

Есенева Фарида Мухарбиевна

**ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ МИОМЫ МАТКИ**

14.01.01 — акушерство и гинекология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации.

**Научный руководитель:**

Главный врач ГБУЗ ЯНАО "Ноябрьская ЦГБ"  
доктор медицинских наук

Шалаев  
Олег Николаевич

**Официальные оппоненты:**

руководитель отделения эндоскопической хирургии  
ГБУЗ МО МОНИИАГ  
доктор медицинских наук, профессор

Попов  
Александр Анатольевич

заведующий кафедрой женских болезней  
и репродуктивного здоровья  
ФГБУ НМХЦ им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ  
доктор медицинских наук, профессор

Кира  
Евгений Федорович

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Московский медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1).

Защита диссертации состоится «20» марта 2018 г. в 11 ч. по адресу: 117333, г. Москва, ул. Фотиевой, д.6 на заседании диссертационного совета Д.212.203.01 при Российском университете дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского университета дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6) и на сайте <http://dissovet.rudn.ru/>.

Автореферат размещен на сайте <http://dissovet.rudn.ru/> « \_\_\_\_ »  
Автореферат разослан « \_\_\_\_ »

2018 г.

2018 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д.212.203.01  
кандидат медицинских наук

Лебедева  
Марина Георгиевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Миома матки (ММ) — одно из наиболее распространенных гинекологических заболеваний (Stewart, 2001; Donnez и Jadoul, 2002; Bulun, 2013; Drayer и Caterino, 2015), которое ассоциируется с аномальными маточными кровотечениями, дисменореей, бесплодием, акушерскими осложнениями. ММ остается самым частым показанием к гистерэктомии и служит ее причиной у 50–70% россиянок с различными заболеваниями матки. При этом на практике к органосохраняющим операциям зачастую прибегают не только в случае гигантских форм ММ, но и при множественной локализации небольших узлов (Радзинский В.Е. и соавт., 2014; Cardozo E.R. et al., 2012). Полученные при аутопсии результаты свидетельствуют о масштабной распространенности ММ — более чем у 80% женщин репродуктивного возраста (Краснопольский В.И. и соавт., 2010).

Несмотря на многочисленные и разноплановые исследования, число пациенток с ММ не уменьшается, качество их жизни снижается, а затраты на лечение и диагностику этого заболевания неуклонно растут. ММ также остается одним из весомых компонентов в структуре репродуктивных проблем, поскольку современная практика предусматривает приоритет оперативного лечения (Vilos G.A. et al., 2015). В репродуктивном возрасте это связано с исключением или резким ограничением возможности реализации репродуктивной функции даже с учетом возможностей вспомогательных репродуктивных технологий.

Также остается открытым вопрос о персонифицированном выборе оперативной тактики. В настоящее время не существует унифицированного алгоритма ведения пациенток, перенесших миомэктомию, — в лучшем случае учитываются возраст, анамнез, реализованность репродуктивной функции. В свете господства хирургических технологий особую остроту приобретает проблема выбора тактики ведения пациенток репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию и при этом еще не реализовавших репродуктивную функцию.

На сегодняшний день не существует биологических критериев, позволяющих оценить пролиферативный риск, чреватый рецидивом и прогрессивным течением заболевания. Более того, невозможно предсказать рост ММ при беременности, что может потребовать оперативного вмешательства во время беременности и даже повлечь за собой удаление органа.

Изучению клинических проявлений ММ, тактики ведения, патогенеза посвящено не одно десятилетие, однако существуют вопросы, ответы на которые остаются дискуссионными и сегодня: стоит ли удалять миоматозные узлы малых размеров или назначать консервативную терапию? Рекомендовать ли беременность данным пациенткам в надежде на то, что узел перестанет расти? (Сидорова И.С. и соавт., 2012).

При выборе тактики лечения практически не учитывается гистологический вариант ММ, наблюдается различная интерпретация результатов гистологических исследований. ВОЗ выделяет лейомиому и ее гистологические варианты — митотически активная, обычная лейомиома, клеточная, лейомиобластома (эпителиоидная), атипичная, метастазирующая (Hendrickson M.R. et al., 2003). Каждый из этих вариантов имеет различный пролиферативный потенциал, что необходимо учитывать при выборе терапии. В литературе недостаточно работ, посвященных изучению стромального компонента миоматозного узла (Вихляева Е.М. 2004; Тихомиров А.Л. и соавт., 2004). В мировой научной базе практически отсутствуют данные о молекулярно-биологических и эпигенетических особенностях, отражающих ремоделирование стромального компонента в миоматозном узле.

Изучение вклада эпигенетических модификаций генома в развитие того или иного заболевания — одно из перспективных векторов современной науки. Одним из возможных инструментов оценки прогноза может служить ДНК-метилирование генов, которое позволяет определить персональный риск возникновения и прогрессивного течения ММ.

**Степень разработанности темы.** Данные о возможном развитии ММ при отсутствии гормональных изменений свидетельствуют о наличии иных



механизмов возникновения заболевания, связанных с точечным нарушением процессов пролиферации, клеточными и субклеточными изменениями (Asada H. et al., 2008; Maekawa R. et al., 2013).

Известно, что нарушения метилирования различных генов — характерная особенность многих заболеваний. На сегодняшний день выявлена связь между эпигенетикой и некоторыми опухолевыми процессами, невынашиванием, сахарным диабетом, атеросклерозом и др. (Connolly R. et al., 2012; Kazanets A. et al., 2016; Khalil H. et al., 2016).

В литературе описаны результаты исследований, подтверждающие наличие абберантного ДНК-метилирования в миоматозной ткани (Yamagata Y. et al., 2009; Maekawa R. et al., 2011; Maekawa R. et al., 2013). Получены контраверсионные данные о ДНК-метилировании гена рецептора *ESR1* при ММ (Asada H. et al., 2008; Maekawa R. et al., 2013). Есть сведения о статусе ДНК-метилирования гена прогестеронового рецептора при раке молочной железы (Lian L. et al., 2010). В другой работе изучен статус метилирования прогестеронового рецептора при аденомиозе (Jichan N. et al., 2010). Данных в литературе по метилированию генов прогестероновых рецепторов у пациенток с ММ не опубликовано.

