

<https://doi.org/10.17116/patol20188006114>

Экспрессия моэзина, p21-активированной киназы 4 (РАК 4), матричных металлопротеиназ (ММР 2, ММР 9) и CD34 в эутопическом и эктопическом эндометрии при аденомиозе

О.В. ЗАЙРАТЬЯНЦ¹, Л.В. АДАМЯН^{1,2}, Л.М. МАНУКЯН¹, Д.В. КАЛИНИН³, К.Н. АРСЛАНЯН^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования — изучить экспрессию моэзина, РАК 4, ММР 2, ММР 9 и CD34 в эутопическом и эктопическом эндометрии при различных формах аденомиоза. **Материал и методы.** Изучено 50 удаленных маток по поводу диффузной формы аденомиоза и аденомиом (по 25 случаев) у женщин репродуктивного и предменопаузального возраста. В группу сравнения вошли 20 наблюдений удаленных маток по поводу интрамуральных и субсерозных миом у женщин репродуктивного и предменопаузального возраста. Проводили гистологическое и иммуногистохимическое (с антителами к моэзину, РАК 4, ММР 2, ММР 9 и CD34) исследование эутопического и эктопического эндометрия. **Результаты.** Для разных форм аденомиоза характерны неровная граница эндометрия и миометрия за счет множественных очагов врастания базального слоя эндометрия через пограничную пластинку в миометрий. Базальный слой эутопического и эктопического эндометрия как при диффузной форме аденомиоза, так и при аденомиомах отличается многократно, в 3—8,5 раза, повышенной в эпителиальных и стромальных клетках экспрессией ферментов, влияющих на их инвазивную активность — моэзина, РАК 4, ММР 2 и ММР 9, а также увеличением в его строме числа клеток с рецептором CD34. При этом отсутствуют статистически достоверные различия показателей их экспрессии в базальном слое эутопического и эктопического эндометрия при диффузном аденомиозе и аденомиомах. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют в пользу теории патогенеза аденомиоза вследствие инвазии эутопического эндометрия в миометрий.

Ключевые слова: аденомиоз, эутопический и эктопический эндометрий, экспрессия моэзина, РАК 4, ММР 2, ММР 9, CD34.

The expression of moesin, p21-activated kinase 4 (PAK 4), matrix metalloproteinases (MMP 2, MMP 9), and CD34 in the eutopic and ectopic endometrium in adenomyosis

O.V. ZAYRATYANTS¹, L.V. ADAMYAN^{1,2}, L.M. MANUKYAN¹, D.V. KALININ³, K.N. ARSLANYAN^{1,2}

¹A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia;

²Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia;

³A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Objective — to investigate the expression of moesin, p21-activated kinase 4 (PAK 4), matrix metalloproteinases (MMP 2, MMP 9), and CD34 in the eutopic and ectopic endometrium in different forms of adenomyosis. **Material and methods.** Fifty uteri removed for diffuse adenomyosis and for adenomyomas were examined in reproductive-aged ($n=25$) and premenopausal ($n=25$) women. A comparison group included 20 uteri removed for intramural and subserosal fibroids in reproductive-aged and premenopausal women. The investigators performed histological and immunohistochemical (using antibodies to moesin, PAK 4, MMP 2, MMP 9, and CD34) examinations of the eutopic and ectopic endometrium. **Results.** Different forms of adenomyosis were characterized by the irregular border of the endometrium and myometrium due to that there were multiple foci of ingrowth of the basal layer of the endometrium through the terminal plate into the myometrium. In both diffuse adenomyosis and adenomyomas, the basal layer of the eutopic and ectopic endometrium differed many (3—8.5) times, showing the higher expression of the enzymes in the epithelial and stromal cells, which affected their invasive activity (moesin, PAK 4, MMP 2 and MMP 9), and the increased number of CD34 cells in its stroma. At the same time, there were no statistically significant differences in their expression in the basal layer of the eutopic and ectopic endometrium in diffuse adenomyosis and adenomyomas. **Conclusion.** The findings favor the theory of the pathogenesis of adenomyosis due to the invasion of the eutopic endometrium into the myometrium.

Keywords: adenomyosis, eutopic and ectopic endometrium, expression of moesin, PAK 4, MMP 2, MMP 9, CD34.

Зайратьянц Олег Вадимович — д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой патологической анатомии; e-mail: ovzair@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3606-3823>

Адамян Лейла Владимировна — <https://orcid.org/0000-0003-4621-2079>

Манукян Лиана Микаеловна — <https://orcid.org/0000-0001-8395-7534>

Калинин Дмитрий Валерьевич — <https://orcid.org/0000-0001-6247-9481>

Арслянян Карина Нориковна — <https://orcid.org/0000-0001-6146-830X>

Аденомиоз (генитальный внутренний эндометриоз, эндометриоз матки) характеризуется появлением эндометриодных гетеротопий в мышечном и серозном слоях тела матки, интрамуральной части маточных труб или в шейке матки (цервикальном канале) [1, 2]. Не утратило своего значения определение аденомиоза, впервые предложенное С. Bird и соавт. в 1972 г., как «доброкачественной инвазии эндометрия в миометрий, приводящей к диффузному увеличению матки, которая микроскопически представлена эктопическими, не неоплазированными эндометриальными железами и стромой, окруженными гипертрофированным и гиперпластичным миометрием» (цит. по [1]).

Аденомиоз широко распространен и, по данным разных авторов, встречается у 8—62% женщин репродуктивного возраста, составляя более 90% от числа всех локализаций эндометриоза. Широкий разброс показателей частоты аденомиоза объясняется его нередким бессимптомным течением. Заболевание носит эстрогензависимый характер и выявляется более чем у половины женщин с бесплодием. Заболевают в основном женщины в возрасте 30—45 лет, хотя первые признаки аденомиоза могут появляться у подростков в период становления менструальной функции. С наступлением беременности или в менопаузе симптомы аденомиоза обычно регрессируют [1—3].

До настоящего времени нет единого мнения о механизмах развития аденомиоза, как и эндометриоза в целом. Ни одна из существующих теорий не объясняет всю полноту известных фактов. Хотя аденомиоз и является доброкачественным патологическим процессом, он демонстрирует инвазивный характер роста как эпителиального (за редким исключением), так и стромального компонента эктопических эндометриодных очагов и базального слоя эутопического эндометрия с нарушением пограничного с ним слоя миометрия (пограничной пластинки) [1, 4—7].

