

УДК 611.664.084.1

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-3-78-83



Иммунофенотипический профиль эндометрия при экспериментальной гиперплазии

Н.И. Волоцкая¹, Т.П. Макалиш¹, Г.И. Подгорный², М.А. Кальфа¹, Н.С. Прасолов¹,
А.В. Кубышкин¹, Е.П. Коваленко¹, Е.Ю. Зяблицкая¹

¹ Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия

² Родильный дом №2 городской больницы № 6 Министерства здравоохранения России, Симферополь, Россия

Цель: изучить топографию и экспрессию маркеров клеточного цикла, воспаления и иммунного ответа методом иммуногистохимии на экспериментальной модели гиперплазии эндометрия. **Материалы и методы:** на лабораторных крысах смоделирована гиперплазия эндометрия путем овариэктомии и трансдермального введения эстрогена для формирования гиперэстрогении; верификация морфологических изменений выполнена гистологическим методом, а оценка иммунофенотипического профиля – методом иммуногистохимии, полученные цифровые значения обработаны математическими и статистическими методами. **Результаты:** на модели гиперплазии эндометрия выявлен прирост железистого компонента; установлено снижение экспрессии рецепторов к эстрогену в роге матки, увеличение митотической активности эпителиоцитов в теле матки, активация апоптоза клеток во всех ее отделах, снижение экспрессии маркеров плазмочитов (CD138) в строме всех отделов матки и Т-лимфоцитов (CD8) в строме тела матки. **Заключение:** при гиперплазии эндометрия на фоне гиперэстрогении структурные изменения обусловлены дисрегуляцией клеточного цикла; при этом внутриклеточные системы ауторегуляции более эффективны в роге матки, а в теле матки нет изменения экспрессии рецепторов к эстрогену и повышена митотическая активность клеток; учитывая дефицит иммунокомпетентных Т-клеток, в этой зоне возрастает риск тканевой и клеточной трансформации.

Ключевые слова: патология, эндометриальная гиперплазия, иммуноморфология, воспаление, эксперимент

Поступила в редакцию: 08.02.23. Получена после доработки: 15.02.23, 21.02.23, 04.04.23, 21.06.23. Принята к публикации: 26.06.23

Для цитирования: Волоцкая Н.И., Макалиш Т.П., Подгорный Г.И., Кальфа М.А., Прасолов Н.С., Кубышкин А.В., Коваленко Е.П., Зяблицкая Е.Ю. Иммунофенотипический профиль эндометрия при экспериментальной гиперплазии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;3:78–83. doi: 10.34215/1609-1175-2023-3-78-83

Для корреспонденции: Зяблицкая Евгения Юрьевна – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского» (295051, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, бульв. Ленина, 5/7); ORCID: 0000-0001-8216-4196; e-mail: evgu79@mail.ru

Immunophenotypic endometrium profile in experimental hyperplasia

N.I. Volotskaya¹, T.P. Makalish¹, G.I. Podgorny², M.A. Kalfa¹, N.S. Prasolov¹, A.V. Kubyshkin¹,
E.P. Kovalenko¹, E.Y. Zyablitskaya¹

¹ V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia; ² Maternity Hospital No. 2, Simferopol, Russia

Aim. To study the topography and expression of cell cycle markers, as well as those of inflammation and immune response, by the method of immunohistochemistry using an experimental model of endometrial hyperplasia. **Materials and methods.** Endometrial hyperplasia was modeled in laboratory rats by ovariectomy and transdermal administration of estrogen to form hyperestrogenism. Morphological changes were verified by a histological method. The immunophenotypic profile was assessed by immunohistochemistry. The obtained digital values were processed by mathematical and statistical methods. **Results.** The modelled endometrial hyperplasia indicated an increase in the glandular component, a decrease in the expression of estrogen receptors in the uterine horns, an increase in the mitotic activity of epithelial cells in the uterine body, an activation of cell apoptosis in all its departments, as well as a decrease in the expression of plasmocyte markers (CD138) in the stroma of all parts of the uterus and T-lymphocytes (CD8) in the stroma the body of the uterus. **Conclusion.** Structural changes in endometrial hyperplasia in the setting of hyperestrogenism are caused by cell cycle dysregulation. At the same time, intracellular autoregulation systems are more effective in the uterine horns, with no changes being observed in the expression of estrogen receptors in the uterine body and the mitotic activity of cells being increased. Given the deficiency of immunocompetent T cells, the risk of tissue and cellular transformations increases in this area.

