doi: 10.17116/repro201723143-47

Генетические факторы риска формирования внутриматочных синехий (обзор литературы)

Асп. П.М. ХИРИЕВА, д.м.н., в.н.с. С.А. МАРТЫНОВ, к.б.н., в.н.с. А.А. БЫСТРИЦКИЙ, д.м.н., проф., акад. РАН Л.В. АДАМЯН

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

Обобщены результаты исследований, посвященных изучению патогенетических механизмов развития внутриматочных синехий. Особое внимание уделено генетическим и паракринным механизмам регуляции репаративного процесса.

Ключевые слова: внутриматочные синехии, фиброз эндометрия, трансформирующий фактор роста, сигнальный путь, микроРНК, мРНК.

Intrauterine adhesions: genetic risk factors (a review)

P.M. KHIRIEVA, S.A. MARTYNOV, A.A. BYSTRITSKIY, L.V. ADAMYAN

Academician V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia

The article presents a review of recent studies on pathogenetic mechanisms of intrauterine adhesions. Genetic, epigenetic and paracrine mechanisms of reparative process regulation are discussed.

Keywords: intrauterine adhesions, endometrial fibrosis, transforming growth factor, signaling pathway, microRNA, mRNA.

Повышение качества медицинского обслуживания в настоящее время требует развития таких направлений, как превентивность, предиктивность и персонифицированный подход, поэтому важны разработка и внедрение научно доказанных и обоснованных методов диагностики, лечения и профилактики с учетом индивидуальных особенностей пациента. На современном этапе развития медицины точная верификация диагноза требует от врача использования инвазивных процедур и связана с определенными трудностями. В связи с этим необходима разработка неинвазивных биомолекулярных маркеров, позволяющих с высокой достоверностью судить о наличии патологического процесса.

Известно, что уровень экспрессии генов определяется генетическими особенностями организма человека. Наличие полиморфных генов, которые представлены в популяции несколькими аллелями, формирует разнообразие признаков внутри вида. Генетические факторы и особенности фенотипического их проявления могут играть ключевую роль в патогенезе заболевания, поэтому внедрение в практику в конце XX века метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени значительно улучшило лабораторную диагностику. Возможность применения метода с обратной транскриптазной ПЦР при воспалительных заболеваниях нижних отделов половых путей продемонстрирована в нескольких работах. F. Goffinet и соавт. [1] установили, что определение мРНК гена IL-6 в вагинальных мазках ассоциировано с инфекционным процессом, преждевременными родами и неонатальной инфекцией. M. Zariffard и соавт. [2] продемонстрировали, что стимуляция мононуклеарных клеток крови компонентами цервиковагинальных смывов женщин с БВ приводит к повышению уровня экспрессии мРНК генов *TNF, TLR2, TLR4.*

В работе О.В. Бурменской [3] было установлено, что при хроническом эндометрите повышена экспрессия мРНК генов провоспалительных цитокинов IL-1B, IL-6, IL-8, IL-12A, TNF, иммуносупрессорных цитокинов IL-10 и TGF-β_1, транскрипционного фактора Foxp3, толл-подобных рецепторов TLR2 и TLR9, а также LIF, VEGFA и IL-2Ra; а для IL-2 характерна даже тенденция к снижению, что позволило расширить представление о патогенезе хронического эндометрита как следствия не только воздействия инфекционного фактора, но и нарушения иммунных механизмов поддержания гомеостаза тканей эндометрия. Кроме того, выделение образцов с выраженными процессами фиброза стромы эндометрия на основании полученных данных позволило

© Коллектив авторов, 2017

e-mail: dr.khirieva@rambler.ru

определить оптимальные схемы терапии заболевания. Анализ вышеописанных работ и полученные результаты позволили предположить наличие специфических молекулярно-генетических изменений и при другой внутриматочной патологии. Одним из таких патологических процесов являются внутриматочные синехии. Это заболевание поражает 16—24% женщин и характеризуется полной или частичной облитерацией полости матки фиброзной тканью [4, 5]. Первый случай внутриматочных синехий у женщины, страдающей аменореей, обусловленной выскабливанием матки в послеродовом периоде был опубликован в 1894 г. Г. Фритцем. Спустя 54 года Ж. Ашерман [6, 7] впервые указал на частоту патологического состояния и описал симптомы аменореи, бесплодия и дисменореи у данной группы пациенток. Впоследствии термин «синдром Ашермана» стал использоваться для обозначения тяжелой степени облитерации полости матки у женщин со стойкой аменореей и бесплодием.

