

КЛИНИЧЕСКИЕ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИОМЫ МАТКИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ СЕЛЕКТИВНОГО МОДУЛЯТОРА ПРОГЕСТЕРОНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Игорь Олегович МАРИНКИН¹, Людмила Анатольевна ПИВЕНЬ^{1,2},
Александр Викторович ВОЛЧЕК^{1,2}, Дмитрий Александрович СОЛЯНИКОВ²,
Юлия Викторовна ЗЕНИНА¹, Елена Семеновна МИХАЙЛОВА¹,
Владимир Вилорьевич ОМИГОВ¹, Светлана Владимировна АЙДАГУЛОВА¹

¹ Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

² Государственная Новосибирская областная клиническая больница
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

Цель исследования – в условиях предоперационного стандартного применения улипристала ацетата (УА) изучить клинические особенности пациенток репродуктивного возраста с миомой тела матки и продукцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в доминирующем миоматозном узле и перифокальном миометрии. **Материал и методы.** Исследованы 140 образцов операционного материала 35 женщин, выполнена оценка спонтанной и стимулированной поликлональными активаторами продукции VEGF в среде инкубации узлов и миометрия с помощью иммуноферментного анализа. **Результаты и их обсуждение.** У пациенток с миомой матки, принимавших перед операцией УА по стандартной схеме 5 мг ежедневно в течение 13 недель, продукция VEGF в доминантном миоматозном узле достоверно снижена по сравнению с перифокальным миометрием ($p < 0,001$); аналогичные результаты у пациенток контрольной группы, не принимавших УА. Однако при сравнении среды инкубации фрагментов доминантных опухолевых узлов выявлено достоверно меньшее содержание показателя VEGF в группе женщин, принимавших УА ($p = 0,026$), в отличие от среды инкубации перифокального миометрия. **Заключение.** Применение селективного модулятора прогестероновых рецепторов вызывает снижение продукции VEGF клетками миоматозных узлов и не влияет на клетки перифокального миометрия.

Ключевые слова: миома тела матки, миометрий, фактор роста эндотелия сосудов, селективный модулятор прогестероновых рецепторов, иммуноферментный анализ.

Автор для корреспонденции: Айдагулова С.В., e-mail: s.aydagulova@gmail.com

Для цитирования: Маринкин И.О., Пивень Л.А., Волчек А.В., Соляников Д.А., Зенина Ю.В., Михайлова Е.С., Омигов В.В., Айдагулова С.В. Клинические и гистологические особенности миомы матки у женщин репродуктивного возраста в условиях применения селективного модулятора прогестероновых рецепторов. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (1): 39–44. doi 10.15372/SSMJ20200105

Поступила в редакцию 30.09.2019

CLINICAL AND HISTOLOGIC FEATURES OF UTERINE MYOMA IN REPRODUCTIVE-AGE WOMEN UNDER THE TREATMENT BY SELECTIVE PROGESTERONE RECEPTOR MODULATORS

Igor' Olegovich MARINKIN¹, Lyudmila Anatol'evna PIVEN^{1,2},
Alexandr Viktorovich VOLCHEK^{1,2}, Dmitriy Alexandrovich SOLYANIKOV²,
Yuliya Viktorovna ZENINA¹, Elena Semenovna MIKHAYLOVA¹,
Vladimir Vilor'evich OMIGOV¹, Svetlana Vladimirovna AIDAGULOVA¹

¹ Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

² State Novosibirsk Regional Clinical Hospital
630087, Novosibirsk, Nemirovich-Danchenko str., 130

Aim of the study was to investigate the clinical features of reproductive age women with uterine body myoma and the production of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the dominant myoma node and perifocal myometrium under the preoperative use of ulipristal acetate (UA). **Material and methods.** 140 samples of 35 women surgical material were studied, VEGF content in the incubation medium of samples of myoma and myometrium was measured using enzyme-linked immunosorbent assay. **Results and discussion.** The treatment by UA before myoma surgery according to the standard regimen per 5 mg daily for 13 weeks deals with significantly reduced production of VEGF in the dominant myoma node compared to perifocal myometrium ($p < 0.001$), which is similar to patients of the control group. However, when comparing tumor nodes, a significantly lower content of VEGF was revealed in the UA-group ($p = 0.026$); unlike the perifocal myometrium samples. **Conclusion.** The use of a selective modulator of progesterone receptors down-regulates the production of VEGF by the cells of the myoma nodes and doesn't impact on the perifocal myometrium.

