

## Гиперплазия эндометрия: патогенетические лечебные подходы (экспериментальное исследование)

Н.И. Волоцкая<sup>1</sup>, Т.П. Макалиш<sup>1</sup>, Г.И. Подгорный<sup>2</sup>, М.А. Кальфа<sup>1</sup>,  
Н.С. Прасолов<sup>1</sup>, А.В. Кубышкин<sup>1</sup>, Е.П. Коваленко<sup>1</sup>, Е.Ю. Зяблицкая<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь, Россия

<sup>2</sup> ГБУ РО «Городская больница № 6» в г. Ростове-на-Дону, Ростов-на-Дону, Россия

**Резюме.** *Введение.* Высокая частота встречаемости гиперплазии эндометрия, удобство ее моделирования и морфологической диагностики ставят важную задачу экспериментальной медицине по разработке способов ее патогенетической коррекции. Цель работы – провести комплексное иммуно-морфологическое исследование при гиперплазии эндометрия на фоне избытка эстрогенов, подобрать патогенетическую терапию и оценить ее эффективность.

*Материалы и методы.* В исследовании использовали лабораторных крыс Вистар (n=45), которых разделили на контрольную (n=5) и экспериментальную (n=40) группы. Нами создана и морфологически верифицирована модель гиперплазии эндометрия при овариэктомии и трансдермальном введении эстрогенов. В экспериментальной группе выполнена коррекция индолом, мелоксикамом и полиоксидонием. При иммуногистохимическом изучении экспрессии маркеров пролиферации, апоптоза, различных пулов иммунных клеток, фактора роста сосудов были получены данные о механизмах развития гиперплазии.

*Результаты.* В данной модели иммунофенотипические изменения отличаются в отделах для вынашивания (рог матки) и изгнания плода (аналог шейки матки женщины). Выявлены разнонаправленные нарушения клеточного цикла эпителиоцитов и топографии иммунокомпетентных клеток. Мелоксикам нормализует большинство данных показателей – число иммунокомпетентных клеток, кинетику клеточных популяций, индол оказывает антиэстрогенный эффект, увеличивает экспрессию рецепторов к прогестерону, а полиоксидоний менее эффективен в коррекции гиперплазии эндометрия.

*Заключение.* Динамика экспрессии изученных маркеров может быть рекомендована для диагностики гиперплазии, а выявленные эффекты лекарственных препаратов для комплексной патогенетической терапии.

**Ключевые слова:** гиперплазия эндометрия, иммуноморфология, воспаление, диагностика, лечение  
**Для корреспонденции:** Евгения Юрьевна Зяблицкая. E-mail: evgu79@mail.ru

**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. Гиперплазия эндометрия: патогенетические лечебные подходы (экспериментальное исследование). Клини. эксп. морфология. 2024;13(1):59–68. DOI: 10.31088/СЕМ2024.13.1.59-68.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке программы развития Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского «Приоритет-2030» (№ 075-15-2021-1323).

Статья поступила 20.12.2022. Получена после рецензирования 07.02.2023. Принята в печать 10.04.2023.

## Endometrial hyperplasia: pathogenetic therapeutic approaches (experimental study)

N.I. Volotskaya<sup>1</sup>, T.P. Makalish<sup>1</sup>, G.I. Podgorny<sup>2</sup>, M.A. Kalfa<sup>1</sup>,  
N.S. Prasolov<sup>1</sup>, A.V. Kubyskin<sup>1</sup>, E.P. Kovalenko<sup>1</sup>, E.Yu. Zyablitskaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

<sup>2</sup> Rostov-on-Don City Hospital No. 6, Rostov-on-Don, Russia

**Abstract.** *Introduction.* The high incidence of endometrial hyperplasia and the convenience of its modeling and morphological diagnosis pose an important task for experimental medicine to develop methods

for its pathogenetic correction. The paper aimed to conduct a comprehensive immunomorphological study for endometrial hyperplasia against the background of excessive estrogens, select pathogenetic therapy, and evaluate its effectiveness.

**Materials and methods.** We used laboratory Wistar rats (n=45), which were divided into the control (n=5) and experimental (n=40) groups. We created and verified a model of endometrial hyperplasia during ovariectomy and transdermal administration of estrogens. In the experimental group, the correction with indole, meloxicam, and polyoxidonium was performed. Immunohistochemical study of the expression of proliferation markers, apoptosis, various pools of immune cells, and vascular growth factor provided data on hyperplasia development mechanisms.

**Results.** In this model, immunophenotypic changes differ in the parts responsible for gestation (the uterine horn) and expulsion of the fetus (analogous to the human cervix). Divergent disruptions of the cell cycle of epithelial cells and the topography of immunocompetent cells were revealed. Meloxicam normalizes most of these indicators (the number of immunocompetent cells and the kinetics of cell populations); indole has an antiestrogenic effect and increases the expression of progesterone receptors; and polyoxidonium is less effective in the correction of endometrial hyperplasia.

**Conclusion.** The dynamics of the expression of the studied markers can be recommended for diagnosis, whereas the identified effects of drugs can be used for complex pathogenetic therapy.