Сегодня уже понятно, что существуют отличные от эстроген-прогестерон-зависимых сигналов тумороиницирующие каскады, способствующие переходу гиперпластического процесса в опухолевый. Целый ряд исследований посвящен изучению роли в патогенезе различных опухолевых заболеваний семейства белков WNT и сигнального пути WNT (Lu D. et al., 2004; Aguilera O. et al., 2006; Rocha P. et al., 2010; Willert K. et al., 2012). WNT-каскад может играть особую роль в развитии ММ с преобладанием пролиферативного компонента, однако эти аспекты патогенеза ММ до сих пор не изучены.

Патогенетическое значение эпигенетических механизмов в развитии ММ и их взаимосвязь с клинико-морфологическими особенностями опухоли — перспективное научно-практическое направление, практически не разработанное на сегодняшний день. В связи с вышеизложенным была выдвинута научная гипотеза о возможности прогнозирования пролиферативного риска с учетом

ДНК-метилирования генов эстрогенового и прогестеронового рецепторов и гена WNT-ингибирующего фактора в биоптатах миоматозных узлов, что и определило актуальность и выбор темы настоящего исследования.

**Цель исследования:** улучшить исходы лечения пациенток с миомой матки репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию, на основании персонализированного алгоритма лечебно-диагностических мероприятий.

**Задачи:**

1. Выявить факторы риска и определить возможности математического прогнозирования возникновения и прогрессивного течения миомы матки в репродуктивном возрасте.

2. Оценить частоту и описать характер ДНК-метилирования генов *ERS1*, *PRB*, *WIF1* при различных гистологических вариантах миомы матки.

3. Выявить зависимость показателей иммуногистохимического исследования от гистологического варианта миомы матки.

4. Разработать персонализированный алгоритм лечебно-диагностических мероприятий у пациенток с миомой матки репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию, с учетом эпигенетических детерминант.

**Научная новизна.** Разработана и научно обоснована концепция риска органосохраняющего лечения ММ с учетом эпигенетических детерминант. Введено новое понятие «эпигенетическая детерминанта возникновения и прогрессивного течения миомы матки». Предложена оригинальная стратификация пациенток репродуктивного возраста, подвергшихся миомэктомии, на основе индивидуального риска рецидива заболевания. Доказана перспективность использования предложенной стратификации в клинической практике. Получены приоритетные данные о том, что ММ является WNT-зависимой опухолью.

**Теоретическая и практическая значимость.** В ходе исследования расширены представления о патогенезе ММ, углублены и дополнены существующие сведения о закономерностях роста миоматозного узла. Впервые выявлена взаимосвязь состояния WNT-каскада и пролиферативной активности клеток в миоматозном узле.

Установлено, что для генов рецепторов стероидных гормонов при ММ характерно ДНК-гипометилирование, а для гена *WIFI*- ДНК-гиперметилирование. Подтверждены существующие представления о возможном влиянии прогестерона на рост и структурные особенности ММ. Разработана математическая модель прогнозирования риска возникновения и прогрессивного течения ММ у пациенток репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию.

Практическому здравоохранению предложен модифицированный алгоритм лечебно-диагностических мероприятий после миомэктомии в репродуктивном возрасте, позволяющий патогенетически обосновать индивидуальный подход к выбору тактики ведения пациенток с учетом индивидуального риска рецидива миомы.

**Методология и методы исследования.** Исследование выполнено в период 2012–2017 гг. на клинической базе кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета Медицинского института Российского университета дружбы народов (зав. кафедрой — чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор Радзинский В.Е.) в гинекологическом отделении ГБУЗ «Городская клиническая больница имени В.В. Виноградова Департамента здравоохранения Москвы» (гл. врач — д.м.н., профессор О.В. Шарапова).

Критериями включения в исследование послужили: возраст пациенток от 32 до 45 лет, наличие показаний для оперативного лечения ММ, «пролиферирующий» (митотически активный) или «простой» (обычный) тип морфологического строения узла, отсутствие в анамнезе применения гормональной терапии ММ, информированное согласие на участие в исследовании. Критериями исключения считали наличие наружного и внутреннего эндометриоза, гиперплазии эндометрия, предраковых заболеваний шейки матки, рака шейки матки и рака эндометрия, указание в анамнезе на гормональное лечение ММ, отказ от участия в исследовании или несоблюдение рекомендаций врача.

Ретроспективно все пациентки были разделены на две группы в зависимости от морфологического строения миоматозных узлов. Первую группу

составили 79 женщин с ММ с преобладанием пролиферативного компонента — митотически активная лейомиома по классификации ВОЗ (более 15 типичных митозов в поле зрения), вторую группу составили 79 пациенток с простой миомой матки — обычная лейомиома (менее 15 типичных митозов в поле зрения).

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Математическое прогнозирование служит эффективным инструментом стратификации пациенток, перенесших миомэктомию в репродуктивном возрасте, по группам риска рецидива миомы матки. Предикторами рецидива ( $p < 0,05$ ) являются: клинические проявления; наличие миомы матки в семейном анамнезе; сахарный диабет; хронический стресс и склонность к неврозам; нереализованное или позднее деторождение; хронические воспалительные заболевания органов малого таза; ожирение; выскабливания слизистой полости матки в анамнезе; курение; нарушения в интранодулярном кровотоке при доплерометрии; ДНК-метилирование гена эстрогенового рецептора *ERS1*; ДНК-метилирование гена прогестеронового рецептора *PRB*; ДНК-метилирование гена *WNT*-ингибирующего фактора-1 (*WIF1*).

2. Эпигенетическими детерминантами миомы матки следует рассматривать ДНК-метилирование генов *ERS1*, *PRB*, *WIF1*, отсутствующее в ткани интактного миометрия. Характер ДНК-метилирования зависит от гистологического варианта миомы матки. Гены *ERS1* и *PRB* характеризуются гипометилированием, более выраженным при пролиферативной миоме, что может быть расценено как вариант «пролиферативного покоя». При этом в опухолевой ткани преобладают рецепторы к прогестерону. Для гена *WIF1* в опухолевой ткани характерно гиперметилирование. Частота аномального ДНК-метилирования гена *WIF1* возрастает в ряду «простая миома—пролиферативная миома», что позволяет считать его значимым маркером и возможным триггером ранних стадий пролиферативных изменений при миоме матки.