Keywords: pathology, endometrial hyperplasia, immunomorphology, inflammation, experiment

Received 8 February 2023; Revised 15, 21 February, 4 April, 21 June 2023; Accepted 26 June 2023

For citation: Volotskaya N.I., Makalish T.P., Podgorny G.I., Kalfa M.A., Prasolov N.S., Kubyshkin A.V., Kovalenko E.P., Zyablitskaya E.Y. Immunophenotypic endometrium profile in experimental hyperplasia. *Pacific Medical Journal*. 2023;3:78–83. doi: 10.34215/1609-1175-2023-3-78-83

Corresponding author: Evgenia Yu. Zyablitskaya, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Central Research Laboratory at the Institute «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» V.I. Vernadsky Crimean Federal University (5/7 Lenina blvd, Simferopol, 295051, Russia); ORCID: 0000-0001-8216-4196; e-mail: evgu79@mail.ru

Гиперплазия эндометрия (ГЭ) и рак занимают ведущие позиции среди гинекологической патологии женщин зрелого и старшего возраста в России и в мире [1]. Это связано с ограничением фертильной функции, обилием синтетических, животных и фитоэстрогенов на фоне провоспалительного дисбаланса, избыточного веса, усугубляющих гиперэстрогению эндогенным поступлением продуктов ароматизации жиров и воспалительных цитокинов. Особенно это актуально при ановуляции и в связи с нарушениями систем значимых генов и кодируемых ими регуляторных каскадов [2].

По нашим данным, атипическая ГЭ сопровождается хроническим воспалением с повышением экспрессии общего лейкоцитарного антигена (CD45) [3, 4], что является дополнительным фактором альтерации [5]. Апоптоз как механизм предотвращения развития клетки с ошибкой репликации и репарации ДНК при этом ингибирован, а клетки базального слоя эндометрия получают стимулы к пролиферации гиперпродукцией эстрогенов и индукцией ангиогенеза [6, 7, 8, 9]. Персистенция гиперэстрогении на фоне недостаточности прогестерона за счет дефекта лютеиновой фазы овариального цикла является ключевым фактором в развитии ГЭ и рака эндометрия, его злокачественной трансформации [10, 11, 12, 13, 14]. Распространенность ГЭ, доступность диагностики, профилактики и патогенетической коррекции, а также риск развития аденокарциномы на фоне гиперплазии побудили нас провести экспериментально-биологическое исследование для задач медицины: анализ экспрессии доступных клиницисту маркеров и обоснование направленной терапии.

Цель исследования: на экспериментальной модели избытка эстрогенов у белых крыс изучить методом иммуногистохимии (ИГХ) экспрессию и локализацию маркеров клеточного цикла, ангиогенеза и воспаления в гиперплазированном эндометрии.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на 20 самках белых крыс линии Wistar возрастом 6 мес. и весом 180–200 г, ранее выносивших и выкормивших приплод. Их содержали в стандартных условиях и разделили рандомно поровну на контрольную и подопытную группы, провели синхронизацию эстральных циклов с оценкой вагинальных мазков. В лютеиновую фазу цикла всем крысам выполнили операцию: поясничным доступом в группе опыта провели билатеральную овариэктомию, в группе контроля – разрез без удаления яичников. Устранив эффекты эндогенных овариальных гормонов у крыс подопытной группы, начали моделировать гиперэстрогению ежедневным трансдермальным введением эстрогенов на протяжении 4 недель (аппликации на выбритую кожу живота геля, содержащего эстрадиол 0,1% (1 мг/мл) из расчета дозы 1 мг на 1 кг веса). Через 4 недели животных вывели из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом

(контрольную группу вывели из эксперимента в эструсе, для сопоставления гистологических изменений в опыте с параметрами пролиферативного эндометрия циклирующих животных). Методика является авторской (основной разработчик – Н.И. Волоцкая), отработана и описана в данной публикации впервые, релевантность верифицирована морфологически.

