

СЫВОРОТОЧНЫЕ УРОВНИ ФАКТОРОВ РОСТА ГЕМОПОЭЗА И АНГИОГЕНЕЗА (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF И PDGF) У ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ

Коненков В.И., Королева Е.Г., Орлов Н.Б., Прокофьев В.Ф., Шевченко А.В., Новиков А.М.

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Резюме. Маточные лейомиомы являются распространенными доброкачественными опухолями, развивающимися из гладкомышечных тканей, зачастую приводящими к бесплодию и рецидивирующим абортam. Беременность и развитие миомы матки характеризуются необычайной скоростью роста миометрия, гиперпродукцией внеклеточного матрикса и повышением уровня экспрессии рецепторов для ряда ростовых факторов. Целью настоящего исследования явилось определение концентрации ряда основных ростовых факторов (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF и PDGF) в сыворотке крови женщин с миомой матки. Концентрацию 27 цитокинов определяли с использованием набора фирмы Bio Rad (США) – Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay методом проточной флуориметрии на двухлучевом лазерном анализаторе Bio-Plex 200. Под наблюдением находились 36 пациенток с верифицированным диагнозом миомы тела матки, которым в дальнейшем проводилось оперативное лечение в объеме лапароскопической миомэктомии. Результаты проведенного исследования показали наличие тенденции к снижению в сыворотке крови женщин с миомой матки таких ростовых факторов, оказывающих стимулирующее воздействие на процессы гемопоэза и ангиогенеза, как IL-9 и FGF. Концентрация IL-5, IL-7 и G-CSF оказалась достоверно снижена относительно характерного для содержания в сыворотке крови здоровых женщин европеоидного происхождения. Наиболее значимо оказалось снижение концентраций таких проангиогенных факторов, как VEGF и PDGF. Их концентрация в сыворотке крови женщин с лейомиомой оказалась сниженной, соответственно, в 3 и в 6 раз. Снижение концентрации G-CSF оказалось не только значительно выраженным относительно здоровых женщин, но тесно скоррелировано с изменениями концентраций таких факторов, как IL-5, IL-7 и IL-9, коэффициент корреляции которых составляет, соответственно, 0,723, 0,637 и 0,504. Можно заключить, что несмотря на то, что, по литературным данным, при развитии миомы матки отмечается значительное возрастание содержания ростовых факторов, участвующих в процессах гемопоэза и ангиогенеза в тканях миометрия и растущей лейомиомы, оно сопровождается, согласно полученным нами данным, снижением в той или иной степени концентраций этих регуляторных белков в сыворотке крови.

Ключевые слова: миома матки, факторы роста гемопоэза, факторы роста ангиогенеза, IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF, PDGF

Адрес для переписки:

*Прокофьев Виктор Федорович
Научно-исследовательский институт клинической
и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ
«Федеральный исследовательский центр Институт
цитологии и генетики Сибирского отделения Российской
академии наук»
630060, Россия, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2.
Тел./факс: 8 (383) 311-05-40, 227-01-94.
E-mail: vf_prok@mail.ru*

Address for correspondence:

*Prokofiev Viktor F.
Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology,
Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian
Branch, Russian Academy of Sciences
630060, Russian Federation, Novosibirsk, Timakova str., 2.
Phone/Fax: 7 (383) 311-05-40, 227-01-94.
E-mail: vf_prok@mail.ru*

Образец цитирования:

В.И. Коненков, Е.Г. Королева, Н.Б. Орлов, В.Ф. Прокофьев, А.В. Шевченко, А.М. Новиков «Сывороточные уровни факторов роста гемопоэза и ангиогенеза (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF и PDGF) у женщин с миомой матки» // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 5. С. 691–698. doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-691-698

© Коненков В.И. и соавт., 2018

For citation:

V.I. Konenkov, E.G. Koroleva, N.B. Orlov, V.F. Prokofiev, A.V. Shevchenko, A.M. Novikov “Serum levels of hemopoietic and angiogenesis growth factors (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF and PDGF) in women with uterine myoma”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2018, Vol. 20, no. 5, pp. 691–698. doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-691-698

DOI: 10.15789/1563-0625-2018-5-691-698

SERUM LEVELS OF HEMOPOIETIC AND ANGIOGENESIS GROWTH FACTORS (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF AND PDGF) IN WOMEN WITH UTERINE MYOMA

Kononkov V.I., Koroleva E.G., Orlov N.B., Prokofiev V.F., Shevchenko A.V., Novikov A.M.