Молекулярные механизмы, ответственные за патогенез заболевания, не установлены, но в эктопическом и эутопическом эндометрии при аденомиозе выявлены повышенная экспрессия различных факторов роста и ангиогенеза, а также патологический синтез фермента ароматазы (цитохрома P450), приводящего к локальной гиперэстрогении за счет превращения андростендиона и тестостерона в эстрон и эстрадиол [5—11].

Повышенная инвазивная активность эндометрия при аденомиозе подтверждается увеличением продукции цинк-зависимых матриксных металлопротеиназ (ММП), преимущественно желатиназ А и В (ММП 2 и 9), эктопическим и эутопическим эндометрием с угнетением экспрессии их тканевых ингибиторов (ТИМР) [5, 12—16].

При аденомиозе обнаружено высокое содержание в эктопическом и эутопическом эндометрии белка моэзина (его активной фосфорилированной формы) и соответствующей мРНК. Это позволило предположить, что гиперэкспрессия моэзина является уникальным биомаркером аденомиоза. Моэзин (moesin) — белок семейства ERM (ezrin/radixin/moesin)-протеинов, включающих также эзрин и радиксин, присутствует в клетках многих тканей, влияет на метаболизм белков цитоскелета, контролируя геометрическую форму, адгезию, межклеточное распознавание, подвижность клеток и обеспечивая процессы инвазивного роста [17—19]. Поэтому при аденомиозе представляет интерес исследование экспрессии других ключевых белков, регулирующих процессы инвазии, таких как p21-активированная киназа 4 (PAK 4), а также маркеров субпопуляций стволовых клеток, в частности CD34.

p21-активированные киназы (PAK 1—4) относятся к митогенактивируемому протеинкиназному каскаду и представляют собой семейство серин/трионинных киназ. PAK 4 рассматривают как ключевое звено сигнальных путей, регулирующих метаболизм клеточного цитоскелета, от чего зависят адгезия и подвижность клеток. Выявлена повышенная экспрессия PAK 4 при раке молочной железы, поджелудочной железы, толстой кишки и яичников. Гиперэкспрессия PAK 4 связана с прогрессией этих опухолей и их метастазированием [20—22].

CD34 — гликозилированная трансмембранная молекула адгезии клеток, которая выявляется у гемопоэтических стволовых клеток, эндотелиальных клеток и субпопуляции фибробластоподобных клеток соединительной ткани, расцениваемых как стволовые. Зрелые клетки (кроме эндотелиоцитов) теряют способность к экспрессии CD34. Этот маркер применяют для иммуногистохимического выявления эндотелия сосудов и разных субпопуляций стволовых клеток [23, 24].

Цель исследования — изучить экспрессию моэзина, PAK 4, ММП 2, ММП 9 и CD34 в эутопическом и эктопическом эндометрии при разных формах аденомиоза.

Материал и методы

Исследовали образцы эутопического и эктопического эндометрия у 50 пациенток репродуктивного и предменопаузального возраста в фазу пролиферации и раннюю фазу секреции менструального цикла с разными формами аденомиоза (основная группа). Обследовали женщин в возрасте от 21 года до 49 лет (в среднем $31 \pm 4,1$ года). Матки были удалены по поводу диффузной формы аденомиоза с поражением тела матки II—IV стадии по классификации Л.В. Адамян (1992, 1998, цит. по [1]) (25 наблюдений) и аденомиом, единичных и множественных, интрамуральных и субмукозных с диаметром узлов от 1,5 до 6 см (25 наблюдений). В основную группу не включали пациенток с сопутствующими заболеваниями, а также получавших гормональную терапию за последние полгода. В группе сравнения использовали образцы эндометрия 20 маток, удаленных по поводу интрамуральных и субсерозных простых лейомиом у женщин репродуктивного и предменопаузального возраста, также в фазу пролиферации и раннюю фазу секреции менструального цикла (возраст пациенток от 29 до 52 лет, в среднем $33 \pm 5,7$ года). В группу сравнения не включали наблюдения с субмукозными миомами и патологией эндометрия, а также пациенток с сопутствующими заболеваниями и получавших в последние полгода лечение гормональными препаратами.

Гистологическое исследование проводили на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, иммуногистохимическое — в отделе патологической анатомии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России.

Для гистологического исследования использовали стандартный метод фиксации в 10% нейтральном формалине и заливки в парафин с окраской гистологических препаратов гематоксилином и эозином. В каждом наблюдении исследовали по 3—4 образца, взятых из тела удаленных маток на границе эндометрия и миометрия, и из разных участков миометрия (и аденомиом). Их изучение позволяло подтвердить и уточнить патогистологический

Экспрессия моэзина, РАК 4, ММР 2 и 9 ($M \pm \sigma$) в эутопическом и эктопическом эндометрии при разных формах аденомиоза и в группе сравнения

Показатель	Группа сравнения ($n=10$)		Основная группа					
			эутопический эндометрий при разных формах аденомиоза ($n=40$)		эктопический эндометрий, диффузная форма аденомиоза ($n=20$)		эктопический эндометрий, аденомиомы ($n=20$)	
	эпителий	стромы	эпителий	стромы	эпителий	стромы	эпителий	стромы
Моэзин	0,4±0,51	0,2±0,28	2,4±0,45	1,3±0,86	2,2±0,65	1,6±0,78	2,3±0,61	1,7±0,72
РАК 4	0,3±0,32	0,3±0,33	2,3±0,59	1,2±0,73	2,1±0,66	1,4±0,58	2,2±0,58	1,5±0,42
ММР 2	0,8±0,67	0,6±0,64	2,4±0,51	2,1±0,69	2,5±0,47	2,3±0,53	2,5±0,42	2,4±0,36
ММР 9	0,7±0,73	0,5±0,59	2,4±0,57	2,0±0,77	2,4±0,42	2,2±0,61	2,6±0,50	2,3±0,31

Примечание. $p < 0,05$ для эпителия и стромы по сравнению с группой сравнения для всех трех подгрупп основной группы. Показатели подгрупп основной группы статистически между собой не различались.