Key words: uterine myoma, myometrium, vascular endothelial growth factor, selective progesterone receptor modulator, enzyme immunoassay.

Correspondence author: Aidagulova S.V., e-mail: s.aidagulova@gmail.com

Citation: Marinkin I.O., Piven L.A., Volchek A.V., Solyanikov D.A., Zenina Yu.V., Mikhaylova E.S., Omigov V.V., Aidagulova S.V. Clinical and histologic features of uterine myoma in reproductive-age women under the treatment by selective progesterone receptor modulators. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (1): 39–44. [In Russian]. doi 10.15372/SSMJ20200105

Received 30.09.19

Лейомиома (миома, фибромиома) тела матки, самая распространенная доброкачественная опухоль у женщин, снижает репродуктивную функцию и качество жизни [6]. Выбор метода лечения пациенток определяется репродуктивными задачами и клинической картиной, при этом во многих случаях проводится миом- и даже гистерэктомия [7]. Среди применяемых для медикаментозного лечения миомы препаратов, временно купирующих симптомы, доказана эффективность агонистов и антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона, антипрогестинов и в последние годы – улипристала ацетата (УА). УА представляет собой селективный модулятор прогестероновых рецепторов, локализующихся в миометрии и эндометрии. УА из-за структурного сходства с прогестероном может взаимодействовать с его рецепторами, и, в зависимости от изменения конформации рецептора, в соответствующем связывающем домене возникают репрессивные или активирующие эффекты. Какой из эффектов УА будет доминировать – агонистический или антагонистический – зависит от его структуры и изменения конформации рецептора прогестерона, а также от наличия дополнительных факторов в конкретном типе клеток и от физиологического контекста, например уровня других гормонов [4, 8].

По данным метаанализов выполнено всего пять плацебо-контролируемых исследований результатов стандартного предоперационного применения УА в течение 3 мес. суммарно 882 пациентками с миомой тела матки [3]. По сравнению с плацебо, при проведении лапароскопической миомэктомии статистически достоверно

снижены интраоперационная кровопотеря, продолжительность операции и частота переливаний крови. Эффекты УА непосредственно на миоматозный узел включают в себя ингибирование пролиферации и индукцию апоптоза опухолевых миоцитов с редукцией внеклеточного матрикса [2], а также снижение экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [1, 10] при сохранении уровня экспрессии прогестероновых и эстрогеновых рецепторов на парафиновых срезах [1]. Экспериментальные доказательства эффективности антиангиогенных стратегий лечения миомы матки ограничены [9]. Тем временем клинические и молекулярные исследования предоперационного применения УА при лейомиоме матки продолжаются [5].

Цель работы – изучить уровень продукции VEGF в доминантном миоматозном узле и перифокальном миометрии у пациенток репродуктивного возраста с множественной симптомной миомой тела матки без лечения и в условиях предоперационного применения селективного модулятора прогестероновых рецепторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено клиническое и иммуноферментное неконтролируемое рандомизированное (независимая последовательная рандомизация пациентов с помощью сгенерированной заранее таблицы случайных чисел) исследование 35 женщин репродуктивного возраста с клиническим диагнозом «множественная симптомная миома тела матки», прооперированных в 2015–2017 гг.

в гинекологическом отделении ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» – клинической базе кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. Исследование одобрено локальным Этическим комитетом Государственной Новосибирской областной клинической больницы.

Критерии включения в исследование: наличие миомы матки с клиническими показаниями к оперативному лечению, репродуктивный возраст (до 45 лет), уровень фолликулостимулирующего гормона ≤ 12 МЕд/мл и информированное согласие пациентки. Критерии исключения: возраст 45 лет и старше, неопластические процессы и декомпенсированная соматическая патология.