**Keywords:** endometrial hyperplasia, immunomorphology, inflammation, diagnosis, treatment

**Corresponding author:** Evgenia Yu. Zyablitskaya. E-mail: evgu79@mail.ru

**For citation:** Volotskaya N.I., Makalish T.P., Podgorny G.I., Kalfa M.A., Prasolov N.S., Kubyshev A.V., Kovalenko E.P., Zyablitskaya E.Yu. Endometrial hyperplasia: pathogenetic therapeutic approaches (experimental study). Clin. exp. morphology. 2024;13(1):59–68. DOI: 10.31088/CEM2024.13.1.59-68.

**Funding.** The study was supported by the V.I. Vernadsky Crimean Federal University Development Program “Priority-2030” (No. 075-15-2021-1323).

**Received** 20.12.2022. **Received in revised form** 07.02.2023. **Accepted** 10.04.2023.

## Введение

За несколько десятилетий частота встречаемости патологии эндометрия многократно возросла. Преимущественно это гиперплазия эндометрия (ГЭ) и реже рак [1, 2]. На наш взгляд и по мнению экспертов, есть прямая связь ГЭ с ограничением рождаемости, блокирующим фертильность и полные гормональные репродуктивные циклы женщин, а также с поступлением эстрогенов извне, избыточным весом, нездоровыми алиментарными привычками, усугубляющими гиперэстрогению, поступлением провоспалительных цитокинов, что особенно остро проявлено в стадии менопаузального перехода [3–6] и при нарушениях систем генов и кодируемых ими белков [7].

По данным, полученным в нашей клинической морфологической лаборатории и опубликованным другими авторами, атипичная ГЭ связана с хроническим воспалением и ростом экспрессии CD45 [4, 8], уходом клеток от иммунного надзора и ингибированием их программируемой гибели через FAS-рецепторы, что приводит к неконтрольной пролиферации в условиях нарушения репарации ДНК [9]. Клетки базального слоя эндометрия получают стимулы к делению [10] гиперпродукцией эстрогенов и индукцией ангиогенеза, что на фоне недостаточности прогестерона стимулирует развитие ГЭ и рака [11]. Диагноз «гиперплазия эндометрия» верифицируют морфологически при наличии разрастания эндометриальных желез, роста железисто-стромальных соотношений, высоты эпителиоцитов в железах [12]. Прогнозирование течения ГЭ проводят

на основании выраженности клинических проявлений, степени морфологических изменений, наличия ядерной атипии [13–15].

Высокая частота встречаемости ГЭ, удобство морфологической диагностики, доступность экспериментальных моделей [16], патогенетической коррекции ГЭ и профилактики развития рака явились стимулом выполнения этой работы для решения задач медицины, прежде всего амбулаторного звена.

Цель работы – провести комплексное иммуноморфологическое исследование при ГЭ на фоне избытка эстрогенов, подобрать патогенетическую терапию и оценить ее эффективность.

## Материалы и методы

Исследования выполнены в центральной научно-исследовательской лаборатории и виварии Медицинского института имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского, подтвердившего приемлемость исследований с биоэтических позиций. Содержание и использование животных соответствовали Закону РФ от 14.05.1993 № 4979-1 «О ветеринарии», Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных, Конвенции Совета Европы о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). На проведение исследования получено разрешение комитета по этике Медицинского института имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского

(протокол № 4 от 12.04.2022). Все болезненные манипуляции (оперативное вмешательство при овариэктомии и выведение из эксперимента методом декапитации) выполнены под эфирным наркозом.

Эксперимент проведен на 45 зрелых самках белых крыс линии Вистар весом 170–190 граммов, являющихся полиэстральными животными. После адаптации с контролем цикла по картине вагинальных мазков с целью гормональной стандартизации и исключения воздействия эндогенных гормонов в лютеиновую фазу у 40 крыс провели билатеральную овариэктомию с применением анестезии поясничным доступом в диэструсе. Контрольную группу составили 5 самок крыс после ложной овариэктомии (разрез без удаления яичника). Модель гиперэстрогении создали у животных с удаленными яичниками путем ежедневного введения эстрогенов через кожу живота курсом длительностью 4 недели в виде аппликации геля, содержащего эстрадиол 0,1% из расчета 1 мг на 1 кг веса. Этот способ введения безболезненный и удобен для эксперимента.

Гель наносили лопаточкой на кожу живота площадью 4 см<sup>2</sup> и втирали пальцем в виниловой перчатке. Животные не слизывали гель, он впитывался под кожу. Исходя из расчета, наносили около 0,2 мг эстрадиола, что является большой дозой, эффективной для создания модели гиперэстрогении.

Отмечен комплекс прямых морфологических и физиологических эффектов гиперэстрогении: 1) у крыс экспериментальной группы на основании цитологии вагинальных мазков со второй недели введения эстрадиола выявлена персистенция эструса, 2) при операции и выведении из эксперимента визуально толщина маточных рогов в несколько раз превосходила контрольные показатели, 3) на тканевом уровне это проявлено морфометрическими признаками увеличения соотношения площади желез к строме. На наш взгляд, эти данные подтверждают эффективность модели и являются более значимыми по сравнению с определением уровня гормонов в крови крыс.