диагноз, выявить эндометриоидные очаги, а также отобрать парафиновые блоки для проведения иммуногистохимического исследования.

С помощью иммуногистохимического метода изучали 50 образцов, из них 20 аденомиоза, 20 аденомиом и 10 из группы сравнения. Исследование выполняли, используя серийные срезы, изготовленные из парафиновых блоков, отобранных в ходе предварительного гистологического исследования. В качестве первичных использовали антитела к моэзину (Moesin, «GeneTex», США, в разведении 1:100), p21-активированной киназе 4 (РАК 4, «GeneTex», США, в разведении 1:100), матриксным металлопротеиназам 2 и 9 (ММР 2, ММР 9, «Lab Vision», США, в разведении 1:100) и маркеру эндотелиальных и стволовых клеток CD34 («Dako», Норвегия, в разведении 1:100).

Постановку иммуногистохимических реакций после высокотемпературного восстановления антигенных детерминант в РТ-модуле для термической обработки парафиновых срезов («Thermo Scientific», Великобритания) осуществляли в аутостейнере Thermo Scientific (Великобритания) согласно протоколам, прилагаемым фирмами-изготовителями к моно- и поликлональным антителам. Для визуализации реакций применяли готовую тест-систему Histophine («Nichirei Corp.», Япония) с универсальными вторичными антителами, меченными хромогеном (3,3'-диаминобензидином). Учитывали два негативных контроля (на специфичность реакции и отсутствие активной эндогенной пероксидазы) и один внутренний позитивный на специфичность реакции.

Для количественной оценки иммуногистохимических реакций с антителами к моэзину, РАК 4, ММР 2 и ММР 9 использовали полуколичественный метод. Учитывали выраженность их экспрессии в баллах (отсутствие — 0 баллов, слабая — 1 балл, умеренная — 2 балла и выраженная — 3 балла) отдельно для эпителиальных и стромальных клеток базального слоя эутопического эндометрия и эндометриоидных очагов. Подсчет проводили в 10 случайным образом отобранных полях зрения при увеличении микроскопа 400. При оценке экспрессии CD34 имеют значение ее наличие и локализация, но не степень выраженности, в связи с чем количественный анализ экспрессии этого маркера не проводили.

Результаты морфометрического исследования обрабатывали статистически с использованием программного обеспечения MS Office Excel и Statistica для Windows 10.0, представляли в виде среднего значения и стандартного квадратического отклонения ($M \pm \sigma$) и применяли метод непараметрического анализа по Манну—Уитни. Величина критического уровня значимости принималась равной 0,05.

Результаты

Наблюдения данных группы сравнения показали, что во всех случаях граница базального слоя эндометрия и миометрия ровная, эндометрий не образует инвагинаций и не проникает через пограничную пластинку миометрия (рис. 1, а).

Экспрессия моэзина и РАК 4 отсутствовала или была слабовыраженная в эпителии желез (0,4±0,51; 0,3±0,32) и стромальных клетках (0,2±0,28; 0,3±0,33) базального слоя эндометрия и умеренно выраженная в эндотелии сосудов эндометрия и разных структурах миометрия (см. рис. 1, в, д). Отмечалась слабая экспрессия ММР 2 и ММР 9 в эпителии желез (0,8±0,67; 0,7±0,73) и единичных клетках стромы (0,6±0,64; 0,5±0,59), а также умеренная в эндотелии сосудов базального слоя эндометрия и во всех структурах миометрия. Экспрессия CD34 выявлялась только в эндотелии сосудов и единичных клетках стромы эндометрия и миометрия. Степень и особенности локализации экспрессии изученных маркеров не зависели от возраста женщин, морфологических особенностей просты лейомиом и фазовых изменений эндометрия (гистологически эндометрий соответствовал фазе пролиферации или ранней стадии фазы секреции менструального цикла).

Во всех наблюдениях основной группы как с диффузным аденомиозом, так и аденомиомами граница эндометрия и миометрия была неровная («зубчатая») за счет множественных очагов инвагинации и вставания базального слоя эндометрия через пограничную пластинку в толщу миометрия. Миометрий в этих участках гипертрофирован и гиперплазирован, его отдельные пучки глубоко погружались в базальный слой эндометрия (см. рис. 1, б).

В базальном слое эутопического эндометрия как при диффузной форме аденомиоза, так и аденомиомах была выражена экспрессия моэзина и РАК 4 в эпителии желез (2,4±0,45; 2,3±0,59), клетках стромы (1,3±0,86; 1,2±0,73) и эндотелии сосудов (см. рис. 1, г, е). Она многократно, в 6–7,7 раза в эпителии и в 4–6,5 раза в стромальных клетках выше, чем в базальном слое эндометрия из группы сравнения (см. таблицу). Слабая и умеренная экспрессия этих маркеров отмечалась, как и в наблюдениях группы сравнения, в эндотелии сосудов, миоцитах и экстрацеллюлярном матриксе миометрия, особенно перифокально к очагам вставания в него базального слоя эндометрия.

Экспрессия ММР 2 и ММР 9 также была выраженной в эпителии желез (2,4±0,51; 2,4±0,57), клетках стромы (2,1±0,69; 2,0±0,77), а также в эндотелии сосудов базального слоя эндометрия (см. таблицу), превышая показатели группы сравнения в 3–3,4 раза в эпителии и в 3,5–4 раза в