3. Миома матки является *WNT*-зависимой опухолью. Гиперметилированный ген *WIF1* не способен блокировать *WNT*-каскад, отвечающий за передачу пролиферативного сигнала. Когда он становится

активным, происходит запуск «пролиферативной» ветви этого пути: чем больше число митозов в опухоли, тем выше ДНК-метилирование гена *WIFI*.

4. Разработанный алгоритм лечебно-диагностических мероприятий у женщин репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию, дает возможность персонализировать тактику ведения пациентки с учетом ее фертильных планов и риска рецидива заболевания, оценить который позволяет математическая модель индивидуального прогноза с использованием эпигенетических детерминант миомы матки.

**Степень достоверности и апробация результатов работы.** Для статистической обработки массива данных использовали статистические программы Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corp., США), Statistica 6.0 (Stat Soft Inc., США). Для определения достоверности непараметрических количественных данных применяли критерий Манна-Уитни, для определения достоверности количественных нормально распределенных данных - критерий Стьюдента. Метод ранговой корреляции Спирмана использовали для сравнения количественных и порядковых показателей.

В таблицах приведены следующие сокращения:  $M$  – среднее значение,  $m$  – среднеквадратичное отклонение,  $n$  – объем анализируемой подгруппы,  $p$  – уровень значимости. За критическое значение уровня значимости принимали  $p < 0,05$ . С помощью метода Katz рассчитывали относительный риск (ОР) развития агрессивного течения ММ на основании клинико-anamnestических данных. Для исследования корреляции нескольких независимых переменных и одной зависимой применяли метод бинарной логистической регрессии. Преимуществом данного метода является то, что независимые переменные могут иметь любой вид шкалы (количественные, порядковые, дихотомические). Группе пациенток с пролиферативной ММ была присвоена кодировка 1, с простой ММ — 0.

Вероятность наступления события (быстрый рост ММ) для конкретной пациентки рассчитывали по формуле

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}},$$

где  $z = b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + \dots + b_n \cdot X_n + a$ , при этом  $X_1$  представляет значения независимых переменных,  $b_1$  – результаты бинарной логистической регрессии,  $a$  – свободный коэффициент,  $e - 2,71828182845904$  (натуральный логарифм).

Бинарная регрессионная модель, с одной стороны, позволила выделить наиболее весомые факторы, влияющие на тяжесть течения заболевания, а с другой — дала возможность стратификации конкретной пациентки в группы «худшего» или «лучшего» прогноза. С помощью последовательного включения в модель значимых факторов, выявленных с помощью однофакторных методов, была выбрана комбинация переменных, удовлетворяющая таким условиям, чтобы построенная модель была достоверной ( $p < 0,05$ ) и компоненты, входящие в нее, были независимы между собой и также достоверны ( $p < 0,05$ ). В результате в классификационной таблице, полученной в результате построения уравнения бинарной логистической регрессии, наблюдаемые показатели принадлежности к группе (1 = пролиферативная ММ, 0 = простая ММ) противопоставляли предсказанным ( $p$ ) на основе рассчитанной модели. Принадлежность к группе с негативным прогнозом (пролиферативная ММ) принимали при  $p > 0,05$ , принадлежность к группе с положительным прогнозом — при  $p < 0,05$ .

Для анализа информативности клинических тестов использовали Receiver Operating Characteristic analysis (ROC-анализ) с определением чувствительности, специфичности, правдоподобия и диагностического порога. При этом за «чувствительность» принимали вероятность «положительного результата исследуемого диагностического теста» при наличии болезни, за «специфичность» — вероятность отрицательного результата теста при отсутствии болезни.

Эксперименты соответствовали этическим стандартам биоэтического комитета НИИМБиБ СО РАМН, Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», «Правил клинической практики в РФ».

Основные положения работы были доложены, обсуждены и одобрены на: II Всероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и

контраверсии. Московские чтения» (Москва, 2016); IV Научно-практической конференции с международным участием «РЭМ-2016. Рак, эндометриоз, миома. Прولاпс гениталий» (Нижний Новгород, 2016); 17th World Congress on Human Reproduction (Рим, 2017); 25th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (COGI) (Вена, 2017). Аprobация диссертации состоялась на заседании кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета Медицинского института Российского университета дружбы народов 27 июня 2017 г., протокол № 18.

Участие автора в сборе и обработке материала — более 90%, обобщении и анализе результатов работы — 90%. Научные выводы, положения диссертации получены автором лично. По результатам исследования опубликовано 8 печатных работ, из них 5 — в рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК РФ.

Диссертация изложена на 115 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, трех глав, содержащих результаты собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, указателя литературы. Диссертация иллюстрирована 42 рисунками, 17 таблицами. Указатель литературы включает 256 источников, из них 72 отечественных и 184 – зарубежных.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Результаты работы и их обсуждение.** Все обследуемые женщины были сопоставимы по возрасту и клинико-anamнестическим данным.

По данным мировой литературы, у женщин, имеющих родственниц первой линии с ММ, риск развития заболевания возрастает в 2,5 раза (Schwartz S.M. et al., 2000; Schwartz S.M. et al., 2000). Необходимо подчеркнуть, что при инициации ММ в молодом возрасте этот риск многократно выше. Однако генетическая предрасположенность не всегда является предиктором ММ (Saldana J. et al., 2008). В ходе исследования в первой группе семейная предрасположенность была выявлена у 65,8% пациенток, во второй группе — у 12,6% ( $p < 0,05$ ). Установлена прямая сильная корреляционная зависимость между гистологическим вариантом миомы матки, наследственностью и возрастом ( $r = +0,7$ ).