Далее животных экспериментальной группы случайно и поровну разделили на четыре подгруппы по 10 особей в каждой, в одной из которых не выполняли лечебные мероприятия, а в трех дифференцированно проводили патогенетическую коррекцию ГЭ тремя способами: 1) нестероидным противовоспалительным препаратом избирательным ингибитором циклооксигеназы-2 (внутримышечное введение раствора мелоксикама 0,02 мг 1 раз в сутки на протяжении 7 дней); 2) иммуномодулятором азоксимера бромидом (полиоксидоний в таблетках по 0,08 мг энтерально через зонд 2 раза в сутки на протяжении 14 дней); 3) растительной биологически активной добавкой с антиэстрогенной и антиоксидантной активностью (индол форте в капсулах энтерально через зонд 1 раз в сутки на протяжении 14 дней). Препараты дозировали путем пересчета дозы человека на массу тела крысы. Таким образом,

сформированы две группы: крысы контрольной группы в фазе эструса (n=5) и экспериментальная группа ГЭ, которая включала четыре подгруппы: без терапевтической коррекции (n=10) и три подгруппы с коррекцией – мелоксикам (n=10), полиоксидоний (n=10), индол (n=10). Животных выводили из эксперимента с помощью декапитации под эфирным наркозом спустя 4 недели (4 недели – введение эстрогенов, из которых 2 последние недели – введение индола и полиоксидония, а мелоксикама – последние 7 дней).

Для гистологического исследования выполняли фиксацию, проводку, заключение в парафин. Пропитывание тканей парафином осуществляли в гистопроцессоре Logos (Milestone, Италия). Изготавливали парафиновые мультиблоки, позволяющие монтировать на стекло фрагменты тканей крыс разных групп согласно схеме расположения. Стандартизация обеспечена равной глубиной заливки, погружением идентичных участков и анализом контрольных образцов. Готовили срезы толщиной 4 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартным методикам.

Иммуногистохимию (ИГХ) выполняли согласно рекомендованным протоколам. Преаналитический этап проводили в соответствии с требованиями молекулярной иммунодиагностики [17]. Постановку реакции ИГХ осуществляли в полуавтоматическом иммуногистостейнере Bond-MAX (Leica Microsystems, Германия) с использованием режимов демаскировки и инкубации, рекомендованных производителями антител к эстрогену (ER), прогестерону (PR), Ki-67, FAS, Bcl-2, VEGF, CD4, CD8, CD138. Протокол окрашивания включал депарафинизацию, блокировку эндогенной пероксидазы, детекцию продуктов реакции с помощью системы Bond Polymer Refine Detection (Leica Biosystems, Германия). Препараты сканировали на микроскопе Aperio CS2 (Leica, Microsystems, Германия) и оценивали реакцию при помощи программного обеспечения Aperio Image Scope v.11.0.3.

Подсчитывали высоту эндометрия и эпителиальных клеток в железах, соотношение площади желез и стромы, их дилатацию и клеточную инфильтрацию. Методом ИГХ определяли экспрессию рецепторов к прогестерону и эстрогену с маркерами ER (клон 6F11 в разведении 1:100, Leica Biosystems, Германия), PR (клон 16 в разведении 1:100, Leica Biosystems, Германия), пролиферативную активность клеток эндометрия – маркером G-фазы митоза Ki67 (клон MM1 в разведении 1:50, Leica Biosystems, Германия), состояние систем апоптоза с антителами к FAS-рецептору (клон 133619 в разведении 1:200, Abcam, США) и антиапоптотическому белку Bcl-2 (клон BCL-2/100/D5 в разведении 1:200, Leica Biosystems, Германия), активность ангиогенеза с маркером VEGF (клон RB-9031-P1 в разведении 1:200, Thermo Scientific, США), а воспаления – с лимфоцитарными маркерами CD4 (клон 4B12, RTU, Leica Biosystems, Германия), CD8 (клон 4B11, RTU, Leica Biosystems, Великобритания), CD138 (клон MI15,

RTU, Leica Biosystems, Германия), CD20 (L26 в разведении 1:100, Leica Biosystems, Германия).

Оценивали интенсивность реакции при 20-кратном увеличении в 10 полях зрения отдельно в строме эндометрия и в железистых клетках в теле матки и роге. Для Vcl-2, FAS, VEGF, ER, PR, Ki67 интенсивность реакции оценивали в баллах по шкале: 0 – отсутствие, 1+ – 0–25% клеток имеют позитивное окрашивание, 2+ – 25–75% и 3+ – более 75%. Для CD4, CD8, CD20, CD138 подсчитывали количество позитивных клеток на 1 мм<sup>2</sup> среза.

Статистическую обработку данных выполнили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США) после оценки нормальности распределения признака с помощью критерия Шапиро–Уилка или t-критерия Стьюдента. Для определения различий между экспериментальной и контрольной группами применяли непараметрический метод по U-критерию Манна–Уитни. Для сравнения относительных показателей в независимых выборках применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона с поправкой на непрерывность Йейтса. Поскольку распределение признаков в группе отличалось от нормального, данные статистики представлены в виде медианы и первого и последнего квартилей Me (Q1; Q3). При нормальном распределении признака данные представляли как среднее значение и среднеквадратическое отклонение (M $\pm$ SD).

## Результаты

Статистически значимое увеличение железисто-стромальных соотношений (рост железистого компо-

нента при  $p < 0,05$ ), увеличение высоты эпителиальных клеток в железах ( $p < 0,001$ ) и высоты просветных эпителиальных клеток ( $p < 0,05$ ) в роге матки в экспериментальной группе с моделируемой ГЭ без коррекции в сравнении с нормальным пролиферативным эндометрием верифицирует адекватность созданной модели ГЭ (табл. 1).