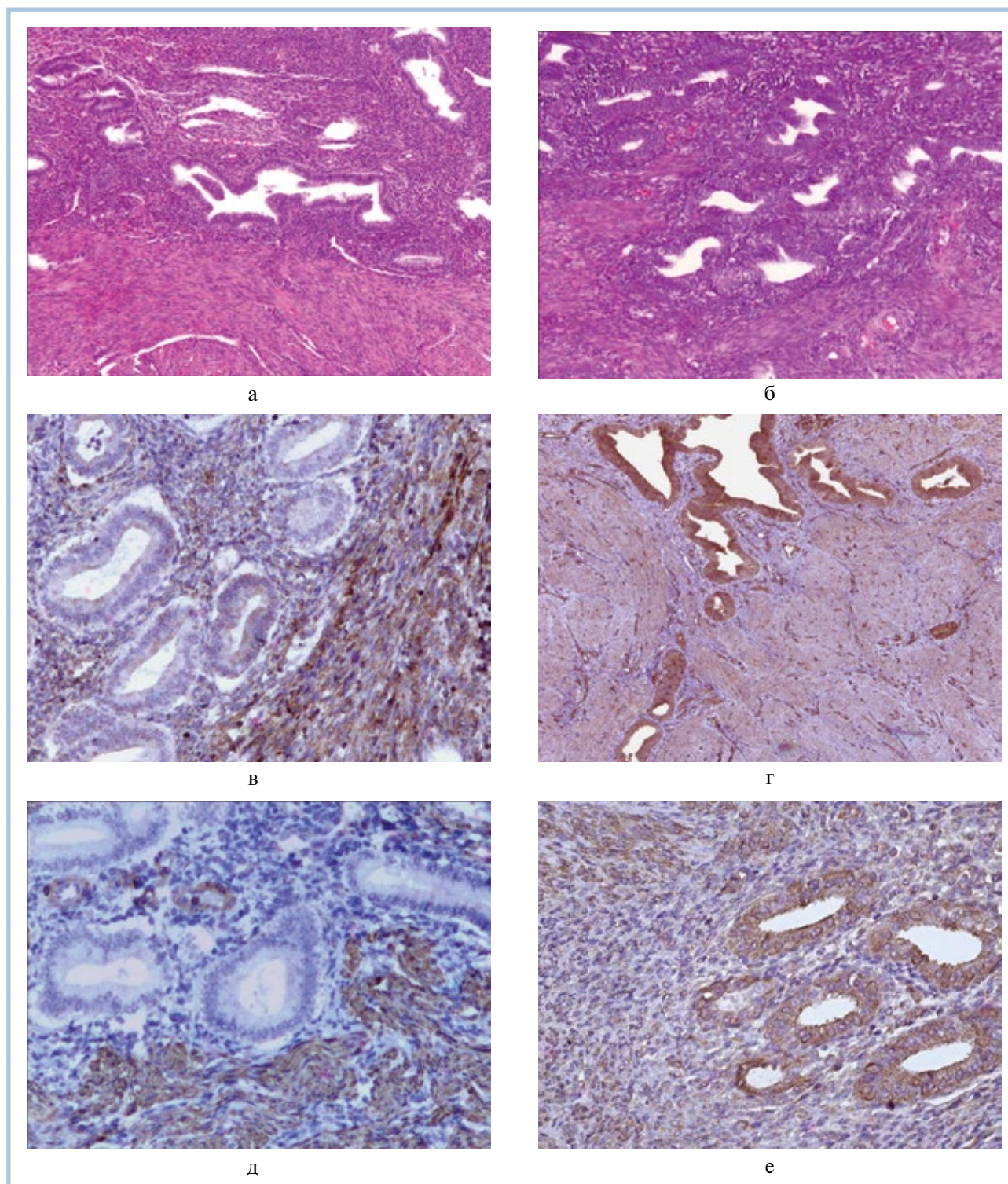


Рис. 1 (а—е). Эутопический эндометрий, базальный слой.

а, в, д — группа сравнения, б, г, е — при диффузной форме аденомиоза; а — ровная граница базального слоя эндометрия и миометрия; б — неровная граница базального слоя эндометрия с миометрием за счет очагов врастания эндометрия через пограничную пластинку в миометрий и пучков миометрия в эндометрий; в — отсутствие или слабая экспрессия моэзина в эпителии желез, клетках стромы эндометрия и умеренная в эндотелии сосудов эндометрия и структурах миометрия; г — выраженная экспрессия моэзина в эпителии желез, клетках стромы, эндотелии сосудов и умеренная в структурах миометрия; д — отсутствие экспрессии PAK 4 в эпителии желез, слабая экспрессия в единичных клетках стромы эндометрия, умеренная в эндотелии сосудов эндометрия и миометрия, в миоцитах миометрия; е — умеренная экспрессия PAK 4 в структурах эндометрия и миометрия; а, б — окраска гематоксилином и эозином, в—е — непрямым иммунопероксидазным методом с антителами к моэзину (в, г), PAK 4 (д, е), CD34 (з); а, г — $\times 120$, б, в, д, е — $\times 250$.

Рис. 1 (ж, з) см. на след. стр.

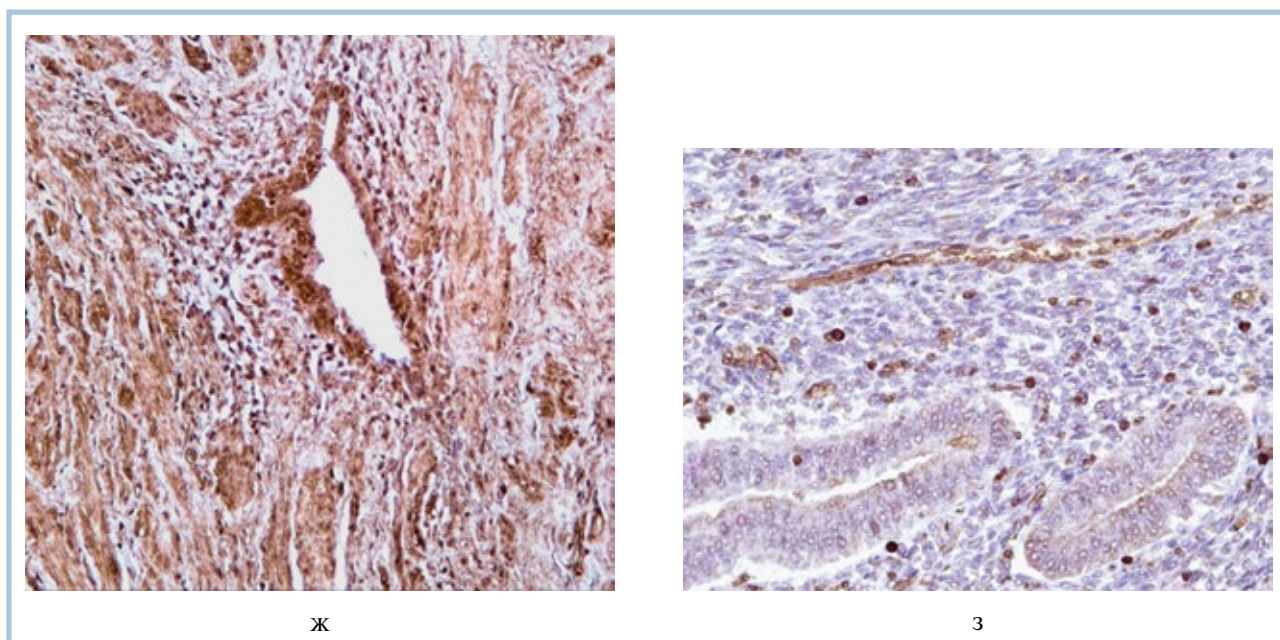


Рис. 1 (ж, з). Эутопический эндометрий, базальный слой.