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Uterine leiomyomas are common benign tumors developing from smooth muscle tissues, often leading to infertility and recurrent abortions. Pregnancy and development of uterine fibroids are characterized by an unusual rate of myometrium growth, hyperproduction of extracellular matrix and increased expression of numerous growth factor receptors. The purpose of this study was to determine concentrations of some key growth factors (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF and PDGF) in blood serum of women with uterine myoma. Concentrations of the 27 cytokines were determined using a Bio Rad kit (USA) – Bio-Plex Pro™. Human Cytokine 27-plex Assay by means of flow-through fluorometry at the Bio-Plex 200 double-beam laser analyzer. Thirty-six patients with verified uterine myoma were followed up, being later subject to operative treatment (laparoscopic myomectomy). The results of this study showed a trend to decreased amounts of some hematopoiesis and angiogenesis growth factors, e.g., IL-9 and FGF, in blood serum of women with uterine myoma. Concentrations of IL-5, IL-7, and G-CSF proved to be significantly decreased if compared to serum contents of European healthy women. The most significant decrease was registered for pro-angiogenic factors, such as VEGF and PDGF. Their serum concentration in women with leiomyoma was reduced, respectively, 3- and 6-fold against controls. The decreased G-CSF concentration was not only quite significant, as compared to healthy women, but showed significant correlations with changes of such factors as IL-5, IL-7 and IL-9, with correlation quotients of, resp., 0.723, 0.637, and 0.504, respectively. One may conclude that, in spite of literature data on significantly increased contents of the mentioned growth factors in tissues of myometrium and growing uterine leiomyoma, our data show that the concentrations of these regulatory proteins in blood serum are decreased to some extent in this clinical condition.

Keywords: uterine myoma, growth factors of hematopoiesis, growth factors of angiogenesis, IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF, PDGF

Введение

Маточные лейомиомы являются распространенными доброкачественными опухолями, развивающимися из гладкомышечных тканей, зачастую приводящими к бесплодию и рецидивирующим абортam. Беременность и развитие миомы матки (ММ) характеризуются необычайной скоростью роста миометрия, гиперпродукцией внеклеточного матрикса и повышением уровня экспрессии рецепторов для пептидных и стероидных гормонов. Однако, в отличие от обычного послеродового миометрия, лейомиомы не могут регрессировать путем апоптоза и подвергаться обратной послеродовой дедифференцировке [7]. Важнейшими регуляторами этих клеточных процессов являются представители семейства ростовых факторов. На сегодняшний день установлено, что активными участниками в процессах пролиферации и дифференцировки миометрия являются: эпидермальный фактор роста (EGF), гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста (HB-EGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF),

инсулиноподобный фактор роста (IGF), трансформирующий фактор роста α (TGF- α), фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF). Все приведенные выше факторы роста являются лигандами хорошо известных и установленных рецепторных тирозинкиназ (RTK), которые активируют два критических сигнальных каскада, таких как пути Ras-Erk/MAP-киназы и фосфатидилинозит-3-киназы (PI3K) – АКТ-mToc. Кроме того, члены надсемейства TGF, такие как TGF- β , а также активин являются важными факторами роста, связанными с биологией клеток миометрия, действуя посредством активации рецепторов сериновой треонинкиназы пути Smad [6, 14].

В настоящее время семейство ростовых факторов насчитывает более 100 наименований. В приведенном исследовании нами поставлена цель определить концентрации в сыворотке крови женщин с развившимися миомами матки таких наиболее значимых ростовых факторов, принимающих активное участие в процессах гемопо-

эза и ангиогенеза, как IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF и PDGF.

IL-5, или эозинофильный колониестимулирующий фактор, синтезируется эозинофилами, клетками Th2, тучными клетками, клетками-предшественниками CD34⁺, NK-Т-клетками и врожденными лимфоидными клетками типа 2 (ILC2), способствуя производству, созреванию, пролиферации, рекрутингу, дифференцировке и выживанию эозинофилов. Кроме того, IL-5 в костном мозге способствует дифференцировке некоторых CD34⁺ клеток в эозинофилы [19].