Обследование перед оперативным вмешательством включало в себя общеклинические, специальные и инструментальные методы; изучены жалобы, акушерско-гинекологический анамнез и экстрагенитальная патология. Из 35 обследованных 23 женщины не получали какого-либо гормонального лечения (1-я группа), при этом случайно выбранным 12 пациенткам (2-я группа) для снижения риска кровопотери был рекомендован предоперационный прием УА (Эсмия®) по стандартной схеме – ежедневно в течение трех месяцев (по 28 таблеток в однократной дозе 5 мг).

После миомэктомии исследовали спонтанный (базовый) и стимулированный уровень продукции VEGF клеточными элементами опухолевого образца и перифокальной интактной ткани миометрия, содержащийся в супернатантах. Исследование проводили с помощью набора «Цитокин-Стимул-Бест» производства ЗАО «Вектор-Бест» по инструкции производителя. В каждом клиническом наблюдении из иссеченного при миомэктомии доминантного узла немедленно нарезали стерильными инструментами два макроскопически идентичных фрагмента объемом по 4 мм³ и помещали во флаконы с 2 мл питательной среды, нагретой в термостате до 37 °С; при этом один из флаконов наряду с питательной средой содержал поликлональные активаторы: 4 мкг/мл фитогемагглютинаина (ФГА), 4 мкг/мл конканавалина А, 2 мкг/мл липополисахарида. Аналогичным образом были взяты фрагменты внешне интактного перифокального миометрия. Затем образцы узлов и миометрия инкубировали в термостате при 37 °С в течение трех суток. После окончания инкубации образцы переносили в фиксатор (10%-й забуференный формалин), супернатанты аликвотировали, хранили при –80 °С и использовали для исследования цитокинпродуцирующего потенциала клеточных элементов.

С помощью твердофазного иммуноферментного анализа определяли содержание VEGF в супернатантах инкубируемых образцов операционного материала – доминантного миоматозного узла и перифокального миометрия – с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест». Индекс влияния поликлональных активаторов (ИВПА) выражали в условных единицах и высчитывали по формуле: ИВПА = А/Б, где А – уровень стимулированной поликлональными активаторами продукции цитокина, Б – уровень спонтанной продукции цитокина.

Непрерывные переменные представлены в виде среднего арифметического и среднеквадратического отклонения ($M \pm SD$), номинальные данные – в виде относительных частот объектов исследования ($n, \%$). Для оценки отсутствия/наличия достоверного различия между переменными внутри групп пациенток использовали критерий Вилкоксона. Межгрупповые различия количественных переменных оценивали с помощью теста Вальда – Вольфовитца, для сравнения дихотомических переменных применяли точный критерий Фишера. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Возраст пациенток варьировал от 25 до 45 лет, по данному параметру группы не различались (табл. 1). До лечения в клинической картине доминировали нарушения менструального цикла – преимущественно аномальные маточные кровотечения, которые сопровождались болевым синдромом и анемией средней степени тяжести (см. табл. 1). Как и ожидалось, объем матки и диаметр доминирующего узла у больных 1-й группы перед операцией не изменились. После оперативного лечения среди пациенток 1-й группы достоверно уменьшилось число женщин с аномальными маточными кровотечениями (см. табл. 1), однако снижение содержания гемоглобина крови и редукция болевого синдрома не были значимыми.

Во 2-й группе пациенток, применявших УА в течение трех месяцев перед миомэктомией, уменьшились не только показатели нарушений менструального цикла, но также болевого синдрома и анемии (см. табл. 1), которые отмечены в большинстве исследований [10]. В отличие от 1-й группы, по данным УЗИ перед операцией объем матки и диаметр доминирующего миоматозного узла достоверно уменьшились по сравнению с показателями до лечения. Важно отметить, что терапия УА во 2-й группе привела к достоверным различиям между 1-й и 2-й группами по объему

Таблица 1. Клинические особенности пациенток с множественной симптомной миомой матки до и после лечения

Table 1. Clinical features of patients with multiple symptomatic uterine myoma before and after treatment