ж, з — при диффузной форме аденомиоза; ж — выраженная экспрессия MMP 2 в различных клетках и экстрацеллюлярном матриксе эндометрия и миометрия; з — экспрессия CD34 в эндотелии сосудов и в отдельных клетках стромы эндометрия; ж, з — непрямым иммунопероксидазный метод с антителами к моэзину MMP 2 (ж), CD34 (з); ж — $\times 120$, з — $\times 400$.

стромальных клетках (см. рис. 1, ж). Она была умеренно выражена также в миоцитах и экстрацеллюлярном матриксе миометрия. Экспрессия моэзина, PAK 4, MMP 2 и MMP 9 была максимальной во всех тканевых структурах в участках врастания базального слоя эндометрия в миометрий, причем как в наблюдениях аденомиоза, так и аденомиом.

Экспрессия CD34 отмечалась в эндотелии сосудов и во многих, а не единичных, как в группе сравнения, клетках стромы базального слоя эндометрия в очагах его врастания через пограничную пластинку в толщу миометрия. В миометрии различия экспрессии CD34 с группой сравнения не выявлялись (см. рис. 1, з).

Эндометриоидные очаги как при диффузной форме аденомиоза, так и в аденомиомах представлены эпителиальным и стромальным компонентами и в соответствии с общепринятыми гистологическими критериями их активности [5] преобладали (42 наблюдения, 84%) активные (растущие и стабильные), которые отличались пролиферативным или секреторным типом эпителия желез, большим количеством цитогенной стромы с обилием сосудов. Преимущественно неактивные (регрессирующие) очаги, представленные кистозно-расширенными железами с атрофичным или индифферентным эпителием, небольшим объемом и склерозом стромального компонента со слабой васкуляризацией встретились в 8 (16%) наблюдениях диффузной формы аденомиоза.

При диффузной форме аденомиоза в эктопическом эндометрии (эпителиальном и стромальном компонентах) выражена экспрессия моэзина и PAK 4 в эпителии желез ($2,2 \pm 0,65$; $2,1 \pm 0,66$), клетках стромы ($1,6 \pm 0,78$; $1,4 \pm 0,58$) и эндотелии сосудов а также в эндотелии сосудов и разных структурах окружающего их миометрия (см. рис. 2, б, д). Показатели их экспрессии в эпителии в 6–7 раз и стромальных клетках в 4,7–8 раз выше, чем в группе сравнения, но достоверно не отличались от показателей эутопического эн-

дометрия при диффузном аденомиозе и аденомиомах (см. таблицу). В неактивных эндометриоидных очагах экспрессия моэзина и PAK 4 была менее выраженной. Наблюдалась умеренная или выраженная экспрессия MMP 2 и MMP 9 в эпителиальных ($2,5 \pm 0,47$; $2,4 \pm 0,42$) и стромальных ($2,3 \pm 0,53$; $2,2 \pm 0,61$) клетках эндометриоидных очагов, а также в эндотелии сосудов, миоцитах и строме окружающего миометрия. Их экспрессия в эпителии в 3,0–3,1 раза и клетках стромы в 3,8–4,4 раза выше, чем в группе сравнения, но не отличалась от показателей эутопического эндометрия при диффузном аденомиозе и аденомиомах (см. таблицу). В эпителии желез с признаками секреторной трансформации и атрофии в эндометриоидных очагах MMP 2 и MMP 9 не выявлялись, а в стромальных клетках неактивных очагов их экспрессия заметно ниже.

Экспрессия CD34 в эндотелии сосудов и во многих клетках стромы эндометриоидных очагов была сходной с наблюдаемой в очагах врастания базального слоя эутопического эндометрия в миометрий. В перифокальном к очагам аденомиоза миометрии экспрессия CD34 выявлялась в эндотелии сосудов и единичных фибробластоподобных клетках стромы.

В аденомиомах гистологическое строение гладкомышечного компонента соответствовало простым лейомиомам с множественными активными периваскулярными зонами роста. Эндометриоидные очаги представлены активными железистым и стромальным компонентами (см. рис. 2, а), иногда с секреторной трансформацией или умеренно выраженной атрофией эпителия и кистозным расширением части желез. Была выражена экспрессия моэзина и PAK 4 в эпителии желез ($2,3 \pm 0,61$; $2,2 \pm 0,58$) и клетках стромы ($1,7 \pm 0,72$; $1,5 \pm 0,42$, см. таблицу), а также в эндотелии сосудов эндометриоидных очагов, эндотелии сосудов, в части миоцитов и строме лейомиом (см. рис. 2, в, г). Экспрессия моэзина и PAK 4 в эндометриоидных очагах в эпи-