В результате проведенных многочисленных исследований было установлено, что одним из основных этиологических факторов образования внутриматочных синехий является травма эндометрия. К примеру, исследование 1856 случаев внутриматочных синехий, проведенное J. Schenker и E. Margalioth [8] в 1982 г. выявило, что в 88,2% случаев синехии образуются в результате выскабливания, произведенного в сроки 1—4 нед после родов или аборта. Именно в этих случаях эндометрий является наиболее чувствительным к травматическим воздействиям, которые приводят к повреждению его базального слоя и формированию спаек в последующем. Факторами риска развития внутриматочных синехий являются расширение и кюретаж в 52,4% случаев, вакуумная аспирация в 20,6%, миомэктомия в 17,5% и кесарево сечение в 9,5% случаев [9]. Кроме того, A. Goojha и соавт. [10] описали случай развития синдрома Ашермана после наложения компрессионного шва по технике B-Lynch для остановки атонического послеродового кровотечения.

Дискутабельной остается роль инфекционного фактора в развитии внутриматочных синехий. Так, в работе W. Polishuk и соавт. [6, 11] анализ 171 случая кесарева сечения показал, что у 28 женщин с хроническим эндометритом частота развития внутриматочных синехий не повышалась по сравнению с контрольной группой. Но несмотря на эти данные, многие авторы отводят не последнюю роль в инициации патогенеза внутриматочных синехий воспалительному компоненту. Так, установлено, что формирование тяжелой степени внутриматочных синехий у женщин в развивающихся странах с повсеместным распространением бесплодия обусловлено наличием генитального туберкулеза.

В основе патогенеза образования спаек в полости матки лежит гиперактивный репаративный спаечный процесс с формированием соединительной ткани в полости матки. Известно, что формирование внутриматочных синехий обусловлено гипоксией, снижением процессов неоваскуляризации и изменением экспрессии цитокинов, однако точные механизмы недостаточно изучены. В процессе восстановления эндометрия избыточное образование внеклеточного матрикса и усиление пролиферативной активности фибробластов приводят к формированию фиброзных спаек, что подтверждает ведущую роль фибробластов в развитии внутриматочных синехий [12].

Исследования последних лет [13, 14] сообщают о взаимосвязи образования фиброзной ткани с ненормальной экспрессией некоторых цитокинов. Так, трансформирующий фактор роста бета (TGF-β) — белковая структура, которая контролирует клеточную пролиферацию и дифференцировку, считается центральным медиатором фиброзного ответа, являясь цитокином, индуцирующим синтез фибробластов и сокращение экстрацеллюлярного матрикса. В работе D. Horbelt и соавт. [15—18] сообщается о связи TGF-β с фиброзом печени; множество работ посвящено изучению процессов фиброза в почках и легких. Источником TGF-β являются тромбоциты: изоформа высвобождается при дегрануляции тромбоцитов в месте травмы. Секреция его происходит как части неактивного трехстороннего комплекса, состоящего из монодимера TGF-β с пропептидом LAP и молекулы латентного TGF-связывающего белка. После транспортировки комплекса в экстрацеллюлярный матрикс он взаимодействует с коллагеном, фибронектином и другими компонентами матрикса. В то же время TGF-β является регулятором роста эндометрия человека: клеточные реакции, индуцируемые трансформирующим фактором роста, опосредуются через активацию рецепторов серин/треонинкиназы от поверхности клетки к ядру. Известно, что измененная экспрессия комплекса TGF-β в эндометрии человека связана с генетическими аномалиями [19—21]. При изучении регуляции экспрессии генов посредством TGF-β_1 через каскад SMAD3-регулятора, задействованных во многих патологических процессах эндометрия [23, 24], на модели фибробластов дермы человека. F. Verrecchia и соавт. [22] выявили в качестве мишеней этого пути ряд генов коллагенов.