IL-7 описан как лимфопоэтический фактор роста или как лимфо-гомеостатический цитокин, играющий важную роль в В-клеточном лимфопоэзе и тимопоэзе [17]. Снижение уровня продукции IL-7 ретикулярными клетками лимфоузлов рассматривается в качестве одного из факторов снижения противоопухолевого иммунитета [8].

IL-9 оказывает плеiotропные эффекты на гемопоэтические клетки, связываясь со специфической цепью рецептора IL-9 (IL-9R α), активируя синтез IL-2, IL-4 и IL-21. IL-9 стимулирует накопление тучных клеток в тканях, способствует пролиферации Т-клеток, выживанию ILC, улучшает переключение класса IgE в В-клетках и изменяет активность кровяных клеток-предшественников. Хелперные эффекты IL-9 позволяют предположить функционирование специализированных Th9-клеток [12].

FGF- β является представителем семейства фактора роста фибробластов, экспрессируется в различных эмбриональных и взрослых тканях и проявляет разнообразную активность в пролиферации клеток, ангиогенезе, росте нейронов, выживании и заживлении ран. К настоящему моменту описано более 20 ростовых факторов этого семейства [10].

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор G-CSF инициирует пролиферацию и дифференцировку клеток предшественников в зрелые гранулоциты. Члены надсемейства колониестимулирующего фактора (CSF) участвуют в миелопоэзе млекопитающих, а именно: образование моноцитов, макрофагов, дендритных клеток (DCs) и полиморфноядерных фагоцитов, например нейтрофилов и эозинофилов [3].

Фактор роста сосудистого эндотелия VEGF опосредует ангиогенез, расширение существующего сосудистого русла путем прорастания новых кровеносных сосудов [1, 22].

Тромбоцитарный фактор роста PDGF играет важную роль в ангиогенезе, пролиферации таких мезенхимных клеток, как фибробласты, остеобласты, сосудистые гладкомышечные клетки, нейроэктодермальные клетки-предшественники

и мезенхимальные стволовые клетки, а также в направленной миграции мезенхимальных клеток [4].

Материалы и методы

Описание группы пациентов

Под наблюдением находились 36 пациенток с верифицированным диагнозом миомы тела матки, которым проводилось оперативное лечение в объеме лапароскопической миомэктомии. Возраст пациенток составил от 23 до 54 лет. Средний возраст составил 41,13 \pm 6,68. Среди них пациенток с избыточной массой тела и с ожирением (ИМТ > 24,99) – 35,89%. Нарушение менструального цикла по типу полименореи выявлено у 20 пациенток. Предшествующие роды отмечены у 28 пациенток. Искусственное прерывание беременности в анамнезе у 25 женщин. Спонтанные выкидыши выявлены у 8 пациенток. У 5 пациенток в анамнезе беременностей не наступало. Жалобы на тянущие боли внизу живота предъявили 28 пациенток, на кровотечение – 23 пациентки. Размеры миоматозных узлов, выявленных по данным УЗИ, органов малого таза составили от 5 до 180 мм. Средний размер 106,5 \pm 41,05 мм. По передней стенке матки располагались узлы у 19 пациенток, по задней – у 7 пациенток; атипичное расположение (забрюшинные, перешеечные узлы) – у 2, сочетанное расположение – у 10 пациенток. При выполнении предоперационной гистероскопии, при гистологическом исследовании у 7 пациенток диагностирован полип эндометрия, у 6 пациенток – простая гиперплазия эндометрия.

Метод определения цитокинов

Однократно замороженная сыворотка крови размораживалась перед исследованием до комнатной температуры. Для удаления осадка проводили центрифугирование сыворотки при 4 °С 10000 об/мин 10 минут. Концентрацию 27 цитокинов определяли с использованием набора фирмы Bio Rad (США) – Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay методом проточной флуориметрии на двухлучевом лазерном анализаторе Bio-Plex 200 производства Bio-Rad (США). В сыворотке одномоментно определялись концентрации IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, FGF basic, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN γ , IP-10, MCP-1 (MCAF), MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-BB, RANTES, TNF α и VEGF после построения калибровочной кривой по соответствующим стандартам. Для обработки данных применялось программное обеспечение Bio-Plex manager Software v. 4.1. Концентрация цитокинов выражалась в пикограммах на 1 миллилитр (пг/мл).