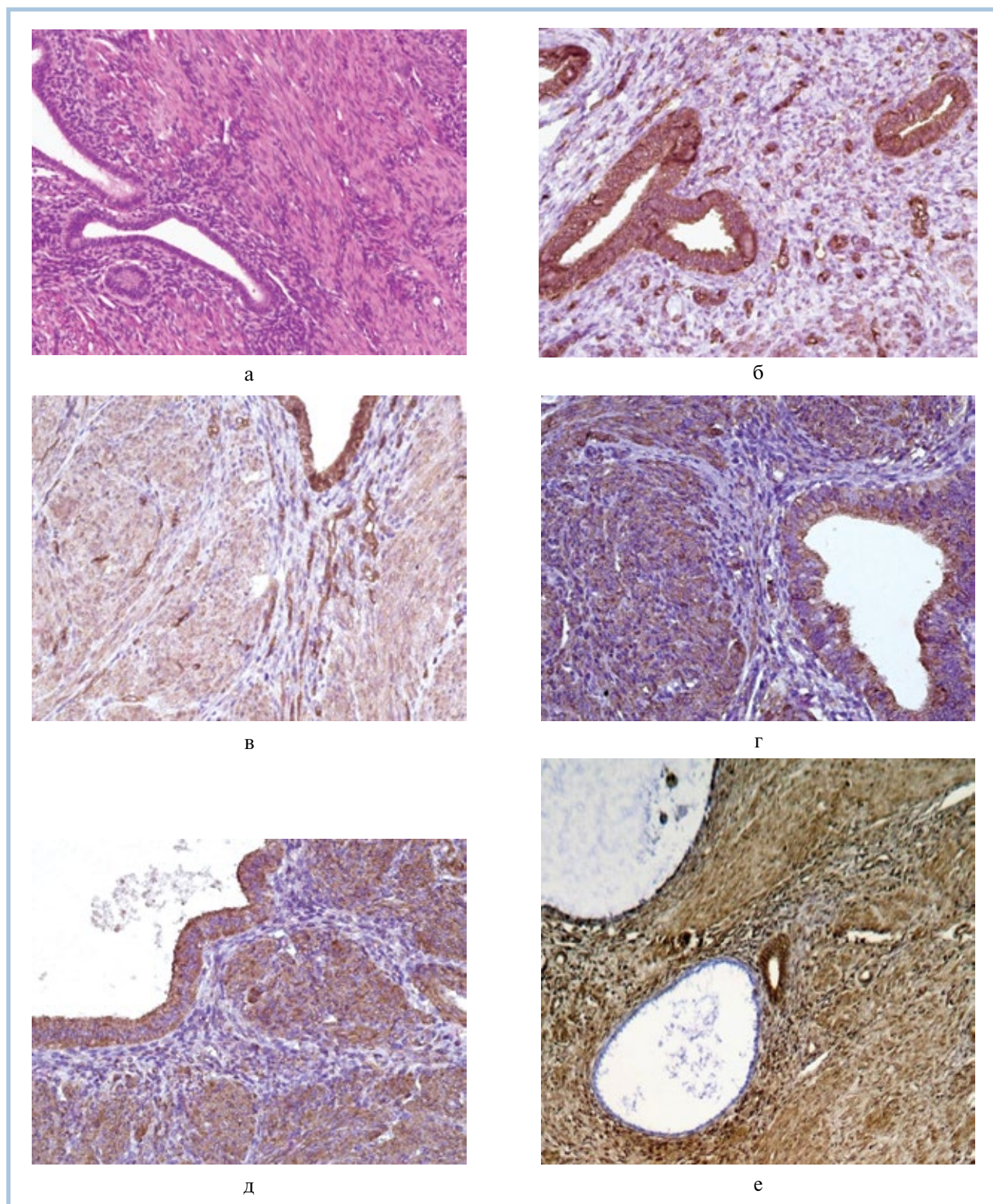


Рис. 2 (а—е). Эктопический эндометрий при диффузной форме аденомиоза (б, д) и в аденомиоме (а, в, г, е).

а — активный очаг эндометриоза, представленный эпителиальным и стромальным компонентами в простой лейомиоме (аденомиома), б—д — выраженная экспрессия моезина (б, в) и PAK 4 (г, д) в эпителии желез, клетках стромы и эндотелии сосудов эндометриоидных очагов, а также в структурах простой лейомиомы (в, г); е — выраженная экспрессия MMP 2 (е) в стромальном компоненте эндометриоидного очага (клетках и экстрацеллюлярном матриксе), в эндотелии сосудов, эпителии (е) желез (но отсутствует в эпителии желез при его секреторной трансформации), а также в структурах простой лейомиомы; з — экспрессия CD34 в эндотелии сосудов и клетках, локализованных концентрически в периваскулярной зоне роста, а также в эндотелии сосудов и части миоцитов; а — окраска гематоксилином и эозином, б—е — непрямой иммунопероксидазный метод с антителами к моезину (б, в), PAK 4 (г, д), MMP 2 (е), CD34 (з), а, в, е — $\times 120$, б, г, д — $\times 250$.

Рис. 2 (ж, з). см. на след. стр.

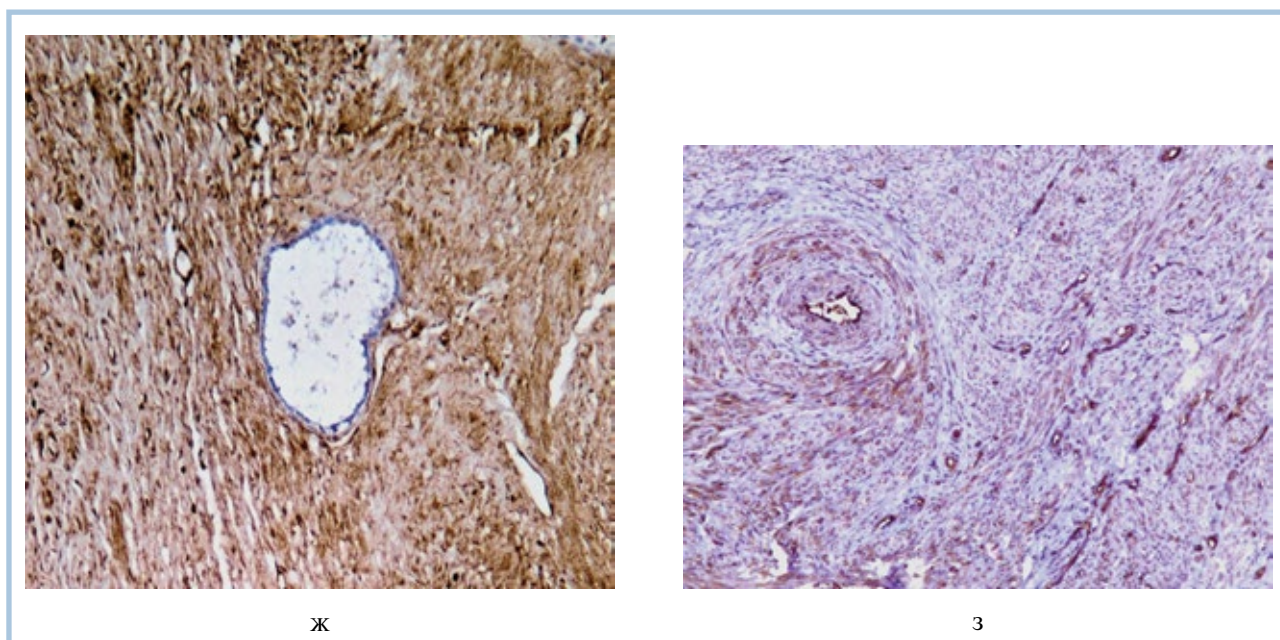


Рис. 2 (ж, з). Эктопический эндометрий при диффузной форме аденомиоза (б, д) и в аденомиоме (а, в, г, е—з).