Количество инструментальных гинекологических вмешательств (аборт, раздельное диагностическое выскабливание слизистой полости матки) достоверно различалось в обеих группах (соответственно 50,63% против 36,7%,  $p < 0,05$ ). Существуют контраверсионные данные о негативном влиянии абортов на риск развития ММ. Одни исследователи придерживаются мнения, что наличие абортов в анамнезе повышает риск развития ММ (Parazzini F. et al., 1999; Faerstein E. и соавт. 2001). В работах других авторов подчеркнуто отсутствие связи между частотой инструментальных абортов и инициацией ММ (Quade V.J. et al., 2002). Мы согласны с утверждением большинства, что травматизация миометрия при абортах и в родах создаёт преморбидный фон для развития миомы.

По данным мировой литературы, высокий паритет коррелирует с низкой распространенностью миомы матки или бессимптомным ее течением (Сидорова И.С. и соавт., 2002). Существует мнение, что высокий паритет и бессимптомное течение ММ или отсутствие заболевания могут быть связаны с процессами ремоделирования в структуре экстрацеллюлярного матрикса и специфической экспрессией рецепторов пептидных и стероидных гормонов во время беременности и родов (Baird D.D. et al., 2015). Проведенный анализ показал, что у 60,8% пациенток первой группы и у 17,7% женщин второй группы в анамнезе имело место указание на позднее деторождение или нереализованную репродуктивную функцию ( $p < 0,05$ ). Обнаружена сильная прямая связь между паритетом, нереализованной репродуктивной функцией/поздним деторождением и видом миомы матки ( $r = +0,7$ ). При этом 93,6% пациенток с пролиферативной ММ и 88,6% женщин с простой ММ указали на применение ими различных методов контрацепции: внутриматочной негормональной, барьерных методов, прерванного полового акта.

Признанным фактором риска пролиферативных заболеваний, в том числе органов репродуктивной системы, является курение. Вместе с тем авторы целого ряда работ полагают, что курение способствует снижению риска развития ММ. Обнаружено, что никотин непосредственно ингибирует ароматазу и конверсию андрогенов в эстрон. Курение блокирует путь 2-гидроксилирования в



метаболизме эстрадиола, что может влиять на рецептивность эстроген-зависимых тканей (Faerstein, E. et al., 2011). В ходе настоящего исследования получены данные в пользу негативного влияния курения на риск развития ММ - установлено, что курили 25,3% пациенток первой группы и 13,9% женщин второй группы ( $p < 0,05$ ).

Получены данные, подтверждающие традиционное мнение о том, что экстрагенитальные заболевания способствуют заболеванию ММ. (Вихляева Е.М., 1997; Ищенко А.И., 2010). Статистически значимо группы различались по встречаемости сахарного диабета (соответственно 10,12% и 5,1%) и ожирения (37,7% и 19,0%,  $p < 0,05$ ). Известно, что каждые 10 кг лишнего веса повышают риск развития ММ на 21% (Sato F. et al., 1998; Soliman A.M., 2015). Если же масса тела превышает нормативные показатели на 30%, риски многократно повышаются (Shikora S.A. et al., 1991). В эксперименте ранее показано, что «культура» адипоцитов и лейомиоцитов приводит к усилению процессов пролиферации в клетках миоматозной ткани, причем сила этого влияния напрямую зависит от количества адипоцитов (Nair S., 2011). В ходе настоящего исследования выявлена сильная корреляционная связь между ХВЗОМТ, ожирением и миомой матки, при этом степень корреляции была закономерно выше в первой группе — сильная ( $r = +0,8$ ), тогда как во второй группе — лишь умеренная ( $r = +0,6$ ).

Статистически значимыми оказались полученные различия по частоте склонности к неврозам и стрессам: в группе с пролиферативной ММ — 62,0% пациенток, в группе с простой миомой матки — 11,4% ( $p < 0,05$ ). Согласно существующим представлениям, стресс выступает одним из главных факторов риска возникновения ММ. Как правило, лейомиома матки возникает через 1,5-2 года после перенесенного тяжелого стресса (Sparic R. et al., 2016). Некоторые ученые полагают, что ММ можно рассматривать как психосоматическое нарушение: у этих пациенток чаще имеют место демонстративные расстройства личности, депрессивные и неврастенические эпизоды, а в их семьях чаще наблюдают межличностные конфликты супругов, проблемы в сексуальном

поведении (Попов А.А. и соавт., 2005).

К наиболее распространенным жалобам при ММ, по данным литературы, относят обильные менструальные выделения, боль и нарушение функции смежных органов (Сидорова И.С., 2004; Оздоева М.С., 2008). В ходе исследования выявлены статистически значимые межгрупповые различия в группах по суммарной частоте клинических проявлений и жалоб (соответственно 60,8% и 34,2%,  $p < 0,05$ ). Более двух узлов чаще выявляли у женщин с пролиферативной ММ ( $p > 0,05$ ) (Рисунки 1–2).



Рисунок 1 — Миоматозные узлы, полученные в ходе оперативного лечения

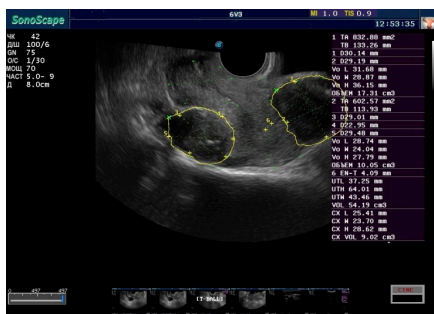


Рисунок 2 — ТВ-УЗИ органов малого таза. Два субсерозно-интрамуральных миоматозных узла по задней и по передней стенкам матки, ближе ко дну матки

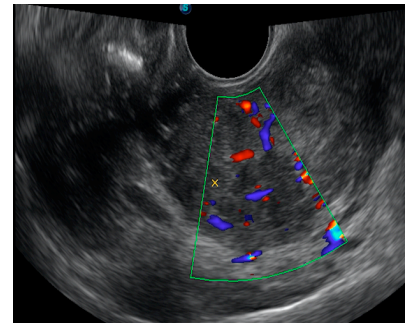


Рисунок 3 — Допплерометрия сосудов миоматозного узла.