Методы статистического анализа

Статистическая обработка проводилась с помощью специализированных пакетов прикладных программ StatSoft Statistica 10.0 и IBM SPSS Statistics 23 (США). Проверку гипотезы о нормальном распределении количественных параметров проводили с использованием критерия Шапиро–Уилка и критерия Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Для анализа данных использовали параметрические (t-критерий Стьюдента для независимых выборок с учетом выполнения двух ограничивающих условий: нормальность распределения и равенство генеральных дисперсий для групп сравнения) и непараметрические (U-тест Манна–Уитни, ранговая корреляция Спирмена) методы статистики. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибка средней ($M \pm m$), медианы (Me) и интерквартильного размаха (интервал между 25-м ($Q_{0,25}$) и 75-м ($Q_{0,75}$) процентилями). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты

Необходимо отметить, что при сравнении количественных характеристик исследованных цитокинов обращает на себя внимание значительная дисперсия практически всех регуляторных факторов в сыворотке крови обследован-

ных женщин. Это заключение подтверждается как значениями минимальных и максимальных показателей, представленных в таблице 1, так и значительными различиями в показателях средних величин и медианных критериев для всех исследованных цитокинов.

Кроме того, привлекают внимание значительные различия в абсолютных значениях содержания исследованных ростовых факторов в сыворотке крови больных ММ женщин. Так, если содержание IL-5 характеризуется величиной $2,23 \pm 0,39$ пг/мл, то концентрация PDGF-BB в тех же сыворотках достигает уже величины $4212,53 \pm 388,62$ пг/мл, то есть практически в тысячи раз выше. Речь здесь, конечно, идет об абсолютных значениях концентраций белков, а не сравнительной активности этих регуляторных факторов, которую можно сопоставить лишь в соответствующих клеточных тест-системах.

Переходя к вопросу о сопоставлении полученных результатов со значениями исследованных показателей у здоровых женщин, мы обратились к нормативным значениям, полученным на значительной выборке здоровых женщин европеоидного происхождения, полученных лабораторией, сотрудничающей с фирмой-разработчиком используемых нами тест-систем “27-plex kit from Bio-Rad” [5]. В этих исследованиях проведен тщательный анализ результатов исследова-

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИИ ФАКТОРОВ РОСТА ГЕМОПОЭЗА И АНГИОГЕНЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ

TABLE 1. CONCENTRATIONS OF GROWTH FACTORS OF HEMOPOIESIS AND ANGIOGENESIS IN THE SERUM OF WOMEN WITH UTERINE MYOMA

Статистический показатель Statistical indicator	IL-5	IL-7	IL-9	FGF- β	G-CSF	VEGF	PDGF-BB	
Среднее Mean value	2,22	8,16	89,75	46,32	54,26	79,72	4212,52	
Стандартная ошибка среднего значения Standard error of mean value	0,39	0,75	4,84	3,97	3,50	8,35	388,62	
Среднеквадратическое отклонение Standard deviation	2,35	4,51	29,06	23,82	21,02	50,09	2331,71	
Минимум Minimum	0,01	1,82	54,32	22,53	20,20	9,93	1400,43	
Максимум Maximum	7,54	22,54	221,13	162,67	95,50	201,28	11144,54	
Мода Mode	0,01	2,80	54,32	22,53	20,20	9,93	1400,43	
Медиана Median	1,36	7,73	84,14	43,13	51,58	70,39	3757,18	
Процентили Percentiles	Q _{0,25}	0,01	4,24	72,56	33,96	36,88	35,96	2499,72
	Q _{0,75}	4,21	11,22	98,05	49,26	69,66	115,84	5046,98

ния цитокинов в сыворотке крови в зависимости от пола, возраста, этнической принадлежности обследованных лиц, от времени исследования и даже от использования различных пластиковых планшетов при исследовании полученного образца сыворотки крови. Результаты этих исследований, статистический анализ которых проведен с помощью программного обеспечения Bio-Plex Manager software v. 6.2, признаны пригодными в качестве нормативных значений. Несмотря на то, что результаты исследования 25 из 27 цитокинов (за исключением MCP-1 и TNF α) не выявили гендерных различий, для сопоставления нами использованы данные исследования сывороток группы из 94 здоровых женщин [9].