Клиническая особенность	Группа 1 (без гормональной терапии), n = 23		Группа 2 (терапия УА), n = 12		p между группами после операции
	Перед операцией	После операции	Перед операцией	После операции	
Возраст, лет	40,5 ± 3,40		39,5 ± 3,32		p = 0,624
Нарушения менструального цикла, n (%)	20 (86,9)	8 (34,7)	10 (83,3)	2 (16,7)	p = 0,2359
	p = 0,0003		p = 0,0017		
Содержание гемоглобина в крови, г/л*	96,0 ± 6,1	101,3 ± 4,2	94,3 ± 4,8	116,0 ± 4,2	p = 0,002
	p = 0,12		p = 0,004		
Болевой синдром, n (%)	18 (78,3)	12 (52,2)	9 (75,0)#	2 (16,7)	p = 0,0447
	p = 0,0602		p = 0,0061		
	До терапии	Перед операцией	До терапии	Перед операцией	p между группами перед операцией
Объем матки, см ³	620 ± 112	602 ± 78	623 ± 106	582 ± 82	p = 0,004
	p = 0,62		p = 0,001		
Диаметр доминирующего узла, см	6,2 ± 2,1	5,9 ± 3,2	6,0 ± 1,5	4,9 ± 2,0	p = 0,0195
	p = 0,628		p = 0,0313		

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – отличие от величины ИПВА в доминантном миоматозном узле статистически значимо при p = 0,026; # – отличие от величины соответствующего показателя до лечения статистически значимо при p < 0,001; Ме – медиана, Q₁ – нижний квартиль, Q₃ – верхний квартиль.

Таблица 2. Показатели продукции VEGF в доминантном миоматозном узле и перифокальном миометрии у пациенток репродуктивного возраста (ИВПА)

Table 2. VEGF production (indexes of influence) in dominant myoma nodes and perifocal myometrium in patients of reproductive age

Показатель	Группа 1 (без гормональной терапии)		Группа 2 (терапия УА)	
	Узел	Миометрий	Узел	Миометрий
m ± SD	1,10 ± 0,66	1,25 ± 0,70	0,77 ± 0,43	1,33 ± 0,77*
Min	0,10	0,12	0,32	0,21
Max	3,0	2,53	1,35	2,3
Ме (Q ₁ –Q ₃)	1,02 (0,68–1,55)	1,08 (0,76–1,75)	0,44 (0,35–1,09)	0,93 (0,31–1,80)

матки и диаметру наибольшего узла перед операцией.

В 1-й группе структурная организация доминирующего миоматозного узла при световой микроскопии характеризовалась разнонаправленными пучками опухолевых миоцитов и варьирующим количеством внеклеточного матрикса, что соответствовало фенотипу «простой миомы». Во 2-й группе фрагменты доминирующего узла характеризовались дистрофическими изменениями миоцитов с оптически более светлой цитоплазмой и кариорексисом. Перифокальный миометрий в образцах обеих групп пациенток был представлен пучками гетерогенных гладкомышечных клеток с различной долей соединительной ткани

и минимальной периваскулярной клеточной инфильтрацией.

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

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

В работе [10] продемонстрированы проапоптотический и антипролиферативный эффекты УА на клетки лейомиомы, сопровождавшиеся редукцией отложений коллагена во внеклеточном матриксе и снижением экспрессии VEGF, однако эти предоперационные изменения были способны индуцировать эффект «миграции» узла, что вело к изменению плана оперативного лечения. Полученные нами результаты свидетельствуют о вероятном сохранении проопухолевого потенциала миометрия у пациенток с множественной симптомной миомой тела матки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение пациентками репродуктивного возраста селективного модулятора прогестероновых рецепторов по стандартной схеме перед оперативным лечением вызывает снижение продукции VEGF клетками миоматозных узлов и не влияет на перифокальный миометрий, что наряду с другими факторами лежит в основе мультифокального роста миомы тела матки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Демура Т.А., Ревазова З.В., Коган Е.А., Адамьян Л.В. Молекулярные механизмы и морфологические проявления редукции лейомиомы под воздействием селективных модуляторов рецепторов прогестерона. *Арх. патологии*. 2017; 79 (3): 19–26. doi: 10.17116/patol201779319-26

Demura T.A., Revazova Z.V., Kogan E.A., Adamyan L.V. Molecular mechanisms and morphological manifestations of leiomyoma reduction under the influence of selective progesterone receptor modulators.