Основываясь на предположении о существенной роли TGF-β_1/SMAD3 сигнального пути в формировании внутриматочных синехий, U. Salma и соавт. [25] создали экспериментальную модель на кроликах и обследовали 60 пациенток для понимания молекулярных механизмов и подбора возможного альтернативного метода лечения и профилактики. Авторы отмечают значительное повышение экспрессии в плазме крови TGF-β_1 у обследуемой группы по сравнению с группой контроля (p<0,05). Кроме того, от-

мечено повышение уровня mPHK и SMAD3, тогда как уровень SMAD7 заметно снизился у пациенток с внутриматочными синехиями и у экспериментальных кроликов по сравнению с контрольной группой (p<0,05).

Это измененное соотношение показателей уровня SMAD3, SMAD7, TGF-β_1 при внутриматочных синехиях положительно коррелировало как в плазме крови, так и в ткани эндометрия. Использование специфического ингибитора SIS3 на модели кроликов заметно снизило уровень мРНК SMAD3 и TGF-β_1, в то время как повысило значение SMAD7 в пролеченных группах.

Определенный интерес представляет собой фактор роста соединительной ткани (CTGF/CCN2) — белок, найденный в экстрацеллюлярном матриксе (ВКМ). Он является модификатором сигнального ответа на ВКМ и цитокины, играет ключевую роль в адгезии и миграции клеток, а также в матрице ремоделирования, избыточная экспрессия которого наблюдалась при заживлении ран, а также при фиброзных заболеваниях кожи, почек, печени и поджелудочной железы [26, 27].

Сигнальный путь NF-kB играет важную роль во многих биологических процессах, включающих врожденный иммунитет, воспаление печени, фиброз и предотвращение апоптоза [28]. Провоспалительные цитокины, интерлейкин-1β (IL-1β) могут индуцировать экспрессию TGF-β в эпителиальных клетках легких через активацию пути NF-kB, содействие транслокации p65 в ядро и связывание с TGF-β [29]. Эти данные свидетельствуют о корреляции между NF-kB сигнальным путем и экспрессией TGF-β при фиброгенезе.

В работе X. Xue и соавт. [30] изучена функциональная роль NF-kB сигнального пути при внутриматочных синехиях. Имунногистохимическое исследование, вестерн-блоттинг и ПЦР в режиме реального времени позволили обнаружить повышение экспрессии TGF-β и CCN2 в ткани эндометрия женщин с внутриматочными синехиями по сравнению с группой контроля и у женщин с внутриматочной перегородкой (p<0,01). Кроме того, отмечена активация сигнального пути NF-kB, что коррелировало с повышением уровня вышеописанных цитокинов. Блокирование NF-kB сигнального пути привело к снижению экспрессии TGF-β, что подтвердило полученные данные. Дополнительно обнаружено, что частота рецидивов внутриматочных синехий имеет дозозависимую взаимосвязь с экспрессией TGF-β и CCN2, что может служить потенциальным предиктором рецидивирования данной патологии.