Результаты проведенного исследования показали наличие тенденции к снижению в сыворотке крови женщин с ММ таких ростовых факторов, оказывающих стимулирующее воздействие на процессы гемопоэза и ангиогенеза, как IL-9 и FGF. Хотя при оценке полученных различий с помощью одностороннего критерия Стьюдента получены значения $p = 0,0001$ и $0,052$ соответственно, при использовании более точного двустороннего критерия эти различия утрачивают значения достоверности ($p = 0,314$).

Гораздо более значимые результаты получены при сопоставлении полученных данных об уровне остальных пяти исследованных ростовых факторов в сыворотке крови женщин с ММ.

Так, концентрация IL-5 с его способностью воздействовать на активность эозинофильных клеток снижена до $2,23 \pm 0,39$ пг/мл по сравнению с $8,0 \pm 1,68$ пг/мл, характерной для содержания в сыворотке крови здоровых женщин европейского происхождения ($p = 0,001$).

Еще более значимым оказалось снижение содержания в сыворотке крови женщин с ММ такого плейотропного лимфопоэтического фактора, как IL-7. Его средняя концентрация в сыворотке крови обследованных нами пациенток составила $8,16 \pm 0,75$ пг/мл, что значительно ниже присущего здоровым женщинам уровня концентрации $59,5 \pm 14,62$ пг/мл ($p = 0,0006$).

Сходным образом характеризуются и результаты определения в сыворотке крови женщин с ММ гранулоцитарного колониестимулирующего фактора G-CSF. Его концентрация в сыворотке крови женщин с ММ составляет $54,26 \pm 3,5$ пг/мл, что достоверно ниже, чем аналогичный показатель, установленный для здоровых женщин $93,7 \pm 9,33$ пг/мл ($p = 0,0001$).

Поскольку рост опухолевой массы как злокачественного, так и доброкачественного характера сопровождается развитием процессов ангиогенеза и васкулогенеза, особое внимание при исследовании ростовых факторов обращено на такие

проангиогенные факторы, как VEGF и PDGF. Их концентрация в сыворотке крови женщин с лейомиомой также оказалась значительно сниженной, соответственно, в 3 и в 6 раз. Концентрация фактора роста сосудистого эндотелия VEGF в сыворотке крови женщин с ММ составляет $79,72 \pm 8,35$ пг/мл, тогда как в сыворотке крови здоровых женщин его уровень характеризуется величиной $263,3 \pm 22,95$ пг/мл ($p < 0,0000001$).

Аналогичным образом изменена и концентрация в сыворотке крови женщин с ММ тромбоцитарного фактора роста PDGF. Усредненный показатель его содержания составляет $4212,53 \pm 388,62$ пг/мл, тогда как в группе здоровых женщин он определяется в концентрации $27537,4 \pm 2676,95$ пг/мл ($p < 0,0000001$).

Обсуждение

Сыворотка крови является наиболее доступным для исследования объектом, однако всегда возникает вопрос о том, насколько адекватно отражает содержание того или иного биологически активного вещества в кровеносном русле процессы, происходящие в тканях и в очагах патологических изменений. В связи с этим полученные результаты необходимо сопоставлять с данными, полученными при исследовании тканей миометрия и очагов роста лейомиомы.

Полученные нами данные говорят о снижении концентрации проангиогенных факторов в сыворотке крови, однако это может служить как свидетельством снижения уровня их синтеза, так и свидетельством их активного потребления в патологических очагах миометрия.

В литературе, посвященной исследованию факторов роста при развитии ММ, практически отсутствуют сведения о роли IL-5, IL-7 и IL-9 в росте лейомиом, хотя и описаны единичные случаи развития эозинофильной инфильтрации при этом заболевании [21] и выявлены тенденции к снижению уровня IL-7 и IL-9 в плазме американских женщин африканского происхождения с ММ [23]. В этом же исследовании выявлена тенденция к снижению уровня сывороточного G-CSF в плазме крови женщин с ММ. В этой же работе нашли подтверждение используемые нами нормативные для здоровых женщин значения содержания в крови этого ростового фактора, который при использовании метода проточной флуориметрии колеблется в интервале 86-108 пг/мл. Снижение концентрации данного ростового фактора оказалось не только значительно выраженным (практически в 2 раза) относительно здоровых женщин, но тесно скоррелировано с изменениями концентраций таких факторов, как IL-5, IL-7 и IL-9, коэффициент