Во время эксперимента были соблюдены принципы биоэтики согласно отечественным стандартам и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для научных целей; получено согласование комитета по этике Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского» (Протокол № 4 от 12.04.22 г.).

Преаналитический этап гистологической обработки проводили в соответствии с требованиями молекулярной иммунодиагностики: фиксацию, проводку в гистопроцессоре Logos Millestone (Италия), заключение в парафиновые блоки, изготовление срезов толщиной 4 мкм, окраску гематоксилином и эозином по стандартным методикам. Иммуногистохимическую окраску осуществляли в иммуногистостейнере Bond-MAX (Leica, США) с рекомендованными режимами демаскировки и инкубации (таблица 1), с контрольными образцами. Протокол включал депарафинизацию, блокировку эндогенной пероксидазы, детекцию с Bond Polymer Refine Detection (Leica, Великобритания). Окрашенные срезы сканировали на сканере гистопрепаратов Aperio CS2 (Leica, США) и обрабатывали полученное изображение при помощи программного обеспечения Aperio Image Scope v.11.0.3.

На изображениях гистологических препаратов оценивали высоту эндометрия и просветных эпителиальных клеток, площади желез и стромы. Определяли экспрессию рецепторов к прогестерону и эстрогену (ER, PrR), пролиферативную активность клеток эндометрия (Ki67), состояние систем апоптоза с антителами (CD95, bcl-2), активность ангиогенеза (VEGF), а также воспаления (CD4, CD8, CD138, CD20) (табл. 1). Использовали систему детекции Bond Polymer Refine Detection System (Leica, Великобритания).

Для маркеров bcl-2, CD95, VEGF, ER, PrR, Ki67 на увеличении в 20 крат исследовали 10 полей зрения. Интенсивность окрашивания оценивали в баллах по шкале: 0 – отсутствие реакции, 1+ 0–25%, 2+ 25–75% и 3+ – более 75% позитивно окрашенных клеток. Отдельно оценивали экспрессию маркеров в строме эндометрия и в железистых клетках. Для маркеров CD4, CD8, CD20, CD138 подсчитывали количество клеток с позитивной реакцией на 1 мм² среза в 10 полях зрения. Оценивали экспрессию белков дифференцировано в доминантном правом роге матки (аналог тела матки человека – место плацентации и вынашивания потомства у многоплодных животных) и теле матки (аналог шейки матки человека – часть, предназначенная для проникновения спермы и изгнания плодов, активнее контактирующая с внешней средой).

Таблица 1

Особенности протокола реакции ИГХ с разными маркерами			
Маркер (клон)	Каталожный номер	Производитель	Разведение
ER (6F11)	ER-6F11-L-F	Leica	1:100
PrR (312)	PGR-312-L-CE	Leica	1:100
Ki-67 (MM1)	KI67-MM1-L-CE	Leica	1:50
CD95 (EPR5700)	ab133619	Abcam	1:200
bcl-2	BCL-2-L-CE	Leica	1:200
VEGF(RM391)	MA5-38668	Thermo	1:100
CD4 (4B12)	PA0427	Leica	RTU*
CD8 (4B11)	PA0183	Leica	RTU*
CD20(L26)	CD20-L26-L-CE	Leica	1:200
CD138 (MI15)	PA0088	Leica	RTU*

*RTU (ready to use) – антитела в готовом растворе, не требующем разведения.

Статистическую обработку данных выполнили с использованием пакета программ Statistica 10.0 Stat Soft после оценки нормальности распределения признака выборки по методу Шапиро – Уилка. Для определения различий между основной и контрольной группами применяли метод Манна – Уитни. Для выявления корреляции между экспрессией различных маркеров использовали метод Спирмена. Поскольку распределение значений признаков отличалось от нормального либо имело категориальный дискретный характер, данные представлены как Me [Q1; Q3].