Одним из важных регуляторов широкого спектра биологических процессов являются микроРНК. Они способны подавлять трансляцию или вызывать распад целевых мРНК. В частности, микроРНК являются важными медиаторами процессов фиброза во многих органах [31]. Так, ранее было установлено снижение экспрессии микроРНК29 при одновременном увеличении экспрессии TGF-β_1 при внутриматочных синехиях с разной степенью клинической тяжести. Учитывая полученные данные, в работе Li Jingxiong и соавт. [32] описан терапевтический эффект блокирования действия микроРНК-29b на крысиной модели внутриматочных синехий относительно регуляции синтеза коллагена и фиброзных изменений, достигнутый с помощью соединения, имитирующего микроРНК-29b. Авторы обнаружили, что фиброз эндометрия у крыс характеризуется повышенной экспрессией COL1A1 и α-актина, а также выраженным снижением экспрессии Е-кадгерина, связанным с уменьшением уровня MIR-29b. Выраженная экспрессия MIR-29b до травмы предотвращает фиброз эндометрия за счет накопления коллагена и повышения эпителиально-мезенхимального соотношения. Исследования показали, что микроРНК-29b подавляет фиброз эндометрия через блокаду пути Sp1-TGF-β_1/SMAD-CTGF, что подтверждает использование agoMIR-29b в качестве эффективного терапевтического средства при внутриматочных синехиях.

В работе Liu Xin и соавт. [33] дифференцированный анализ экспрессии микроРНК и мРНК в эндометрии у женщин с тяжелой степенью внутриматочных синехий в сравнении с нормальным эндометрием выявил, что 26 микроРНК и 1180 мРНК значительно различались по уровню экспрессии в обеих группах. Из них 16 микроРНК и 54 мРНК перекрывались с генами, предположительно являющимися мишенями регуляции микроРНК и предсказанными генами-мишенями. ПЦР в режиме реального времени выявила положительную регуляцию MIR-513A-5p и MIR-135a-p и деактивацию MIR-543 и их соответствующих генов-мишеней, а также угнетение регуляции ADAM9 и лизилоксидазы и повышение регуляции CDH2 (N-кадгерина) и COL16A1 (коллаген 16A1).

При некоторых фиброзных заболеваниях антифиброгенный эффект дает ретиноевая кислота полностью-трансретиноевая кислота (ПТРК). Это соединение представляет собой биологически активное производное витамина А, регулирующее клеточную дифференцировку, пролиферацию и апоптоз [34]. В работе X. Song и соавт. [35] обнаружено, что ПТРК блокирует TGF-β_1 сигнальный путь, предотвращая развитие фиброза легких на экспериментальной модели крыс. Основываясь на этих данных, Hai-Yan Hu и соавт. [36] провели оценку эффекта ATRA при внутриматочных синехиях. Лечение ATRA уменьшило фиброз эндометрия и улучшило регенерацию эндометрия, что проявилось снижением экспрессии TGF-β_1, SMAD4, COL1A1 и COL1A2 и мРНК TGF-β_1, SMAD4, белков COLI.

В исследовании D. Liu и соавт. [37] установлено, что в развитии внутриматочных синехий принимают

участие белки Adam-15 и Adam-17. Семейство ADAM включает трансмембранные и секретируемые дезинтегрины и металлопротеиназы размером около 750 аминокислот с функциями клеточной адгезии и протеолитической обработки эктодоменов разнообразных рецепторов клеточной поверхности и сигнальных молекул, причем экспрессия их выше при 3-й степени тяжести внутриматочных синехий.