В аналитической части работы оценивали экспрессию рецепторов, регуляторных белков, маркеров дифференцировки лимфоцитов в доминантном правом роге матки (аналог тела матки женщины – место плацентации и вынашивания потомства у многоплодных животных) и теле матки (аналог шейки матки женщины – часть матки крысы, предназначенная для проникновения спермы и изгнания плодов). Результаты ИГХ анализа показали динамику исследованных маркеров (табл. 2).

Реакция на PR низкая во всех группах, лишь при коррекции гиперплазии индолом строма рога матки приобретает умеренно повышенную рецепторную активность. Наоборот, интенсивность реакции на рецепторы к эстрогену в роге матки достоверно снижается при моделировании ГЭ, а в теле матки крысы нет. Это можно объяснить эффективной активацией внутриклеточных систем ауторегуляции клеток-мишеней овариальных гормонов в зоне имплантации. Важно, что в группе с коррекцией мелоксикамом в аналоге шейки матки выявлено снижение числа эстрогеновых рецепторов.

Маркеры апоптоза неодинаково проявлены в тканях крыс разных групп. Интенсивность реакции к FAS в модели ГЭ высокая по сравнению с контролем во всех

Таблица 1 | Table 1

Морфометрические характеристики эпителия в рогах и теле матки крыс в норме и при моделировании гиперплазии | Morphometric characteristics of the epithelium in the horns and uterine bodies of rats in hyperplasia model and normal conditions

Измеряемый параметр   Measured parameter	Экспериментальная группа   Hyperplasia group (n=10)	Контрольная группа   Control group (n=5)
Строма в поле зрения, площадь, мкм <sup>2</sup>   Stroma in the field of view, $\mu\text{m}^2$	366610,9 $\pm$ 3185,1*	301641,6 $\pm$ 62059,3
Железы в поле зрения, площадь, мкм <sup>2</sup>   Glands in the field of view, $\mu\text{m}^2$	145159,3 $\pm$ 1761,2*	39645,39 $\pm$ 21442,7
Отношение площади, занимаемой железами, к площади, занимаемой стромой   Ratio of the area occupied by the glands to the area occupied by the stroma	0,39 $\pm$ 0,007*	0,14 $\pm$ 0,07
Высота просветных эпителиальных клеток, мкм   Luminal epithelial cell height, $\mu\text{m}$	42,3 $\pm$ 9,6*	21,4 $\pm$ 4,1
Высота эпителиальных клеток в железах, мкм   Height of epithelial cells in glands, $\mu\text{m}$	34,5 $\pm$ 13,4*	17,4 $\pm$ 3,2

\* статистически значимые отличия от контрольной группы; значимость отличий определяли с использованием t-критерия Стьюдента при вероятности ошибки  $p \leq 0,05$

\* statistically significant differences from the control group; the significance of differences was determined using Student's t-test with  $p \leq 0,05$

Таблица 2 | Table 2

**Интенсивность ИГХ реакции к рецепторам овариальных гормонов, маркерам пролиферации, апоптоза, фактора роста сосудов и клеток воспаления в матке крыс экспериментальной и контрольной групп | Intensity of IHC reaction to ovarian hormone receptors, proliferation markers, apoptosis, vascular growth factor, and inflammatory cells in the uterus of rats in the experimental and control groups**

Показатель   Indicator	Экспериментальная группа   Experimental group				Контрольная группа   Control group
	коррекция индолом   indole correction	коррекция полиоксидонием   polyoxidonium correction	коррекция мелоксикамом   meloxicam correction	ГЭ без коррекции   EH without correction	
PR рог жел.   PR corn gl	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)
PR рог стр.   PR corn str.	1,0 (1,0; 1,0)*#	0,0 (0,0; 1,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
PR тело жел.   PR corpus gl.	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)
PR тело стр.   PR corpus str.	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 рог жел.   ER corn gl.	3,0 (3,0; 3,0)#	3,0 (3,0; 3,0)	2,0 (2,0; 2,0)*	2,0 (2,0; 2,0)*	3,0 (3,0; 3,0)
ER рог стр.   ER corn str.	3,0 (3,0; 3,0)#	2,0 (2,0; 2,0)*	2,0 (2,0; 2,0)*	2,0 (2,0; 2,0)*	3,0 (3,0; 3,0)
ER тело жел.   ER corpus gl.	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	1,0 (1,0; 1,0)*#	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)
ER тело стр.   ER corpus str.	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	1,0 (1,0; 1,0)*#	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)
VEGF рог жел.   VEGF corn gl.	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 рог стр.   VEGF corn str.	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 тело жел.   VEGF corpus gl.	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 тело стр.   VEGF corpus str.	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)
FAS рог жел.   FAS corn gl.	3,0 (3,0; 3,0)*	3,0 (3,0; 3,0)*	1,0 (1,0; 1,0)#	3,0 (3,0; 3,0)*	0,0 (0,0; 0,0)
FAS рог стр.   FAS corn str.	3,0 (3,0; 3,0)*	3,0 (3,0; 3,0)*	0,0 (0,0; 0,0)#	3,0 (3,0; 3,0)*	0,0 (0,0; 0,0)
FAS тело жел.   FAS corpus gl.	3,0 (3,0; 3,0)*	3,0 (3,0; 3,0)*	0,0 (0,0; 0,0)#	3,0 (3,0; 3,0)*	0,0 (0,0; 0,0)
FAS тело стр.   FAS corpus str.	3,0 (3,0; 3,0)*	3,0 (3,0; 3,0)*	0,0 (0,0; 0,0)#	3,0 (3,0; 3,0)*	0,0 (0,0; 0,0)
Bcl2 рог жел.   Bcl2 corn gl.	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)
Bcl2 рог стр.   Bcl2 corn str.	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)
Bcl2 тело жел.   Bcl2 corpus gl.	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)
Bcl2 тело стр.   Bcl2 corpus str.	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 рог жел.   Ki-67 corn gl.	2,0 (2,0; 3,0)#	1,0 (1,0; 1,0)*	1,0 (1,0; 2,0)	0,0 (0,0; 1,0)*	2,0 (2,0; 2,0)
Ki-67 рог стр.   Ki-67 corn str.	1,0 (1,0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,0 (1,0; 2,0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)