Исследования выполнены в Центральной научно-исследовательской лаборатории и виварии ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», подтвердившего приемлемость содержания и использования животных с биоэтических позиций.

Результаты исследования

В группе животных с моделью гиперплазии эндометрия морфометрически выявлен прирост железистого компонента, что существенно изменило железисто-стромальное отношение в сравнении с контрольной группой (рис. 1). Одновременно было обнаружено увеличение высоты железистых клеток как в железах, так и в покровном эпителии просвета рога матки. Высота

эпителиальных клеток составила $42,3 \pm 9,6$ мкм, что в два раза превышает подобный показатель в контрольной группе ($21,4 \pm 4,1$ мкм). Такая морфологическая картина подтверждает эффективность предложенной нами модели ГЭ, при которой используется трансдермальное введение гормонов при условии элиминации естественного гормонального фона путем овариоэктомии.

Результаты ИГХ анализа показали разнонаправленную динамику рецепторных нарушений при гиперэстрогении (табл. 2). Экспрессия рецепторов к прогестерону стабильно низкая во всех отделах матки у крыс всех групп, а к эстрогену – на модели ГЭ достоверно снижена в роге матки, что может быть вызвано активацией внутриклеточных систем ауторегуляции при избытке эстрогенов, при этом в аналоге шейки матки таких компенсаторных изменений нет.

По выраженности экспрессии маркера VEGF, в виде цитоплазматического окрашивания железистого эпителия и клетках стромы эндометрия, отличий между группами нет: в клетках стромы и в железах эндометрия всех групп наблюдается интенсивное цитоплазматическое окрашивание, что свидетельствует о сохранности регуляции ангиогенеза в условиях гормонального дисбаланса.

Маркеры пролиферации и апоптоза не одинаково экспрессируются в тканях крыс контрольной группы

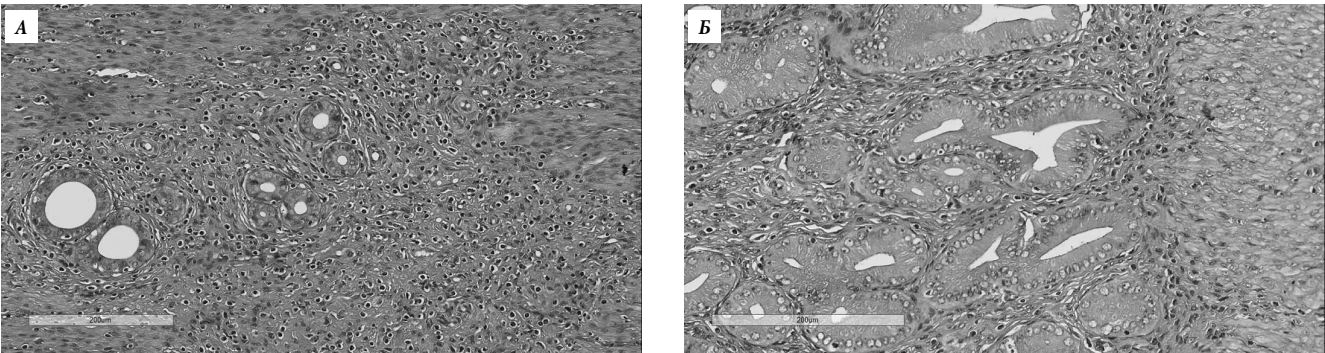


Рис. 1. Гистологическое строение рога матки белой крысы в норме (А) и при моделируемой гиперплазии эндометрия (Б), проявляющейся разрастанием желез, увеличением высоты клеток в них. Парафиновый срез. Окрашка гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 20$.