Arkiv patologii = Archive of Pathology. 2017; 79 (3): 19–26. [In Russian]. doi: 10.17116/patol201779319-26

2. Courtoy G.E., Donnez J., Marbaix E., Dolmans M.-M. *In vivo* mechanisms of uterine myoma volume reduction with ulipristal acetate treatment. *Fertil. Steril.* 2015; 104 (2): 426–434. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.04.025

3. de Milliano I., Twisk M., Ket J.C., Huirne J.A., Hehenkamp W.J. Pre-treatment with GnRHa or ulipristal acetate prior to laparoscopic and laparotomic myomectomy: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017; 12 (10): e0186158. doi: 10.1371/journal.pone.0186158

4. Garnock-Jones K.P., Duggan S.T. Ulipristal acetate: A review in symptomatic uterine fibroids. *Drugs*. 2017; 77 (15): 1665–1675. doi: 10.1007/s40265-017-0812-3

5. Ghonim M., Magdy R., Sabbour M., Ghonim M., Nabhan A. A systematic review and meta-analysis of ulipristal acetate for symptomatic uterine fibroids. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2019; 146 (2): 141–148. doi: 10.1002/ijgo.12868

6. Islam M.S., Ciavattini A., Petraglia F., Castellucci M., Ciarmela P. Extracellular matrix in uterine leiomyoma pathogenesis: A potential target for future therapeutics. *Hum. Reprod. Update*. 2018; 24 (1): 59–85. doi: 10.1093/humupd/dmx032

7. Lui J., Soper D., Lukes A., Gee P., Kimble T., Kroll R., Mallick M., Chan A., Gillard P., Harrington A., Sniukiene V., Shulman L.P. Ulipristal acetate for treatment of uterine leiomyomas: A randomized controlled trial. *Obstet. Gynecol.* 2018; 132: 1241–1251. doi: 10.1097/AOG.0000000000002942

8. Rabe T., Saenger N., Ebert A.D., Roemer T., Tinneberg H.R., de Wilde R.L., Wallwiener M. Selective progesterone receptor modulators for the medical treatment of uterine fibroids with a focus on Ulipristal acetate. *Biomed. Res. Int.* 2018; 2018: 1374821. doi: 10.1155/2018/1374821. eCollection 2018

9. Tal R., Segars J.H. The role of angiogenic factors in fibroid pathogenesis: Potential implications for future therapy. *Hum. Reprod. Update*. 2014; 20 (2): 194–216. doi: 10.1093/humupd/dmt042

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

Сведения об авторах:

Маринкин И.О., д.м.н., проф., e-mail: rector@ngmu.ru

Пивень Л.А., к.м.н., e-mail: ludmilapiv@yandex.ru

Волчек А.В., e-mail: alexander@volcheck.ru

Соляников Д.А., e-mail: solyanikovda@gmail.com

Зенина Ю.В., e-mail: ulia_viktorovna@bk.ru

Михайлова Е.С., e-mail: elena.michajlova.58@mail.ru

Омигов В.В., e-mail: omigov@vector.nsc.ru

Айдагулова С.В., д.б.н., проф., e-mail: s.aydagulova@gmail.com

Information about authors:

Marinkin I.O., doctor of medical sciences, professor, e-mail: rector@ngmu.ru

Piven' L.A., candidate of medical sciences, e-mail: ludmilapiv@yandex.ru

Volchek A.V., e-mail: alexander@volcheck.ru

Solyanikov D.A., e-mail: solyanikovda@gmail.com

Zenina Yu.V., e-mail: ulia_viktorovna@bk.ru

Mihaylova E.S., e-mail: elena.michajlova.58@mail.ru

Omigov V.V., e-mail: omigov@vector.nsc.ru

Aidagulova S.V., doctor of biological sciences, professor, e-mail: s.aydagulova@gmail.com