Высокореzитентный интранодулярный кровотока одного из больших интрамуральных миоматозных

В ходе исследования обнаружены статистически значимые различия интранодулярного кровотока: средние значения ИР в первой группе составили

0,35, а во второй группе — 0,69 ( $p < 0,05$ ) Это соответствует бытующему мнению, что изменение показателей скорости кровотока при ММ может косвенно указывать на её быстрый рост или потенциальную агрессивность (Малышкина А.И. и соавт., 2003; Левин Е.М., 2005) (Рисунок 3).

Морфологическое исследование биоптатов миоматозных узлов позволило достоверно определить гистологический вариант опухоли, подтвердить сопутствующие заболевания и сформировать группы исследования. По классификации ВОЗ (2003) выделяют различные гистологические варианты миомы матки: митотически активная (пролиферативная — с числом митозов более 15 в поле зрения); обычная лейомиома (простая — с числом митозов менее 15 в поле зрения); атипичная, клеточная, лейомиобластома (эпителиоидная), метастазирующая (Hendrickson M.R. et al., 2003), (Тихомиров А.Л. и соавт., 2009; Сидорова И.С. и соавт., 2010) (Рисунок 4).

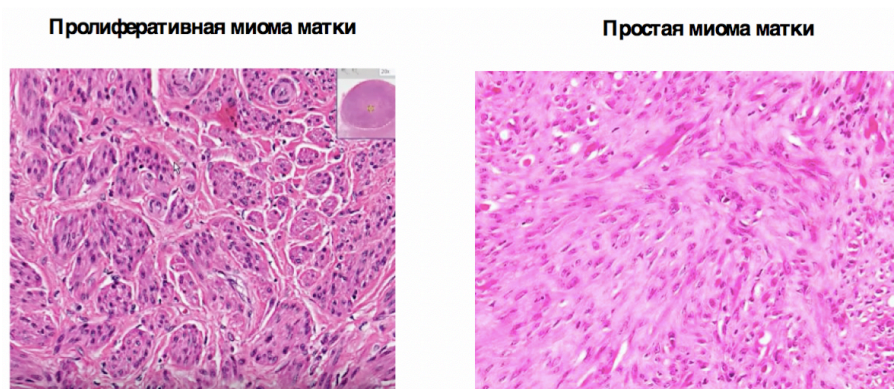
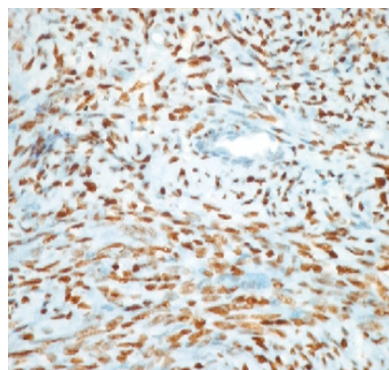


Рисунок 4 — Гистологическая картина миомы матки

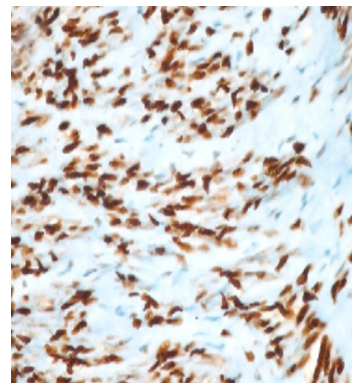
При анализе экспрессии прогестероновых рецепторов PRB (Рисунок 5) установлено, что в лейомиоме с пролиферативным компонентом экспрессировало  $159,8 \pm 8,8\%$  ядер лейомиомы ( $KЭ = 1,99 \pm 0,26$ ) ( $p < 0,05$ ), в простой лейомиоме PR экспрессировали  $62,8 \pm 6,3\%$  ядер клеток опухоли ( $KЭ = 1,65 \pm 0,23$ ,  $p < 0,05$ ). Экспрессия эстрогеновых рецепторов в первой группе составила  $64,7 \pm 5,22\%$  ( $KЭ = 1,6 \pm 0,17$ ), во второй группе —  $42,5 \pm 3,75\%$  ( $KЭ = 1,43 \pm 0,14$ ,  $p < 0,05$ ).

Проведенный анализ показал, что при пролиферативной ММ величина

соотношения экспрессии стероидных гормонов PR/ER в 1,6 раза превышает таковую при простой ММ (соответственно 2,46 и 1,47,  $p < 0,01$ ). Полученные данные свидетельствуют о возможно более значимом влиянии прогестерона на рост и структурные особенности опухоли у пациенток с пролиферативным гистологическим вариантом.



Экспрессия ER



Экспрессия PR

Рисунок 5 — Экспрессия стероидных рецепторов  
в биоптатах миоматозных узлов (ER и PR)

В ходе исследования ДНК-метилирования генов рецепторов *ESR1*, *PRB*, *WIF1* выявлено статистически значимое гипометилирование генов прогестероновых и эстрогеновых рецепторов в обеих группах, а также гиперметилирование гена *WIF1* в обеих группах (Таблица 1, Рисунки 6–8).

Таблица 1 — Результаты ДНК- метилирования генов ( $p < 0,05$ )

Группы	<i>ESR1</i>	<i>PRB</i>	<i>WIF1</i>
I (n=30)	10% (n=3)	6,67% (n=2)	73,33% (n=22)
II (n=30)	13,3% (n=4)	10% (n=3)	60% (n=18)



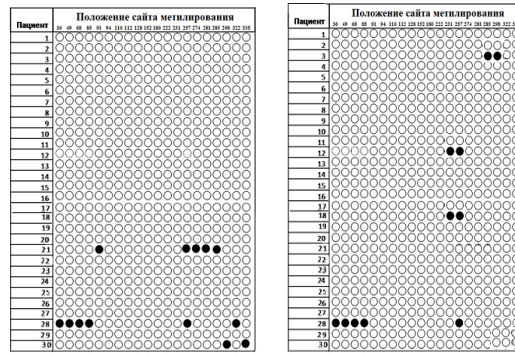


Рисунок 6 — Промоторное метилирование гена эстрогенового рецептора *ESR1* у пациенток с пролиферативной и простой миомой матки