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ КОРРЕЛЯЦИОННОГО АНАЛИЗА КОНЦЕНТРАЦИЙ ФАКТОРОВ РОСТА ГЕМОПОЭЗА И АНГИОГЕНЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ

TABLE 2. RESULTS OF THE CORRELATION ANALYSIS OF THE CONCENTRATIONS OF GROWTH FACTORS OF HEMOPOIESIS AND ANGIOGENESIS IN THE SERUM OF WOMEN WITH UTERINE MYOMA

Показатели Indicators	IL-5	IL-7	IL-9	FGF-β	G-CSF	VEGF	PDGF-BB
IL-5	1,000	0,524	0,464	0,288	0,723	0,332	0,308
		0,001	0,004	0,089	< 0,001	0,048	0,068
IL-7	0,524	1,000	0,393	0,551	0,637	0,567	0,700
	0,001		0,018	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
IL-9	0,464	0,393	1,000	0,387	0,504	0,304	0,419
	0,004	0,018		0,020	0,002	0,071	0,011
FGF-β	0,288	0,551	0,387	1,000	0,484	0,318	0,416
	0,089	< 0,001	0,020		0,003	0,059	0,012
G-CSF	0,723	0,637	0,504	0,484	1,000	0,438	0,488
	< 0,001	< 0,001	0,002	0,003		0,008	0,003
VEGF	0,332	0,567	0,304	0,318	0,438	1,000	0,436
	0,048	< 0,001	0,071	0,059	0,008		0,008
PDGF-BB	0,308	0,700	0,419	0,416	0,488	0,436	1,000
	0,068	< 0,001	0,011	0,012	0,003	0,008	

Примечание. Верхняя строка – значения коэффициента корреляции Спирмена; нижняя строка – уровень достоверности (значимости) коэффициента корреляции.

Note. Top line, values of the Spearman correlation coefficient; bottom line, the level of reliability (significance) of the correlation coefficient.

корреляции которых составляет, соответственно, 0,723, 0,637 и 0,504 (табл. 2).

Экспрессия мРНК VEGF и белка была идентифицирована в гладкомышечных клетках как нормального миометрия, так и лейомиомы. Рецепторы VEGF, VEGFR-1 и VEGFR-2 также экспрессируются в миометрии и клеточных лейомиомах [18]. Более выраженная экспрессия VEGF была обнаружена в лейомиомах по сравнению с соседним миометрием, что указывает на то, что локальный ангиогенез может быть важным для развития и роста этих опухолей, причем экспрессия VEGF более выражена при лейомиосаркоме по сравнению с лейомиомой. VEGF стимулирует ангиогенную активность, которая отвечает за активно растущие опухоли и может усилить рост миомы и прогрессирование заболевания при многих карциномах [2, 9].

Экспрессия PDGF и PDGF-R была зарегистрирована как в нормальных тканях миометрия, так и на более высоком уровне в очагах лейомиомы, причем в клетках культивируемой лейомиомы присутствует больше участков PDGF-R, чем в клетках миометрия, но их сродство к рецепторам ниже в лейомиоме, чем в миометрии [13]. Обработка культивируемых клеток гладкой мускулатуры миометрия человека PDGF стимулирует экспрессию VEGF и стимулирует пролиферацию

клеток [20]. Взаимодействие между активностью этих факторов подтверждается и результатами проведенного нами корреляционного анализа, который показал, что коэффициент корреляции между изменениями их концентраций в сыворотке крови составляет 0,436 ($p = 0,008$).

Активные формы кислорода, продуцирующиеся NADPH-оксидазным комплексом, являются необходимым компонентом митогенного пути MAP-киназы, активирующей PDGF в клетках гладкой мускулатуры лейомиомы. Стимуляция этих клеток PDGF вызывает заметное увеличение внутриклеточной продукции активного кислорода, в то время как ингибитор NADPH-оксидазы блокирует его продукцию дозозависимым образом [15].