и группы с моделью эстрогении. В модели ГЭ экспрессия CD95 оказалась стабильно высокой как в стромальных клетках, так и в эпителиальных клетках железистых структур во всех отделах матки по сравнению с контролем. Последнее может свидетельствовать об активации внешнего пути апоптоза как компенсаторного процесса нарушенной кинетики клеточной популяции эндометрия в условиях гиперэстрогении. Экспрессия антиапоптотического белка bcl-2 отрицательная во всех группах. Положительная реакция выявлена лишь в лимфоцитах, что служит контролем протокола. Экспрессия Ki-67 умеренная в строме рога матки крыс контрольной группы и не имеет динамики в группах с ГЭ, но негативная в строме тела матки в контроле. Модель ГЭ увеличивает его экспрессию в теле матки.

При оценке числа лимфоцитов разных популяций в строме рога и тела матки при ГЭ выявлена интересная динамика: в тканях крыс контрольной группы лимфоциты CD138, CD20, CD4 и CD8 представлены относительно равным числом клеток, а в модели ГЭ самыми малочисленными оказались CD138⁺ клетки в роге и CD8⁺ в теле (табл. 3), что говорит об ингибировании плазмоцитов и T-лимфоцитов в иммунном ответе этих тканевых зон на фоне ГЭ (рис. 2).

Обсуждение полученных данных

При корреляционном анализе по методу Спирмена выявлена положительная связь между экспрессией рецепторов эстрогена и пролиферативной активностью

эпителиальных клеток желез рога матки. Также выявлена сильная положительная корреляция между количеством CD4⁺, CD8⁺ и CD138⁺ лимфоцитов в строме рогов и тела матки внутри групп. Это указывает на комплексные взаимосвязанные эффекты ГЭ.

Отмечена специфика динамики маркеров в зонах тела и рога матки экспериментальных животных. Общей тенденцией изменений в обоих отделах является активация маркеров апоптоза. При этом количество рецепторов эстрогенов в роге при ГЭ снижается, что может быть связано с компенсаторным ингибированием экспрессии рецепторов избытком экзогенного эстрогена. Кроме того, и в теле, и в роге матки отмечено снижение T- и B-лимфоцитов. По-видимому, от уровня эстрогеновых рецепторов может зависеть активность процессов пролиферации. Так, в роге матки активность маркера Ki-67 имеет тенденцию к снижению, а в теле матки к некоторому увеличению.

При проведении клинических исследований было показано, что на фоне гиперэстрогении хроническое воспаление постепенно становится лидирующим патогенетическим фактором [3, 4]. В экспериментальных исследованиях на животных моделирование гиперэстрогении проявлялось в большей степени морфологической трансформацией тканей эндометрия, обусловленной изменением баланса процессов пролиферации и апоптоза. Причем мы не обнаружили увеличения лимфоцитарных маркеров в тканях гиперплазированного эндометрия у крыс, что может быть следствием недостаточного временного фактора в формировании

Таблица 2

Экспрессия рецепторов овариальных гормонов, маркеров пролиферации, апоптоза, фактора роста сосудов в матке крысы при моделируемой гиперплазии эндометрия

Показатель	Гиперплазия эндометрия				Контрольная группа			
	рог жел	рог стр	тело жел	тело стр	рог жел	рог стр	тело жел	тело стр
PrR	0,0 [0.0; 0.0]	0,0 [0.0; 0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]
ER	2,0 [2.0;2.0]*	2,0 [2.0;2.0]*	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]
VEGF	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]	3,0 [3.0;3.0]
CD95	3,0 [3.0;3.0]*	3,0 [3.0;3.0]*	3,0 [3.0;3.0]*	3,0 [3.0;3.0]*	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]
bcl2	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]	0,0 [0.0;0.0]
Ki-67	0,0 [0.0;1.0]*	1,0 [1.0;1.0]	0,0 [0.0;1.0]	1,0 [1.0;1.0]*	2,0 [2.0;2.0]	1,0 [1.0;1.0]	1,0 [1.0;1.0]	0,0 [0.0;0.0]

Примечание: жел – экспрессия рецепторов и регуляторных белков в железах; стр – экспрессия в строме; * статистически значимые отличия от интактной группы; достоверность отличий определяли с использованием U-критерия Манна – Уитни при вероятности ошибки $p \leq 0,05$.