- метилированные сайты, ○ неметилированные сайты

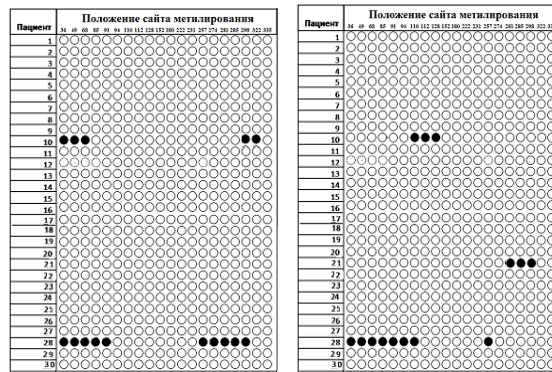


Рисунок 7 — Промоторное метилирование гена прогестеронового рецептора *PRB* в ткани миоматозного узла при пролиферативной и простой миоме

- метилированные сайты, ○ неметилированные сайты

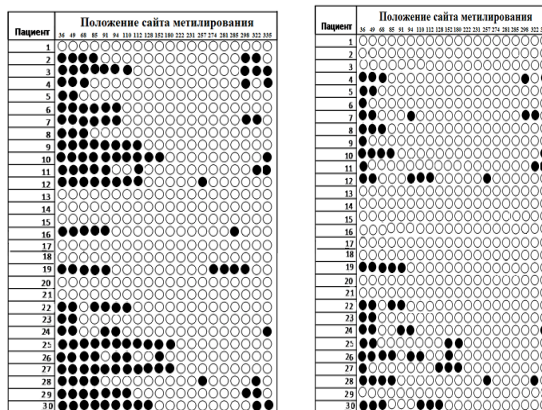


Рисунок 8 — Промоторное метилирование гена *WIF1* у пациенток с пролиферативной и простой миомой матки

- метилированные сайты, ○ неметилированные сайты

При помощи корреляционного анализа Спирмена определена степень зависимости агрессивного развития ММ (от 0 до 1) от факторов риска (Таблица 2). В результате применения многофакторного анализа бинарной логистической регрессии (Таблица 3) получена достоверная модель ( $\chi^2$ -квадрат=75,77,  $p < 0,0001$ ) (Рисунок 9), на основании которой составлена компьютерная программа на базе Microsoft Office Excel, позволяющая вычислить риск ММ при введении данных каждой конкретной пациентки и разработать персонализированный алгоритм лечебно-диагностических мероприятий у пациенток с миомой матки репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию. Чувствительность и специфичность предложенной модели в области порогового значения составила 90,9 и 91,1% соответственно. Диагностическая эффективность (процент верных прогнозов для всей когорты исследуемых) — 94,7% (Рисунок 10).

	Свободный коэффициент	ДНК-метилирование ERa	ДНК-метилирование PRB	Отсутствие ДНК-метилирования wif1	Сахарный диабет	Семейная отягощенность по миоме	Нереализованное или позднее деторождение	Ожирение	Хронический стресс, последствия тяжелого стресса	Инструментальные вмешательства (аборты, выскабливания)	Хронические воспалительные заболевания органов малого таза	Курение	Нормальное значение ИР в интрадулярном кровотоке	Иммуностимуляция эстрогеновых рецепторов, %	Иммуностимуляция прогестероновых рецепторов, %	Отсутствие жалоб
коэффициент	3,552	0,939	1,016	1,322	-1,791	-2,770	-1,870	-0,652	-1,357	-0,0821	-1,491	1,055	0,230	-0,125	-0,252	1,0
Standard Err	0,551	0,241	0,024	0,254	0,050	0,689	0,613	0,021	0,492	0,002	0,124	0,095	0,070	0,051	0,020	0,1
данные по пациенту		1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0,6	0,2
расчеты	3,552	0,939	1,016	0,000	-1,791	-2,770	0,000	-0,652	-1,357	-0,082	-1,491	1,055	0,000	-0,075	-0,050	1,0
z	-0,636															
p-вероятность наступления неблагоприятного исхода		0,65														

Рисунок 9 — Интерфейс разработанной модели

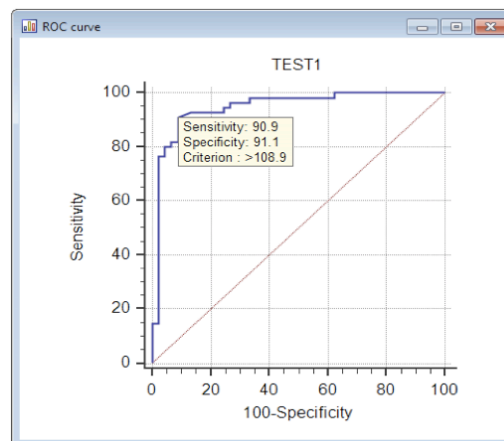


Рисунок 10 — ROC-анализ разработанной модели

Таблица 2 — Корреляционный анализ Спирмена основных показателей с риском агрессивного течения миомы матки

Факторы	Коэффициент корреляции Спирмена — R	Значение p
Экспрессия эстрогеновых рецепторов (ИГХ, %)	0,2201	0,01026
Экспрессия прогестероновых рецепторов (ИГХ, %)	0,2679	0,0462
ДНК-метилирование гена <i>ESR1</i>	0,1686	0,04021
ДНК-метилирование гена <i>PRB</i>	0,2737	0,03753
ДНК-метилирование гена <i>WIF1</i>	0,54720	0,000006
Нарушения в интранодулярном кровотоке при доплерометрии	0,9844	0,000000
Наличие миомы матки в семейном анамнезе	0,5628	0,000000
Сахарный диабет	0,3153	0,0150
Курение	0,2847	0,0490
Ожирение	0,2764	0,0396
Инструментальные вмешательства (аборты, выскабливания слизистой полости матки)	0,3175	0,0413
Нереализованное или позднее деторождение	0,4130	0,000000
Хронический стресс, неврозы	0,5214	0,000000
Хронические воспалительные заболевания органов малого таза	0,3850	0,0199
Клинические проявления, жалобы	0,3235	0,0003

Таким образом нами были сформированы 3 группы женщин:

- с низкой вероятностью прогрессивного течения миомы матки при  $0 < p < 0,29$ ,
- с умеренной вероятностью прогрессивного течения миомы матки при  $0,29 < p < 0,59$
- с высокой вероятностью прогрессивного течения миомы матки при  $0,6 < p < 1,0$

Таблица 3 — Результаты бинарной логистической регрессии

	Коэффициент В	Стандартная ошибка для коэффициента В	Значения Р
Свободный коэффициент	3,552	0,551	0,001
ДНК-метилирование гена <i>ERS1</i>	0,939	0,241	0,0422
ДНК-метилирование гена <i>PRB</i>	1,016	0,024	0,0134
ДНК-метилирование гена <i>WIF1</i>	1,322	0,254	0,0058
Сахарный диабет	1,791	0,050	0,001
Наличие миомы матки в семейном анамнезе	2,770	0,689	0,001
Нереализованное или позднее деторождение	1,870	0,613	0,001
Ожирение	0,652	0,021	0,0120
Хронический стресс, неврозы	1,357	0,492	0,001
Инструментальные вмешательства (аборты, вычкабливания слизистой полости матки)	0,0821	0,002	0,0447
Хронические воспалительные заболевания органов малого таза	1,491	0,124	0,001
Курение	1,055	0,095	0,0069
Нарушения ИР в интранодулярном кровотоке при доплерометрии	0,230	0,070	0,0317
Экспрессия эстрогеновых рецепторов (ИГХ, %)	0,125	0,051	0,0369
Экспрессия прогестероновых рецепторов (ИГХ, %)	0,252	0,020	0,0408
Наличие клинических проявлений, жалоб	1,071	0,130	0,001

При низком риске ( $p$  от 0 до 0,29) допустимо наблюдение, контрацепция с учетом фертильных планов. При умеренном риске ( $p$  от 0,3 до 0,59) следует ориентироваться на данные ДНК-метилирования гена *WIF1*: при его отсутствии показано наблюдение, контрацепция с учетом фертильных планов, как и при низком риске. При наличии ДНК-метилирования гена *WIF1* при умеренном риске,



равно как и при высоком риске ( $p$  от 0,6 до 1,0), следует рекомендовать своевременно реализовать репродуктивные планы с учетом высокой вероятности органуносящего оперативного лечения. Предложенный алгоритм может использоваться практикующим врачом в качестве дополнительного инструмента для обоснования выбора тактики ведения пациенток с ММ (Рисунок 11).

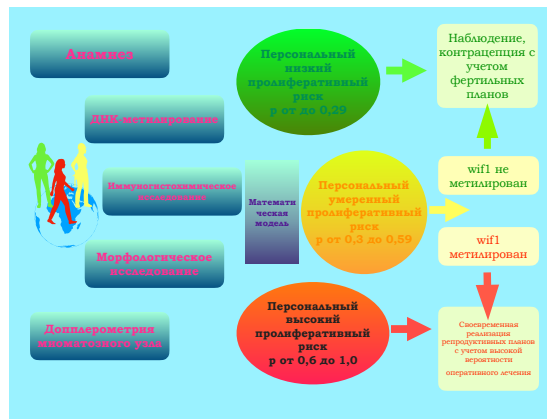


Рисунок 11 — Персонализированный алгоритм лечебно-диагностических мероприятий у пациенток с миомой матки репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Научная разработка аспектов клиничко-морфологических и эпигенетических особенностей миомы матки непосредственно связана с практической деятельностью, определяя персонализацию тактики лечения. Полученные нами результаты, выявленные эпигенетические детерминанты, разработанная модель прогноза риска развития и прогрессивного течения опухоли позволяют персонифицировать подход к ведению и лечению пациенток с лейомиомой матки. Особенно это важно для пациенток репродуктивного возраста, не реализовавших свою репродуктивную функцию.

Подводя итоги проведенного нами исследования, можно сделать следующие **выводы**:

1. Предикторами возникновения и прогрессивного течения миомы матки в репродуктивном возрасте являются: клинические проявления —  $OR=1,78$ , ДИ (1,25–2,53); наличие миомы матки в семейном анамнезе —  $OR=5,2$ , ДИ (2,85–

9,48); сахарный диабет —  $OR=2$ , ДИ (0,63–6,37); хронический стресс и склонность к неврозам —  $OR=0,18$ , ДИ (0,1–0,35); нереализованное или позднее деторождение —  $OR=0,29$ , ДИ (0,18–0,48); хронические воспалительные заболевания органов малого таза -  $OR=0,5$ , ДИ (0,28–0,9); ожирение — 1,17, ДИ (0,58–2,36); выскабливания слизистой полости матки —  $OR=0,73$ , ДИ (0,5–1,04); курение —  $OR=1,25$ , ДИ (0,7–2,23); нарушения в интранодулярном кровотоке при доплерометрии —  $OR=1,02$ , ДИ (0,89–1,16); ДНК-метилирование гена эстрогенового рецептора —  $OR=0,75$ , ДИ (0,17–3,24); ДНК-метилирование гена прогестеронового рецептора —  $OR=0,67$ , ДИ (0,11–3,88) рецептора; ДНК-метилирование гена *WIFI* —  $OR=5,5$ , ДИ (1,99–15,23).

2. Миома матки характеризуется гипометилированием гена эстрогенового рецептора. Миома матки является WNT-зависимой опухолью. Общая частота ДНК-метилирования гена эстрогенового рецептора *ESR1* при миоме матки составляет 23,3% (при пролиферативной миоме матки — 10,0%, при простой — 13,3%,  $p<0,05$ ). Во всех образцах интактного миометрия ДНК-метилирование гена рецептора *ESR1* отсутствует ( $p<0,05$ ).

3. Для миомы матки характерно гипометилирование гена *PRB*. Общая частота ДНК-метилирования хотя бы одного сайта в промоторной области гена прогестеронового рецептора *PRB* составляет 16,7% (при пролиферативной миоме — 6,7%, при простой — 10,0%,  $p<0,05$ ). В интактном миометрии ДНК-метилирование гена *PRB* во всех образцах отсутствует ( $p<0,05$ ).