ж — выраженная экспрессия MMP 9 (ж) в стромальном компоненте эндометриоидного очага (клетках и экстрацеллюлярном матриксе), в эндотелии сосудов, эпителии (е) желез (но отсутствует в эпителии желез при его секреторной трансформации), а также в структурах простой лейомиомы; з — экспрессия CD34 в эндотелии сосудов и клетках, локализованных концентрически в периваскулярной зоне роста, а также в эндотелии сосудов и части миоцитов; ж, з — непрямой иммунопероксидазный метод с антителами к MMP 9 (ж), CD34 (з); ж, з — $\times 120$.

телиальных клетках в 5,7—7,3 раза и в стромальных в 5—8,5 раза выше, чем в эндометрии группы сравнения, но статистически достоверно не отличалась от показателей эутопического и ectopic endometrium при диффузном аденомиозе и эутопического при аденомиомах. Отмечалась более выраженная экспрессия моэзина и PAK 4 в опухолевых миоцитах и строме аденомиома, чем в окружающем их миометрии, за исключением эндотелия сосудов. Выявлялась умеренная и выраженная экспрессия MMP 2 и MMP 9 в эпителии желез ($2,5 \pm 0,42$; $2,6 \pm 0,50$, в 3,1—3,7 раза выше, чем в группе сравнения), клетках стромы ($2,4 \pm 0,36$; $2,3 \pm 0,31$, в 4—4,6 раза выше, чем в группе сравнения, см. таблицу) и эндотелии сосудов эндометриоидных очагов. Она достоверно не отличалась от показателей эутопического и ectopic endometrium при диффузном аденомиозе и эутопического при аденомиомах (см. рис. 2, е, ж). Их умеренная экспрессия отмечалась также в части миоцитов и строме лейомиома, причем, как и для моэзина и PAK 4, более выраженная, чем в окружающем миометрии. В эпителии кистозно-расширенных желез с признаками секреторной трансформации экспрессия MMP 2 и MMP 9 не выявлялась.

Экспрессия CD34 наблюдалась в эндотелии сосудов и части клеток стромы эндометриоидных очагов, как и при диффузном аденомиозе, а также во многих клетках периваскулярных зон роста аденомиома, в эндотелии сосудов и отдельных клетках стромы аденомиома и окружающего миометрия (см. рис. 2, з).

Таким образом, результаты гистологического исследования показали, что как при диффузной форме аденомиоза тела матки, так и при аденомиомах независимо от фазы менструального цикла (пролиферативной или ранней стадии секреторной) у женщин репродуктивного возраста граница эндометрия с миометрием неровная, «зубчатая» за

счет множественных очагов врастания стромального и железистого компонентов базального слоя эндометрия в миометрий и пучков субэндометриального слоя миометрия в эндометрий.

Результаты иммуногистохимического исследования выявили многократное, в 3—8,5 раза, по сравнению с группой сравнения повышение экспрессии моэзина, PAK 4, MMP 2 и MMP 9 в эпителии и стромальных клетках не только в ectopic endometrium очагах при аденомиозе и аденомиомах, но и в базальном слое эутопического эндометрия. Достоверной разницы в экспрессии изученных ферментов между эутопическим базальным слоем эндометрия и ectopic endometrium очагами как при аденомиозе, так и при аденомиомах не обнаружено, как и между ectopic endometrium очагами при аденомиозе и аденомиомах. Однако выявлена тенденция к повышенной экспрессии изученных ферментов в миометрии, окружающем ectopic endometrium очаги при аденомиозе, а также в миоцитах и строме аденомиома.

Результаты проведенного исследования согласуются с ранее установленным фактом высокой инвазивной активности как эутопического, так и ectopic endometrium при разных формах аденомиоза [4, 5, 18], дополнительным подтверждением этого положения является выявление повышенной экспрессии не только моэзина, MMP 2 и MMP 9, но и PAK 4, а также увеличение в строме числа клеток с маркером стволовых (CD34+).

Заключение

Для разных форм аденомиоза (диффузной и аденомиома) характерна повышенная инвазивная активность базального слоя эндометрия с множественными очагами его врастания в миометрий. Не только ectopic endometrium