Таблица 2 (окончание) | Table 2 (end)

Показатель   Indicator	Экспериментальная группа   Experimental group				Контрольная группа   Control group
	коррекция индолом   indole correction	коррекция полиоксидонием   polyoxidonium correction	коррекция мелоксикамом   meloxicam correction	ГЭ без коррекции   EH without correction	
Ki-67 тело жел.   Ki-67 corpus gl.	2,0 (2,0; 2,0)	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (1,0; 1,0)	0,0 (0,0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)
Ki-67 тело стр.   Ki-67 corpus str.	1,0 (1,0; 1,0)*	1,0 (1,0; 1,0)*	1,0 (1,0; 1,0)*	1,0 (1,0; 1,0)*	0,0 (0,0; 0,0)
CD138 рог   CD138 corn	3,0 (3,0; 4,0)	3,5 (3,0; 5,0)	5,0 (3,0; 6,0)#	1,5 (0,0; 3,0)*	6,0 (5,0; 8,0)
CD138 тело   CD138 corpus	0,0 (0,0; 0,0)*	0,0 (0,0; 1,0)*	4,0 (3,0; 5,0)#	0,0 (0,0; 0,0)*	4,5 (3,0; 6,0)
CD20 рог   CD20 corn	4,5 (3,0; 8,0)	6,5 (5,0; 8,0)	8,5 (5,0; 12,0)	5,0 (4,0; 6,0)	6,0 (4,0; 8,0)
CD20 тело   CD20 corpus	2,5 (2,0; 3,0)	0,0 (0,0; 1,0)*	8,0 (6,0; 10,0)#	2,0 (0,0; 3,0)	5,0 (4,0; 6,0)
CD4 рог   CD4 corn	6,5 (5,0; 7,0)	18,5 (12,0; 20,0)*#	13,5 (7,0; 30,0)#	4,0 (3,0; 9,0)	4,5 (4,0; 7,0)
CD4 тело   CD4 corpus	3,0 (2,0; 4,0)	5,5 (4,0; 8,0)#	5,5 (5,0; 8,0)#	2,0 (1,0; 3,0)	3,5 (2,0; 5,0)
CD8 рог   CD8 corn	6,0 (5,0; 6,0)	13,5 (9,0; 24,0)	8,5 (6,0; 19,0)	7,0 (5,0; 8,0)	6,0 (5,0; 8,0)
CD8 тело   CD8 corpus	1,5 (1,0; 2,0)*	6,0 (5,0; 6,0)#	15,5 (9,0; 18,0)#	2,0 (0,0; 3,0)*	5,0 (4,0; 6,0)

жел. – интенсивность реакции к рецепторам и регуляторным белкам в железах; стр. – в строме; для маркеров клеток воспаления активность определяли только в строме;

\* статистически значимые отличия от контрольной группы;

# – статистически значимые отличия от группы ГЭ без коррекции; значимость отличий определяли с использованием U-критерия Манна–Уитни при вероятности ошибки  $p \leq 0,05$

gl. – intensity of reaction to receptors and regulatory proteins in the glands; str. – expression in the stroma; for inflammatory cell markers, activity was determined only in the stroma;

\* statistically significant differences from the control group;

# – statistically significant differences from the EH group without correction. The significance of differences was determined using the Mann–Whitney U-test at  $p \leq 0,05$

Значения интенсивности реакции к маркерам PR, ER, VEGF, FAS, Bcl2 и Ki67 приведены в баллах, для маркеров CD138, CD20, CD4, CD8 – число клеток в поле зрения