4. Ген *WIFI* характеризуется гиперметилированием, которое зависит от гистологического варианта миомы матки и может отражать состояние дисрегуляции WNT-каскада, отвечающего за передачу пролиферативного сигнала. При пролиферативной миоме матки ДНК-метилирование гена *WIFI* составляет 73,3%, при простой — 60,0% ( $p<0,05$ ). В интактном миометрии метилирование гена *WIFI* во всех образцах отсутствует.

5. При пролиферативной миоме матки величина соотношения экспрессии стероидных рецепторов PR/ER в 1,6 раз выше, чем при простой (соответственно 2,46 и 1,47,  $p<0,05$ ). Это свидетельствует о преобладающем влиянии прогестерона

на рост и структурные особенности миомы матки.

6. Разработанный алгоритм лечебно-диагностических мероприятий у женщин репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию, с учетом эпигенетических детерминант позволяет персонализировать тактику ведения пациенток с учетом ее фертильных планов и индивидуального риска рецидива заболевания, оценить который позволяет разработанная модель математического прогнозирования.

Полученные результаты позволяют дать следующие **практические рекомендации:**

1. У пациенток репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию, для оценки риска рецидива миомы матки необходимо оценивать эпигенетический статус. Наличие ДНК-метилованных генов *ESR1*, *PRB*, *WIFI* служит ранним прогностическим маркером пролиферативной активности.

2. Для оценки риска (низкий, умеренный, высокий) возникновения и прогрессивного течения миомы матки после миомэктомии в репродуктивном возрасте целесообразно использовать разработанную математическую модель персонального прогнозирования.

3. При низком риске ( $p$  от 0 до 0,29) пациентке показано наблюдение, контрацепция с учетом фертильных планов. При умеренном риске ( $p$  от 0,3 до 0,59) следует ориентироваться на данные ДНК-метилования гена *WIFI*: при отсутствии ДНК-метилования показано наблюдение, контрацепция с учетом фертильных планов, как и при низком риске. При наличии ДНК-метилования гена *WIFI* при умеренном и высоком риске рекомендована своевременная реализация репродуктивных планов с учетом высокой вероятности органосохраняющего лечения.

**Перспективы дальнейшей разработки темы.** В одном из последних бюллетеней Массачусетского технологического института эпигенетика названа одной из десяти важнейших технологий, которые в ближайшее время могут изменить мир и оказать наибольшее влияние на человечество. Эпигенетические aberrации играют ключевую роль в клеточных процессах и работе генома.

Выявленные закономерности ДНК-метилирования генов *ERS1*, *PRB* и *WIF1* при миоме матки, факт обратимости метилирования генов (в отличие от генетических мутаций) открывают большие перспективы для разработки новых подходов к профилактике миомы матки, созданию препаратов, обладающих свойством деметилирования генов-супрессоров опухолевого роста. Сочетанное использование клинических данных, морфологических, инструментальных исследований, изучение генома и эпигенома позволяет выявлять предикторы возникновения и развития лейомиомы.

Перспективны исследования ДНК-метилирования различных генов при миоме матки и других пролиферативных гинекологических заболеваниях, а также изучение иных эпигенетических механизмов - модификации белков-гистонов и роли микро-РНК при миоме матки.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. WNT-сигнальный путь при миоме матки / Есенева Ф.М., Шалаев О.Н., Оразмурадов А.А., Радзинский В.Е. [и соавт.] // *Мать и дитя в Кузбассе*. — 2017. — №2. — С. 33-38.
2. Активация WNT-сигнального пути у пациенток с миомой матки / Есенева Ф.М., Шалаев О.Н., Хамошина М.Б., Оразмурадов А.А. [и соавт.] // *Исследования и практика в медицине*. — 2017. — No S2. — С. 51.
3. Влияние эпигенетических процессов на экспрессию генов стероидных рецепторов при миоме матки / Есенева Ф.М., Шалаев О.Н., Оразмурадов А.А., Радзинский В.Е. [и соавт.] // *Трудный пациент*. — 2017. — Т. 15. — No 1-2. — С. 23-26.
4. Есенева, Ф.М. Эпигенетика и эпигенетические абберации при миоме матки / Есенева Ф.М., Киселев В.И., Салимова Л.Я. // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. — 2016. — No 2. — С. 160-170.
5. Особенности ДНК-метилирования при миоме матки / Киселев В.И., Радзинский В.Е., Шалаев О.Н., Есенева Ф.М. [и соавт.] // *Молекулярная медицина*. — 2017. — Т. 15. — No 3. — С. 45-50.

6. Особенности ДНК-метилирования при миоме матки / Шалаев О.Н., Есенева Ф.М., Киселев В.И., Салимова Л.Я. [и соавт.] // Материалы 9 Общероссийского семинара "Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии", 10-13 сентября, 2016г., г. Сочи. — С. 86-88.

7. DNA-methylation in uterine myoma / Eseneeva F.M., Khamoshina M.B., Radzinsky V.E., Kiselev V.I. [et al.] // The 17 World Congress of the Academy of Human Reproduction, 15-18 March, 2017, Rome, Italy (poster session and abstract publication). [Электронный ресурс]. — Режим доступа: [<http://hr2017.humanrepaacademy.org/abstractbook/pdf/abs5921.pdf>].

8. Epigenetics and fibroids / Eseneeva F., Radzinskiy V., Khamoshina M., Salimova L. [et al.] // 25th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (COGI), Vienna, Austria, November 30–December 2, 2017 (abstract publication).

#### ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ МИОМЫ МАТКИ

Есенева Фарида Мухарбиевна (Россия)

В диссертационном исследовании разработана и научно обоснована концепции риска органонуносящего лечения ММ с учетом эпигенетических детерминант. Разработана математическая модель прогнозирования риска возникновения и прогрессивного течения миомы матки у пациенток репродуктивного возраста, перенесших миомэктомию.

#### EPIGENETIC DETERMINANTS OF UTERINE MYOMA

Eseneeva Farida Mukharbievna (Russia)

The risk concept of operative treatment of fibroids based on epigenetic determinants is developed in this study. The mathematical model of risk of development and progredient course in reproductive patients with uterine myoma after fibroid removal is developed also in this study.