при разных формах аденомиоза, но и базальный слой эндометриального эндометрия отличается многократно повышенной экспрессией ферментов, обеспечивающих высокую инвазивную активность клеток — моэина, РАК 4, ММР 2 и ММР 9, а также увеличением в строме числа клеток с маркером стволовых (CD34+). Полученные данные свидетельствуют в пользу теории патогенеза аденомиоза вследствие инвазии эндометриального эндометрия в миометрий.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Аполихина И.А., Беженарь В.Ф., Геворкян М.А., Гус А.И., Демидов В.Н., Калинина Е.А., Леваков С.А., Марченко Л.А., Попов А.А., Сонова М.М., Хашукоева А.З., Чернуха Г.Е., Яроцкая Е.Л. *Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных*. М.: Российское общество акушеров-гинекологов; 2013. [Adamyant LV, Andreeva EN, Apolikhina IA, Bezhenar' VF, Gevorkyan MA, Gus AI, Demidov VN, Kalinina EA, Levakov SA, Marchenko LA, Popov AA, Sonova MM, Khashukoeva AZ, Chernukha GE, Yarotskaya EL. *Endometriosis: diagnosis, treatment and rehabilitation. Federal clinical guidelines for managing patients*. Moscow: Rossiiskoe obshchestvo akusherov-ginekologov; 2013. (In Russ.)].
2. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet*. 2004;364(9447):1789-1799. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17403-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17403-5)
3. Адамян Л.В., Сонова М.М., Тихонова Е.С., Зимина Э.В., Антонова С.О. Медицинские и социальные аспекты генитального эндометриоза. *Проблемы репродукции*. 2011;6:78-81. [Adamyant LV, Sonova MM, Tikhonova ES, Zimina EV, Antonova SO. The medical and social aspects of genital endometriosis. *Problemy reproduktivnoy*. 2011;6:78-81. (In Russ.)].
4. Адамян Л.В., Азнаурова Я.Б. Молекулярные аспекты патогенеза эндометриоза. *Проблемы репродукции*. 2015;21(2):66-77. [Adamyant LV, Aznaurova YaB. Molecular pathogenetic aspects of endometriosis. *Problemy reproduktivnoy*. 2015;21(2):66-77. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/rep201521266-77>
5. Зайрат'яныч О.В., Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Максимова Ю.В., Мурдалова З.Х., Опаленов К.В., Мовтаева Х.Р., Сонова М.М., Зарубина И.П. Молекулярно-биологические особенности эктопического и эндометриального эндометрия при генитальном эндометриозе. *Архив патологии*. 2010;72(5):6-12. [Zairat'yants OV, Adamyant LV, Andreeva EN, Maksimova YuV, Murdalova ZKh, Opalenov KV, Movtaeva KhR, Sonova MM, Zarubina IP. Molecular-biological aspects of ectopic and eutopic endometrium of genital endometriosis. *Arkhiv patologii*. 2010;72(5):6-12. (In Russ.)].
6. Sourial S, Tempest N, Napangama DK. Theories on the pathogenesis of endometriosis. *Int J Reprod Med*. 2014;2014:179515. <https://doi.org/10.1155/2014/179515>
7. Ping S, Ma C, Liu P, Yang L, Yang X, Wu Q, Zhao X, Gong B. Molecular mechanisms underlying endometriosis pathogenesis revealed by bioinformatics analysis of microarray data. *Arch Gynecol Obstet*. 2016;293(4):797-804. <https://doi.org/10.1007/s00404-015-3875-y>
8. Bulun SE, Monsivais D, Kakinuma T, Furukawa Y, Bernardi L, Pavone ME, Dyson M. Molecular biology of endometriosis: from aromatase to genomic abnormalities. *Semin Reprod Med*. 2015;33(3):220-224. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1554053>
9. Maia H Jr, Haddad C, Casoy J. Correlation between aromatase expression in the eutopic endometrium of symptomatic patients and the presence of endometriosis. *Int J Women's Health*. 2012;4:61-65. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S29154>
10. Bourlev V, Volkov N, Pavlovich S, Lets N, Larsson A, Olovsson M. The relationship between microvessel density, proliferative activity and expression of vascular endothelial growth factor-A and its receptors in eutopic endometrium and endometriotic lesions. *Reproduction*. 2006;132(3):501-509. <https://doi.org/10.1530/rep.1.01110>
11. Wu MY, Ho HN. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 2003;49(5):285-296.
12. Collette T, Maheux R, Mailloux J, Akoum A. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 in the eutopic endometrial tissue of women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2006;21(12):3059-3067.
13. Xin L, Hou Q, Xiong QI, Ding X. Association between matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 polymorphisms and endometriosis: a systematic review and metaanalysis. *Biomed Rep*. 2015;3(4):559-565. <https://doi.org/10.3892/br.2015.447>
14. Saare M, Lamp M, Kaart T, Karro H, Kadastik U, Metspalu A, Peters M, Salumets A. Polymorphisms in MMP 2 and MMP 9 promoter regions are associated with endometriosis. *Fertil Steril*. 2010;94(4):1560-1563. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.12.024>
15. Osteen KG, Yeaman GR, Bruner-Tran KL. Matrix metalloproteinases and endometriosis. *Semin Reprod Med*. 2003;21(2):155-164. <https://doi.org/10.1055/s-2003-41322>
16. Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Rudd PM, Dwek RA, Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase 9 (MMP 9). *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2002;37(6):375-536. <https://doi.org/10.1080/10409230290771546>
17. Amieva MR, Furthmayr H. Subcellular localization of moesin in dynamic filopodia, retraction fibers, and other structures involved in substrate exploration, attachment, and cell-cell contacts. *Exp Cell Res*. 1995;219(1):180-196. <https://doi.org/10.1006/excr.1995.1218>
18. Ohara R, Michikami H, Nakamura Y, Sakata A, Sakashita S, Satomi K, Shiba-Ishii A, Kano J, Yoshikawa H, Noguchi M. Moesin overexpression is a unique biomarker of adenomyosis. *Pathol Int*. 2014;64(3):115-122. <https://doi.org/10.1111/pin.12148>
19. Tsukita S, Yonemura S. ERM (ezrin/radixin/moesin) family: from cytoskeleton to signal transduction. *Curr Opin Cell Biol*. 1997;9(1):70-75. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(97\)80154-8](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(97)80154-8)
20. He LF, Xu HW, Chen M, Xian ZR, Wen XF, Chen MN, Du CW, Huang WH, Wu JD, Zhang GJ. Activated-PAK4 predicts worse prognosis in breast cancer and promotes tumorigenesis through activation of PI3K/AKT signaling. *Oncotarget*. 2017;8(11):17573-17585. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7466>
21. Kobayashi K, Inokuchi M, Takagi Y, Otsuki S, Fujimori Y, Sato Y, Yanaka Y, Higuchi K, Aburatani T, Tomii C, Uetake H, Kojima K, Kawano T. Prognostic significance of PAK4 expression in gastric cancer. *J Clin Pathol*. 2016;69(7):580-585. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2015-203330>
22. Yang SH, Sharrocks AD, Whitmarsh AJ. MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation. *Gene*. 2013;513(1):1-13. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.10.033>
23. Figueira PG, Abrão MS, Krikun G, Taylor HS. Stem cells in endometrium and their role in the pathogenesis of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1221:10-17. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.05969.x>
24. Sidney LE, Branch MJ, Dunphy SE, Dua HS, Hopkinson A. Concise review: evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. *Stem Cells*. 2014;32(6):1380-1389. <https://doi.org/10.1002/stem.1661>

Поступила 16.05.18