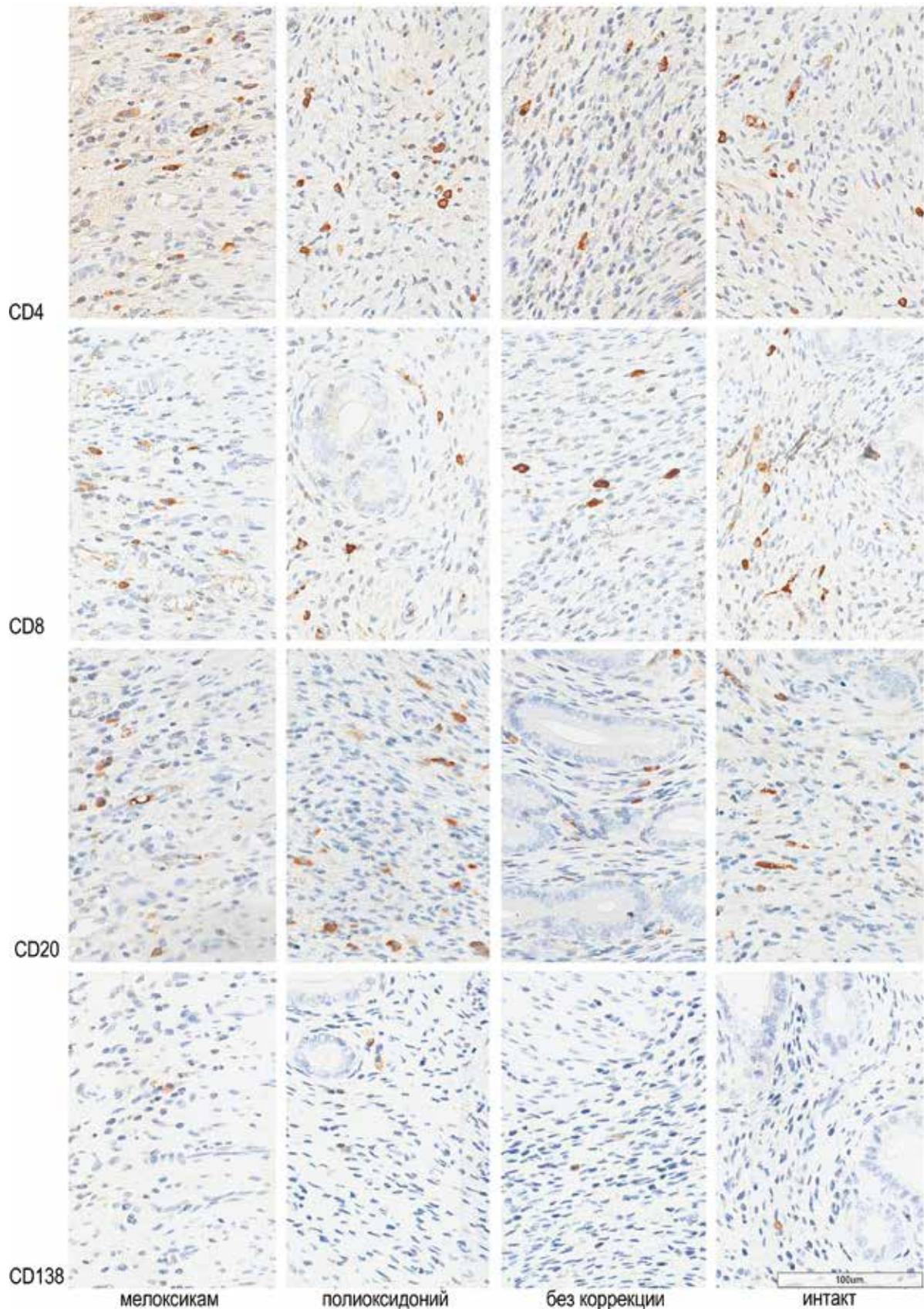
The intensity of reaction to markers PR, ER, VEGF, FAS, Bcl2, and Ki67 is given in points; for the markers CD138, CD20, CD4, and CD8 is provided the number of cells in the field of view

зонах. Группа с коррекцией мелоксикамом практически не отличается от контрольной группы и имеет также низкую экспрессию этого маркера, за исключением умеренного повышения в эпителии желез рога матки. Другие группы с терапевтической коррекцией значительно отличаются от группы коррекции мелоксикамом, показавшим свою эффективность по сравнению с полиоксидонием и индолом.

При гиперплазии повышается интенсивность реакции к маркеру Ki-67 в теле матки, при этом она не поддается коррекции выбранными нами препаратами: в эпителии желез количество клеток, готовых к пролиферации, больше варьирует среди подгрупп и не всегда статистически значимо. Этот показатель в железах приближается к аналогичным значениям крыс контрольной

группы и при коррекции индолом. Динамика экспрессии Ki-67 в железах не имеет закономерностей.

У крыс группы контроля лимфоциты с кластерами дифференцировки CD138, CD20, CD4 и CD8 представлены достаточно равномерно (рис.). При модели ГЭ CD138+ клетки в роге матки и CD8+ в теле встречаются редко. Все используемые нами препараты меняют соотношение клеточных популяций в эндометрии, приближая их к показателям крыс контрольной группы, однако мелоксикам более эффективен в отношении T-, B-клеток, плазмочитов и T-хелперов в роге и теле матки, а полиоксидоний преимущественно в роге. Использование всех препаратов смещает соотношение CD4+/CD8+ лимфоцитов в сторону T-хелперов.



*Рис.* Интенсивность ИГХ реакции на маркеры воспаления в роге матки экспериментальной и контрольной групп. Иммуногистохимическое окрашивание, система детекции Bond Plimer Refine Detection System,  $\times 400$

*Fig.* Intensity of IHC reaction to inflammatory markers in the uterine horn of the experimental and control groups. Immunohistochemical staining, detection system Bond Polymer Refine Detection System,  $\times 400$

## Обсуждение

Важно отметить, что эпителий тела матки крысы по аналогии с шейкой матки женщины по сравнению с зонами вынашивания плода не только является пролиферативно, метапластически и трансформационно более опасной зоной, но и больше подвержен инфицированию вследствие контакта через влагалище с внешней средой. В связи с этим максимальный эффект мелоксикама в данной зоне представляет терапевтический интерес в качестве противовоспалительного препарата, опосредованно (через простагландины и цитокины) снижающего чувствительность клеток к избытку эстрогенов. Динамика лимфоцитов различных популяций в эндометрии не противоречит базовым понятиям патофизиологии воспаления, поскольку мы работаем с моделью не воспаления, а гиперплазии и эндокринной дисрегуляции, где изменения воспалительных маркеров носят характер вторичных, а ингибиторы циклооксигеназы-2 нормализуют гистофизиологию матки опосредованно. При этом присутствие иммунокомпетентных клеток в умеренном количестве является базой иммунного гомеостаза, о чем свидетельствуют результаты измерений в тканях крыс контрольной группы. Описанные разными авторами общие патологические закономерности ГЭ требуют дальнейшего изучения, однако все они созвучны теории Д. Ханахана и Р. Вайнберга, выделяющей ряд признаков трансформации клеток [18].

