.Yalçın, E. Erdemoğlu [et al.]. – Текст : непосредственный // *Pathol Res Pract.* – 2016. – Vol.212(5). – P. 450–5.

249. Expression of p53, Bcl-2 and Bax in endometrial carcinoma, endometrial hyperplasia and normal endometrium: a histopathological study / S. Mirakhor Samani, T. Ezazi Bojnordi, M. Zarghampour [et al.]. – Текст : непосредственный // *J Obstet Gynaecol.* –2018. – Vol.38(7). – P.999–1004.

250. The role of CD95 and CD95 ligand in cancer / M. E. Peter, A. Hadji, A. E. Murmann [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cell Death Differ.* – 2015. – Vol.22(4). – P.549–59.

251. Martin-Villalba, A. CD95 in cancer: tool or target? / A. Martin-Villalba, E. Llorens-Bobadilla, D. Wollny. – Текст : непосредственный // *Trends Mol Med.* –2013. – Vol.19(6). – P.329–35.

252. Cancer-related inflammation / A. Mantovani, P. Allavena, A. Sica, F. Balkwill. – Текст : непосредственный // Nature. – 2008. – Vol.454(7203). – P.436–44.
253. Hanahan, D. Hallmarks of cancer : the next generation / D. Hanahan, R. A. Weinberg. – Текст : непосредственный // Cell. – 2011. – Vol.144(5). – P.646–74.
254. Hanahan, D. Hallmarks of Cancer : New Dimensions / D. Hanahan. – Текст : непосредственный // Cancer Discov. – 2022. – Vol.12(1). – P.31–46.
255. Molecular characterization of Wdr13 knockout female mice uteri: a model for human endometrial hyperplasia / S. Singh, S. Pavuluri, B. Jyothi Lakshmi [et al.]. – Текст : непосредственный // Sci Rep. – 2020. – Vol.10(1). – P. 14621.
256. Treatment results of endometrial hyperplasia after prospective D-score classification: a follow-up study comparing effect of LNG-IUD and oral progestins versus observation only / A. Ørbo, M. Arnes, C. Hancke [et al.]. – Текст : непосредственный // Gynecol Oncol. – 2008. – Vol.111(1). –P.68–73.
257. Complex hyperplasia with and without atypia: clinical outcomes and implications of progestin therapy / S. D. Reed, K. M. Newton, R. L. Garcia [et al.]. – Текст : непосредственный // Obstet. Gynecol. – 2010. – Vol.116(2 Pt 1). – P. 365–373.
258. Подзолкова, Н. М. Современные представления об этиологии, патогенезе и принципах лечения гиперплазии эндометрия / Н. М. Подзолкова, В. В. Коренная. – Текст : непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2021. – №8. – С. 192–199.