Таким образом, большое количество экспериментальных исследований относительно молекулярных механизмов развития и прогрессирования внутриматочных синехий диктует необходимость дальнейших исследований для более глубокого представления о клинических исходах и вариантах лечения. Новые данные о молекулярно-генетических механизмах развития данного заболевания сделают возможным разработку профилактических мер, предупреждающих рецидив, который достигает в тяжелых случаях 62,5% и значительно ухудшает прогноз. Определение генотипического профиля позволит выбрать прицельную терапию, основанную на блокировании генов-мишеней, что станет предпосылкой для выявления группы женщин высокого риска развития данной нозологии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Goffinet F, Kayem G, Maillard F, Trebeden H, Cabrol D, Weill B, Batteux F. Detection of interleukin 6 mRNA by RT-PCR in vaginal secretions: association with preterm delivery and neonatal infection in women with preterm labour and intact membranes. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*.2005;123:2:167-173.
2. Zariffard MR, Novak RM, Lurain N, Sha BE, Graham P, Spear GT. Induction of tumor necrosis factor- alpha secretion and toll-like receptor 2 and 4 mRNA expression by genital mucosal fluids from women with bacterial vaginosis. *The Journal of infectious diseases*. 2005;191:11:1913-1921.
3. Гомболевская Н.А., Бурменская О.В., Демура Т.А., Марченко Л.А., Коган Е.А., Трофимов Д.Ю., Сухих Г.Т. Оценка экспрессии мРНК генов цитокинов в эндометрии при хроническом эндометрите. *Акушерство и гинекология*. 2013;11:35-40.
4. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Мынбаев Н.А. *Послеоперационные спайки (этиология, патогенез и профилактика)*. М.: Медицина. 1998;521.
5. Yu D, Wong YM, Cheong Y, Xia E, Li TC. Asherman syndrome-one century later. *Fertil Steril*. 2008;89:759-779.
6. March CM. Management of Asherman syndrome. *Reprod Biomed Online*. 2011;23:63-76.
7. Panayotidis C, Weyers S, Bosteels J, van Herendael B. Intrauterine adhesions (IUA): has there been progress in understanding and treatment over the last 20 years? *Gynecol Surg*. 2009;6:197-211.
8. Schenker JG, Margalioth EJ. Intrauterine adhesions: an updated appraisal. *Fertil Steril*. 1982;37:593-610.
9. Adesiyun AG, Zayyan MS, Eka A, Williams IO, Ojabo A. Clinical and investigative correlates of etiologic risk factors on treatment outcome of intrauterine adhesion in women with infertility: a descriptive study. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2014;4: 95-99.
10. Goojha CA, Case A, Pierson R. Development of Asherman syndrome after conservative surgical management of intractable postpartum hemorrhage. *Fertility and Sterility*. 2010 August;94:3.
11. Polishuk WZ, Anteby SO, Weinstein D. Puerperal endometritis and intrauterine adhesions. *Int Surg*. 1975;60:418-420.
12. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Frontiers in bioscience. *Journal and virtual library*. 2004;9(1):283-289.
13. Tao Z, Duan H. Expression of adhesion-related cytokines in the uterine fluid after transcervical resection of adhesion. *Zhonghua fu chan ke za zhi*. 2012;47(10):734-737.

    Epub 2013/01/11. PMID:23302729
14. Park J-O, Lee BH, Kang Y-M, Kim T-H, Yoon JY, Kim H, et al. Inflammatory cytokines induce fibrosis and ossification of human ligamentum flavum cells. *Journal of spinal disorders & techniques*. 2013;26(1):E6-E12.
15. Horbelt D, Denkis A, Knaus P. A portrait of Transforming Growth Factor beta superfamily signaling: Background matters. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2012;44(3):469-474.
16. Roberts AB, Sporn MB. Transforming growth factor-β. *Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. Berlin (Germany): Springer. 1996;275-308.
17. Nakamura T, Sakata R, Ueno T, Sata M, Ueno H. Inhibition of transforming growth factor b prevents progression of liver fibrosis and enhances hepatocyte regeneration in dimethylnitrosamine — treated rates. *Hepatology*. 2000;32:2:247-255.
18. Kopp JB, Factor VM, Mozes M, et al. Transgenic mice with increased plasma levels of TGF-β develop progressive renal disease. *Laboratory Investigation*. 1996;74:6:991-1003.
19. Annes JP, Munger JS, Rifkin DB. Making sense of latent TGFb activation. *Journal of Cell Science*. 2003;116:2:217-224.
20. Heydemann A, Ceco E, Lim JE, et al. Latent TGF-β-binding protein 4 mofies muscular dystrophy in mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 2009;119:12:3703-3712.
21. Lawrence DA. Transforming Growth Factor-β: a general review. *European Cytokine Network*. 1996;7:3:363-374.
22. Verrecchia F, Chu M-L, Mauviel A. Identification of novel TGFβ/AMAD gene targets in dermal fibroblasts using a combined cDNA microarray/promoter transactivation approach. *The Journal of Biological Chemistry*. 2001;276:20:17058-17062.
23. Massaguer J, Wotton D. Transcriptional control by the TGF-b/Smad signaling system. *The EMBO Journal*. 2000;19:8:1745-1754.
24. Moustakas A, Souchelnytskyi S, Heldin C-H. SMAD regulation in TGF-β signal transduction. *Journal of Cell Science*. 2001;114:24: 4359-4369.
25. Salma U, Xue M, Sheikh SA, Xiaoming G, Xu B, Zhang A, Huang L, Xu D. Role of Transforming Growth Factor-β_1 and Smads Signaling Pathway in Intrauterine Adhesion. *Mediators of Inflammation*. Volume 2016, Article ID 4158287, 13 pages.
26. Shi-Wen X, Leask A, Abraham D. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis. *Cytokine & growth factor reviews*. 2008;19(2):133-144. Epub2008/03/25
27. Van Beek JP, Kennedy L, Rockel JS, Bernier SM, Leask A. The induction of CCN2 by TGFβ_1 involves Ets-1. *Arthritis research & therapy*. 2006;8(2):R36. Epub 2006/02/14

28. Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes & development*. 2004;18:2195-2224.

doi: 10.1101/gad.1228704

PMID: 15371334

29. Lee KY, Ito K, Hayashi R, Jazrawi EP, Barnes PJ, Adcock IM. NF-kappaB and activator protein1 response elements and the role of histone modifications in IL-1beta-induced TGF-β_1 gene transcription. *Journal of immunology (Baltimore, Md: 1950)*. 2006;176(1):603-15. Epub 2005/12/21.

PMID:16365456

30. Xue X, Chen Q, Zhao G, Zhao J-Y, Duan Z, Zheng P-S/ The Overexpression of TGF-β and CCN2 in Intrauterine Adhesions Involves the NF-ϰB Signaling Pathway. *PLoS ONE*. 2015;10(12): e0146159.

doi:10.1371/journal.pone.0146159

31. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004;116(2):281-297.

32. Jingxiong Li, Shaohua Du, Xiujie Sheng, Juan Liu, Bohong Cen, Feng Huang, Yuanli He. MicroRNA-29b Inhibits Endometrial Fibrosis by Regulating the Sp1-TGF-β_1/SMAD-CTGFAxis in a Rat Model. *Reproductive Sciences*. 2015 1-9[a].

33. Xin Liu, Hua Duan, Heng-Hui Zhang, Lu Gan, Qian Xu: Integrated Data Set of microRNAs and mRNAs Involved in Severe Intrauterine Adhesion. *Reproductive Sciences*. 2016;23(10):1340-1347.

34. Zhang C, Kong X, Ning G, Liang Z, Qu T, Chen F, Cao D, Wang T, Sharma HS, Feng S. All-trans retinoic acid prevents epidural fibrosis through NF-ϰB signaling pathway in post-laminectomy rats. *Neuropharmacology*. 2014;79:275-281.

35. Song X, Liu W, Xie S, Wang M, Cao G, Mao C, Lv C. All-transretinoic acid ameliorates bleomycin-induced lung fibrosis by downregulating the TGF-β_1/SM AD3 signaling pathway in rats. *Lab Invest*. 2013;93:1219-1231.

36. Hai-Yan Hu, Hui-Juan Li, Yuan-Li He, Xian Wang. ATRA alleviated endometrial fibrosis in a rabbit intrauterine adhesions model through downregulation of the TGF-β_1/SMAD4 signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol*. 2016;9(6):6171-6178.

37. Liu D, Chunfang H, Xueyu Zhang, Zhining Zhang, Peishu Liu. Molecular implication of ADAM-15 and 17 in intrauterine adhesions. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2013;170:264-269.