## Заключение

При гиперплазии эндометрия компенсаторно снижаются количество рецепторов эстрогена, активность пролиферации в железах и число В-лимфоцитов, но резко активируется апоптоз. При этом индол оказывает антиэстрогенный эффект за счет роста чувствительности к прогестерону и приближает экспрессию маркера пролиферации в железах к значениям контрольной группы, а мелоксикам – к норме число рецепторов апоптоза, маркеров пролиферации и инфльтрации иммунными клетками. В эффекте мелоксикама обращает на себя внимание то, что он нормализует все показатели рога матки, за исключением экспрессии рецепторов эстрогенов, на которую он влияет лишь в теле матки крыс. В наиболее опасной в плане пролиферации и метаплазии зоне изгнания плода (аналог шейки матки женщины) динамика иная: на модели гиперплазии эндометрия увеличивается активность рецепторов апоптоза и пролиферации и снижается число Т- и В-лимфоцитов, при этом мелоксикам оказывает выраженное антиэстрогенное действие, нормализует показатели числа иммунокомпетентных клеток и, как и в других участках матки, нормализует кинетику клеточных популяций, что проявляется нормализацией экспрессии маркера апоптоза, а индол и полиоксидоний не оказывают такого эффекта.

Выявленные закономерности взаимосвязанных гиперпластических и иммунных изменений эндометрия

представляют интерес для продолжения исследования их как диагностических критериев и патогенетической коррекции в практической медицине.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.В. Кубышкин.  
Сбор и обработка материала – Н.И. Волоцкая, Н.С. Прасолов, И.Г. Подгорный, Т.П. Макалиш, М.А. Кальфа.  
Написание текста – Н.И. Волоцкая, Е.Ю. Зяблицкая.  
Редактирование – Е.П. Коваленко.

## Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – A.V. Kubyshekin.  
Collected the data and performed the analysis – N.I. Volotskaya, N.S. Prasolov, I.G. Podgorny, T.P. Makalish, M.A. Kalfa.  
Wrote the paper – N.I. Volotskaya, E.Yu. Zyablitskaya.  
Edited the manuscript – E.P. Kovalenko.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## 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. Lortet-Tieulent J, Ferlay J, Bray F, Jemal A. International patterns and trends in endometrial cancer incidence, 1978–2013. *J Natl Cancer Inst.* 2018;110(4):354–61. DOI: 10.1093/jnci/djx214.
3. Волоцкая Н.И., Сулима А.Н., Румянцева З.С. Менопауза: современные стандарты диагностики и коррекции нарушений. *Врач.* 2021;32(3):66–72. DOI: 10.29296/25877305-2021-03-12.  
Volotskaya NI, Sulima AN, Rumyantseva ZS. Menopause: modern standards of diagnosis and correction of disorders. *Vrach = The Doctor.* 2021;32(3):66–72 (In Russ.). DOI: 10.29296/25877305-2021-03-12.
4. Карапетыан О.В., Фомочкина И.И., Зяблицкая Е.Ю., Кубышкин В.А., Коваленко Е.П., Коробова П.Г. и др. Состояние локальных маркеров воспаления и апоптоза в эндометрии при гиперплазиях различной степени тяжести. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2020;15(3):342–347. DOI: 10.14300/mnnc.2020.15081.  
Karapetyan OV, Fomochkina II, Zyablitskaya EYu, Kubyshekin VA, Kovalenko EP, Korobova PG et al. The state of local markers of inflammation and apoptosis in endometrium in hyperplasia of various degrees of severity. *Medical News of North Caucasus.* 2020;15(3):342–347 (In Russ.). DOI: 10.14300/mnnc.2020.15081.
5. Траль Т.Г., Толибова Г.Х., Коган И.Ю. Имплантационная несостоятельность эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения у пациенток с хроническим эндометритом. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2023;12(1):24–33. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.24-33.  
Tral TG, Tolibova GK, Kogan IYu. Endometrial implantation failure in cycles of *in vitro* fertilization in patients with chronic endometritis. *Clinical and experimental morphology.* 2023;12(1):24–33 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.24-33.