В патогенезе ММ играют важную роль взаимодействия факторов роста и белков внеклеточного матрикса [11]. Методами сокультивирования установлена повышенная пролиферация миоцитов лейомиомы матки и фибробластов, полученных из лейомиомы матки, и повышенные уровни внеклеточного матрикса, коллагена I типа и связывающего инсулиноподобного фактора роста (IGFBP-3). Также была увеличена секреция TGF-β, VEGF, EGF, FGF-β и PDGF-AA и -BB в среде клеток лейомиомы, совместно культивированных с фибробластами, сопровождаю-

шаяся повышением фосфорилирования фактора роста. Растворимые факторы, высвобождаемые фибробластами и/или лейомиомой, полученными из опухолей, и активация рецепторов фактора роста и их путей стимулировали пролиферацию клеток лейомиомы и улучшали производство белков внеклеточного матрикса [16].

Экспрессия фактора роста фибробластов с его способностью стимулировать пролиферацию миоцитов и клеток лейомиомы как в кислой, так и в основной формах и рецепторов к нему FGFR-1 и FGFR-2 выявлена в клетках нормального миометрия и значительно повышается во время роста

лейомиомы [24], что также может быть связано с выявленным нами незначительным снижением его содержания в сыворотке крови женщин с ММ.

Таким образом, можно заключить, что, по литературным данным, при развитии ММ отмечается значительное возрастание содержания ростовых факторов, участвующих в процессах гемопоеза и ангиогенеза, в тканях миометрия и растущей лейомиомы, что сопровождается, согласно полученным нами данным, снижением в той или иной степени концентраций этих регуляторных белков в сыворотке крови.

Список литературы / References

1. Коненков В.И., Климонтов В.В., Черных В.В., Тянь Н.В. Ангиогенез при пролиферативной диабетической ретинопатии: перспективы анти-VEGF-терапии (обзор литературы) // Офтальмохирургия, 2013. № 4. С. 111-115. [Konenkov V.I., Klimontov V.V., Chernykh V.V., Tyan N.V. Angiogenesis in proliferative diabetic retinopathy: perspectives of anti-VEGF therapy (review of literature). *Oftalmokhirurgiya = Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*, 2013, no. 4, pp. 111-115. (In Russ.)]
2. Arita S., Kikkawa F., Kajiyama H., Shibata K., Kawai M., Mizuno K., Nagasaka T., Ino K., Nomura S. Prognostic importance of vascular endothelial growth factor and its receptors in the uterine sarcoma. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2005, Vol. 15, no. 2, pp. 329-336.
3. Becher B., Tugues S., Greter M. GM-CSF: from growth factor to central mediator of tissue inflammation. *Immunity*, 2016, Vol. 45, no. 5, pp. 963-973.
4. Betsholtz C. Biology of platelet-derived growth factors in development. *Birth Defects Res. C Embryo Today*, 2003, Vol. 69, no. 4, pp. 272-285.
5. Ciarmela P., Bloise E., Gray P.C., Carrarelli P., Islam M.S., de Pascalis F., Severi F.M., Vale W., Castellucci M., Petraglia F. Activin-A and myostatin response and steroid regulation in human myometrium: disruption of their signalling in uterine fibroid. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2011, Vol. 96, no. 3, pp. 755-765.
6. Ciarmela P., Islam Md. S., Reis F.M., Gray P. C., Bloise E., Petraglia F., Vale W., Castellucci M. Growth factors and myometrium: biological effects in uterine fibroid and possible clinical implications. *Hum. Reprod. Update*, 2011, Vol. 17, no. 6, pp. 772-790.
7. Gao J., Zhao L., Liu L., Yang Y., Guo B., Zhu B. Disrupted fibroblastic reticular cells and interleukin-7 expression in tumor draining lymph nodes. *Oncol. Lett.*, 2017, Vol. 14, no. 3, pp. 2954-2960.
8. Hong T., Shimada Y., Uchida S., Itami A., Li Z., Ding Y., Kaganoi J., Komoto I., Sakurai T., Imamura M. Expression of angiogenic factors and apoptotic factors in leiomyosarcoma and leiomyoma. *Int. J. Mol. Med.*, 2001, Vol. 8, no. 2, pp. 141-148.
9. Itoh N., Ohta H., Nakayama Y., Konishi M. Roles of FGF signals in heart development, health, and disease. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2016, Vol. 4, p. 110.
10. Joseph D.S., Malik M., Nurudeen S., Catherino W.H. Myometrial cells undergo fibrotic transformation under the influence of transforming growth factor beta-3. *Fertil. Steril.*, 2010, Vol. 93, no. 5, pp. 1500-1508.
11. Kaplan M.H., Hufford M.M., Olson M.R. The development and *in vivo* function of T helper 9 cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2015, Vol. 15, no. 5, pp. 295-307.
12. Liang M., Wang H., Zhang Y., Lu S., Wang Z. Expression and functional analysis of platelet-derived growth factor in uterine leiomyomata. *Cancer Biol. Ther.*, 2006, Vol. 5, no. 1, pp. 28-33.
13. McKay M.M., Morrison D.K. Integrating signals from RTKs to ERK/MAPK. *Oncogene*, 2007, Vol. 26, no. 22, pp. 3113-3121.
14. Mesquita F.S., Dyer S.N., Heinrich D.A., Bulun S.E., Marsh E.E., Nowak R.A. Reactive oxygen species mediate mitogenic growth factor signaling pathways in human leiomyoma smooth muscle cells. *Biol. Reprod.*, 2010, Vol. 82, no. 2, pp. 341-351.
15. Moore A.B., Yu L., Swartz C.D., Zheng X., Wang L., Castro L., Kissling G.E., Walmer D.K., Robboy S.J., Dixon D. Human uterine leiomyoma-derived fibroblasts stimulate uterine leiomyoma cell proliferation and collagen type I production, and activate RTKs and TGF beta receptor signaling in coculture. *Cell Commun. Signal*, 2010, Vol. 8, p. 10.
16. Nguyen V., Mendelsohn A., Larrick J.W. Interleukin-7 and Immunosenescence. *J. Immunol. Res.*, 2017, 4807853. doi: 10.1155/2017/4807853.
17. Sanci M., Dikis C., Inan S., Turkoz E., Dicle N., Ispahi C. Immunolocalization of VEGF, VEGF receptors, EGF-R and Ki-67 in leiomyoma, cellular leiomyoma and leiomyosarcoma. *Acta Histochem.*, 2011, Vol. 113, no. 3, pp. 317-325.