Таблица 3

Экспрессия маркеров клеток воспаления в строме эндометрия при моделируемой гиперплазии

Показатель	Гиперплазия эндометрия		Контрольная группа	
	рог матки	тело матки	рог матки	тело матки
CD138	1,5 [0.0;3.0]*	0,0 [0.0;0.0]*	6,0 [5.0;8.0]	4,5 [3.0;6.0]
CD20	5,0 [4.0;6.0]	2,0 [0.0;3.0]	6,0 [4.0;8.0]	5,0 [4.0;6.0]
CD4	4,0 [3.0;9.0]	2,0 [1.0;3.0]	4,5 [4.0;7.0]	3,5 [2.0;5.0]
CD8	7,0 [5.0;8.0]	2,0 [0.0;3.0]*	6,0 [5.0;8.0]	5,0 [4.0;6.0]

Примечание: * статистически значимые отличия от интактной группы; достоверность отличий определяли с использованием U-критерия Манна – Уитни при вероятности ошибки $p \leq 0,05$.

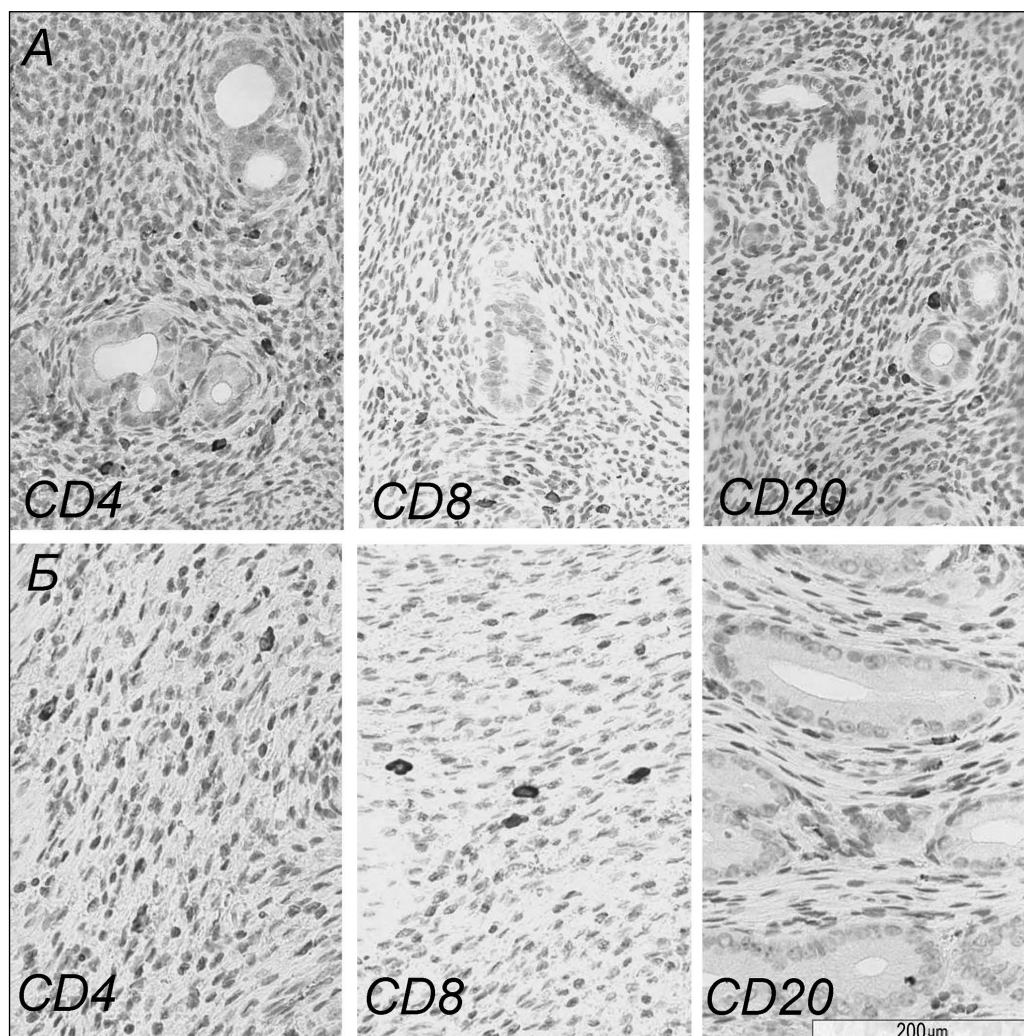


Рис. 2. Фрагменты ткани рога матки крысы. Парафиновый срез. Лимфоцитарная инфильтрация в клетках стромы эндометрия рога матки. ИГХ окрашивание с маркерами к CD4, CD8, CD20 в контрольной группе (А). Уменьшение количества иммунных клеток CD4, CD8, CD20 при ГЭ (Б).

гиперплазии или свидетельствовать о малой активности лимфоцитарных механизмов в возможном формировании воспалительных изменений.

Описанные патологические закономерности ГЭ требуют дальнейшего изучения, однако все они созвучны теории Д. Ханахана и Р. Вайнберга Hallmarks of Cancer, выделяющей в обзоре 2022 года уже 14 маркеров трансформации клеточных популяций [15]. В проведенном исследовании при формировании экспериментальной гиперплазии эндометрия показана тенденция к активной пролиферации эндометрия и потери надзора ткани эндометрия со стороны иммунной системы. Данные изменения могут способствовать дальнейшим процессам прогрессирования гиперплазии и возможной малигнизации эндометрия с усилением ангиогенеза, формированием геномной нестабильности и фенотипической пластичности.