6. *Оразов М.Р., Михалева Л.М., Семенов П.А.* Хронический эндометрит: патогенез, диагностика, лечение и его связь с бесплодием. Клиническая и экспериментальная морфология. 2020;9(2):16–25. DOI: 10.31088/CEM2020.9.2.16-25.  
*Orazov MR, Mikhaleva LM, Semenov PA.* Chronic endometritis: pathogenesis, diagnosis, management and associated infertility. Clinical and experimental morphology. 2020;9(2):16–25 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2020.9.2.16-25.
7. *Singh S, Pavuluri S, Lakshmi BJ, Biswa BB, Venkatachalam B, Tripura C et al.* 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.
8. *Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Артымук Н.В., Башмакова Н.В., Беженарь В.Ф., Белокриницкая Т.Е. и др.* Гиперплазия эндометрия. Клинические рекомендации. Москва, 2021. 45 с. Доступно по адресу: <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-giperplazija-endometrija-utv-minzdravom-rossii> (получено 19.12.2022).  
*Adamyan LV, Andreeva EN, Artyumuk NV, Bashmakova NV, Bezhenar VF, Belokrinitskaya TE et al.* Endometrial hyperplasia. Clinical recommendations. Moscow, 2021. 45 p. (In Russ.). Available from: <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-giperplazija-endometrija-utv-minzdravom-rossii> (accessed 19.12.2022).
9. *Morsy MA, Abdelraheem WM, El-Hussieny M, Refaie MMM.* Protective effects of irbesartan an angiotensin receptor blocker with PPAR $\gamma$  agonistic activity, against estradiol benzoate-induced endometrial hyperplasia and atypia in female rats via modulation of TNF $\alpha$ /Survivin pathway. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021;14(7):649. DOI: 10.3390/ph14070649.
10. *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.
11. *Terzic M, Aimagambetova G, Kunz J, Bapayeva G, Aitbayeva B, Terzic S et al.* Molecular basis of endometriosis and endometrial cancer: current knowledge and future perspectives. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9274. DOI: 10.3390/ijms22179274.
12. *Габидуллина Р.И., Смирнова Г.А., Нухбала Ф.Р., Валева Е.В., Орлова Ю.И., Шакиров А.А.* Гиперпластические процессы эндометрия: современная тактика ведения пациенток. Гинекология. 2019;21(6):53–58. DOI: 10.26442/20795696.2019.6.190472.  
*Gabidullina RI, Smirnova GA, Nuhbala FR, Valeeva EV, Orlova YuI, Shakirov AA.* Hyperplastic processes of the endometrium: modern tactics of patient management. *Gynecology.* 2019;21(6):53–58 (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. *Doherty MT, Sanni OB, Coleman HG, Cardwell CR, McCluggage WG, Quinn D et al.* Concurrent and future risk of endometrial cancer in women with endometrial hyperplasia: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2020;15(4):e0232231. DOI: 10.1371/journal.pone.0232231.
15. Royal College of Obstetrician and Gynecologists. Management of Endometrial Hyperplasia. GreenTop Guideline No. 67. RCOG/BSGE Joint Guideline – February 2016. Available from: [https://www.rcog.org.uk/media/knmjbj5c/gtg\\_67\\_endometrial\\_hyperplasia.pdf](https://www.rcog.org.uk/media/knmjbj5c/gtg_67_endometrial_hyperplasia.pdf) (accessed 19.12.2022).
16. *Болтовская М.Н., Табеева Г.И., Тихонова Н.Б., Александина В.В., Асатурова А.В., Вишнякова П.А. и др.* Разработка экспериментальной модели патологии эндометрия (синдрома Ашермана). Клиническая и экспериментальная морфология. 2023;12(1):77–86. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.77-86.  
*Boltovskaya MN, Tabeeva GI, Tikhonova NB, Aleksankina VV, Asaturova AV, Vishnyakova PA et al.* Development of an experimental model of endometrial pathology (Asherman syndrome). Clinical and experimental morphology. 2023;12(1):77–86 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.77-86.
17. *Кумар Г.Л., Рудбек Л.* Иммуногистохимические методы: Руководство. Пер. с англ. / Под ред. Г.А. Франка, П.Г. Малькова. Москва, 2011. 224 с.  
*Kumar GL, Rudbeck L.* Immunohistochemical methods: A guide. Transl. from Eng. / Ed. by GA Frank, PG Malkov. Moscow, 2011. 224 p. (In Russ.).
18. *Hanahan D.* Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer Discov.* 2022;12(1):31–46. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.

### Информация об авторах

Надежда Игоревна Волощак – младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского.

Татьяна Павловна Макалиш – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского.

Георгий Игоревич Подгорный – врач акушер-гинеколог городской больницы № 6 Ростова-на-Дону.

Маргарита Алексеевна Кальфа – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского.

Никита Сергеевич Прасолов – лаборант-исследователь центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского.

Анатолий Владимирович Кубышкин – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии Медицинского института имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского.

Евгения Павловна Коваленко – кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии Медицинского института имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского.

Евгения Юрьевна Зяблицкая – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского.

**Author information**

Nadezhda I. Volotskaya – Junior Researcher, Central Research Laboratory, Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

<https://orcid.org/0000-0003-2304-659X>

Tatyana P. Makalish – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Central Research Laboratory, Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

<https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

Georgy I. Podgorny – Obstetrician-Gynecologist, Rostov-on-Don City Hospital No. 6.

<https://orcid.org/0000-0003-0004-572X>

Margarita A. Kalfa – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Central Research Laboratory, Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

<https://orcid.org/0000-0002-7179-3402>

Nikita S. Prasolov – Laboratory Research Assistant, Central Research Laboratory, Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

<https://orcid.org/0000-0002-6436-8125>

Anatoly V. Kubyshkin – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of General and Clinical Pathophysiology, Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

<https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>

Evgenia P. Kovalenko – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

<https://orcid.org/0000-0002-8899-0031>

Evgenia Yu. Zyablitskaya – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Central Research Laboratory, Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.

<https://orcid.org/0000-0002-1339-9773>