18. Schollaert K.L., Stephens M.R., Gray J.K., Fulkerson P.C. Generation of eosinophils from cryopreserved murine bone marrow cells. *PLoS ONE*, 2014, Vol. 9, no. 12, e116141. doi: 10.1371/journal.pone.0116141.
19. Taniguchi Y., Morita I., Kubota T., Murota S., Aso T. Human uterine myometrial smooth muscle cell proliferation and vascular endothelial growth-factor production in response to platelet-derived growth factor. *J. Endocrinol.*, 2001, Vol. 169, no. 1, pp. 79-86.
20. Vang R., Medeiros L.J., Samoszuk M., Deavers M.T. Uterine leiomyomas with Eosinophils: a clinicopathologic study of 3 cases. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2001, Vol. 20, no. 3, pp. 239-243.
21. Vempati P., Popel A.S., Mac Gabhann F. Extracellular regulation of VEGF: isoforms, proteolysis, and vascular patterning. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2014, Vol. 25, no. 1, pp. 1-19.
22. Wegienka G., Baird D.D., Cooper T., Woodcroft K.J., Havstad S. Cytokine patterns differ seasonally between women with and without uterine leiomyomata. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2013, Vol. 70, no. 4, pp. 327-335.
23. Wolanska M., Bankowska-Guszczyn E., Jaworski S. Fibroblast growth factor gene expression in uterine leiomyomas. *Ginekol. Pol.*, 2008, Vol. 79, no. 8, pp. 555-559.

Авторы:

Коненков В.И. — д.м.н., профессор, академик РАН, руководитель лаборатории клинической иммуногенетики, научный руководитель, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Королева Е.Г. — врач акушер-гинеколог, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Орлов Н.Б. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Прокофьев В.Ф. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Шевченко А.В. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Новиков А.М. — врач акушер-гинеколог, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Konenkov V.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory for Clinical Immunogenetics, Scientific Director, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Koroleva E.G., Obstetrician-Gynecologist, Research Associate, Laboratory of Cell Technologies, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Orlov N.B., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory for Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Prokofiev V.F., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory for Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Shevchenko A.V., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory for Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Novikov A.M., Obstetrician-Gynecologist, Junior Research Associate, Laboratory of Cell Technologies, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 11.12.2017
Принята к печати 13.12.2017

Received 11.12.2017
Accepted 13.12.2017