Заключение

На модели ГЭ у крыс после овариоэктомии и трансдермального введения эстрогенов выявлен прирост железистого компонента с гистологической и мор-

фометрической верификацией, в связи с чем можно рекомендовать модель в экспериментальные работы. На модели ГЭ установлено изменение иммунофенотипического профиля: снижение экспрессии рецепторов к эстрогену в роге матки, увеличение активности митоза в эпителиоцитах тела матки, активация внешнего пути апоптоза клеток во всех отделах матки, снижение экспрессии маркеров плазматических (CD138) в строме всех отделов матки и *T*-лимфоцитов (CD8) в строме тела матки. Таким образом, можно заключить, что при гиперплазии эндометрия на фоне гиперэстрогении структурные изменения обусловлены дисрегуляцией клеточного цикла; при этом внутриклеточные системы ауторегуляции более эффективны в роге матки по сравнению с телом матки, поскольку нет изменения экспрессии рецепторов к эстрогену и повышена митотическая активность клеток; учитывая дефицит иммунокомпетентных *T*-клеток, в этой зоне возрастает риск тканевой и клеточной трансформации. Эти данные перспективны для дальнейшей разработки разных направлений патогенетической терапии и оценки эффективности на приведенной модели.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: работа финансово поддержана государственным заданием No FZEG-2020-0060 Минобрнауки России в сфере научной деятельности «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий».

Участие авторов:

Разработка концепции и дизайна – КАВ, ВНИ, ПНС

Анализ и интерпретация данных – КМА, МТП

Обоснование рукописи – ПГИ

Окончательное утверждение для публикации рукописи – КЕП, ЗЕЮ

Литература / References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394–424. doi: 10.3322/caac.21492
2. Волоцкая Н.И., Сулима А.Н., Румянцева З.С. Менопауза: современные стандарты диагностики и коррекции нарушений. *Врач*. 2021;32(3):66–72. [Volotskaya NI, Sulima AN, Rumyantseva ZS. Menopause: modern standards for diagnosis and correction of disorders. *Vrach = The Doctor*. 2021;32(3):66–72 (In Russ.)]. doi: 10.29296/25877305-2021-03-12
3. Карапетян О.В., Фомочкина И.И., Зяблицкая Е.Ю., Кубышкин В.А., Коваленко Е.П., Коробова П.Г., Макалиш Т.П., Кубышкин А.В. Состояние локальных маркеров воспаления и апоптоза в эндометрии при гиперплазиях различной степени тяжести. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(3):342–7. [Karapetyan OV, Fomochkina II, Zyablitskaya Y, Kubyshkin VA, Kovalenko EP, Korobova PG, Makalish TP, Kubyshkin AV. The state of local markers of inflammation and apoptosis in endometrium in hyperplasia of various degrees of severity. *Meditsinskii Vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of the North Caucasus*, 2020;15(3):342–7 (In Russ.)]. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059
4. Kubyshkin AV, Aliev LL, Fomochkina II, Kovalenko YP, Litvinova SV, Filonenko TG, Lomakin NV, Kubyshkin VA, Karapetian OV. Endometrial hyperplasia-related inflammation: its role in the development and progression of endometrial hyperplasia. *Inflamm Res*. 2016;65(10):785–94. doi: 10.1007/s00011-016-0960-z
5. Faloppa CC, Baiocchi G, Cunha IW, Fregnani JH, Osorio CA, Fukazawa EM, Kumagai LY, Badiglian-Filho L, Pinto GL, Soares FA. NF- κ B and COX-2 expression in nonmalignant endometrial lesions and cancer. *Am J Clin Pathol*. 2014;141(2):196–203. doi: 10.1309/AJCPV7U7PGHOWEQG
6. Morsy MA, Abdelraheem WM, El-Hussieny M, Refaie MMM. Protective Effects of Irbesartan, an Angiotensin Receptor Blocker with PPAR γ Agonistic Activity, against Estradiol Benzoate-Induced Endometrial Hyperplasia and Atypia in Female Rats via Modulation of TNF α /Survivin Pathway. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021;14(7):649. doi: 10.3390/ph14070649
7. Gellersen B, Brosens JJ. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. *Endocr Rev*. 2014;35(6):851–905. doi: 10.1210/er.2014-1045
8. Santamaria X, Mas A, Cervelló I, Taylor H, Simon C. Uterine stem cells: from basic research to advanced cell therapies. *Hum Reprod Update*. 2018;24(6):673–93. doi: 10.1093/humupd/dmy028
9. Terzic M, Aimagambetova G, Kunz J, Bapayeva G, Aitbayeva B, Terzic S, Laganà AS. Molecular Basis of Endometriosis and Endometrial Cancer: Current Knowledge and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2021;22(17):9274. doi: 10.3390/ijms22179274
10. Gibson DA, Saunders PT. Estrogen dependent signaling in reproductive tissues – a role for estrogen receptors and estrogen related receptors. *Mol Cell Endocrinol*. 2012;348(2):361–72. doi: 10.1016/j.mce.2011.09.026
11. Singh S, Pavuluri S, Jyothi Lakshmi B, Biswa BB, Venkatachalam B, Tripura C, Kumar S. Molecular characterization of Wdr13 knockout female mice uteri: a model for human endometrial hyperplasia. *Sci Rep*. 2020;10(1):14621. doi: 10.1038/s41598-020-70773-w
12. Габидуллина Р.И., Смирнова Г.А., Нухбала Ф.Р., Валеева Е.Б., Орлова Ю.И., Шакиров А.А. Гиперпластические процессы эндометрия: современная тактика ведения пациенток. *Consilium Medicum*. 2019;21(6):53–8. [Gabidullina RI, Smirnova GA, Nukhbala FR, Valeeva EV, Orlova YuI, Shakirov AA. Hyperplastic endometrial processes: Modern tactics of patient management. *Consilium Medicum*. 2019;21(6): 53–8 (In Russ.)]. doi: 10.26442/20795696.2019.6.190472
13. Refaie MMM, El-Hussieny M. The role of interleukin-1b and its antagonist (diacerein) in estradiol benzoate-induced endometrial hyperplasia and atypia in female rats. *Fundam Clin Pharmacol*. 2017;31(4):438–46. doi: 10.1111/fcp.12285
14. Royal College of Obstetrician and gynecologists. Management of Endometrial Hyperplasia. GreenTop Guideline No.67. RCOG/BSGE Joint Guideline – February 2016.
15. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*. 2022;12(1):31–46. doi: 1158/2159-8290.CD-21-1059