

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА БЕТА И ЕГО РЕЦЕПТОРА ПРИ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ ЭНДОМЕТРИЯ В СОЧЕТАНИИ С ЛЕЙОМИОМОЙ МАТКИ И АДЕНОМИОЗОМ

^{1,2}Асатурова А.В., ¹Саркисян Р.М., ¹Гаврилова Т.Ю., ¹Бадлаева А.С., ¹Трегубова А.В.,
²Рогожин Д.В., ^{1,3}Адамян Л.В.

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: aasaturova@gmail.com;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва, e-mail: d.rogozhin@ronc.ru;

³ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, Москва

Цель исследования: изучить особенности экспрессии трансформирующего фактора роста бета и его рецептора первого типа при гиперпластических процессах эндометрия в сочетании с лейомиомой матки и аденомиозом, а также определить их взаимосвязь с патогенезом данных заболеваний. В исследовании приняли участие 90 пациенток репродуктивного возраста с различными формами гиперпластических процессов эндометрия, включая сочетание с лейомиомой и аденомиозом. Для анализа были использованы гистологические и иммуногистохимические методы. Экспрессию трансформирующего фактора роста бета и его рецептора оценивали полуколичественным методом с расчетом показателя иммунореактивности. Полученные данные авторы подвергли статистическому анализу с использованием методов сравнения групп и корреляционного анализа. Выявлено, что экспрессия трансформирующего фактора роста бета и его рецептора первого типа значительно усиливается при сочетании гиперпластических процессов эндометрия с лейомиомой и особенно с аденомиозом. Показана прямая взаимосвязь между уровнем экспрессии этих маркеров и наличием сопутствующей патологии матки. Результаты исследования свидетельствуют о значительном влиянии сопутствующих заболеваний тела матки, таких как лейомиома и аденомиоз, на усиление экспрессии трансформирующего фактора роста бета и его рецептора. Эти данные могут быть использованы для разработки новых подходов к диагностике и лечению гиперпластических процессов эндометрия, включая таргетную терапию, направленную на регуляцию активности сигнального пути трансформирующего фактора роста бета.

Ключевые слова: гиперплазия, полип, трансформирующий фактор роста бета, миома, аденомиоз.

IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA AND ITS RECEPTOR IN HYPERPLASTIC ENDOMETRIAL PROCESSES IN COMBINATION WITH UTERINE LEIOMYOMA AND ADENOMYOSIS

^{1,2}Asaturova A.V., ¹Sarkisyan R.M., ¹Gavrilova T.Yu.,
²Rogozhin D.V., ^{1,3}Adamyan L.V.

¹National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, e-mail: aasaturova@gmail.com;

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, e-mail: d.rogozhin@ronc.ru;

³The Russian University of Medicine, Moscow

Objective: To study the features of the expression of transforming growth factor beta and its type I receptor in hyperplastic endometrial processes in combination with uterine leiomyoma and adenomyosis and to determine their relationship with the pathogenesis of these diseases. The study included 90 reproductive-age patients with various forms of hyperplastic endometrial processes, including those combined with leiomyoma and adenomyosis. Histological and immunohistochemical methods were used for analysis. The expression of transforming growth factor beta and its receptor was assessed using a semi-quantitative method with the calculation of the immunoreactivity score. The data obtained were subjected to statistical analysis using group comparison and correlation analysis methods. It was found that the expression of transforming growth factor beta and its type I receptor is significantly enhanced in hyperplastic endometrial processes combined with leiomyoma and especially adenomyosis. A direct correlation was demonstrated between the levels of these markers and the

presence of associated uterine pathology. The results of the study indicate the significant impact of concomitant uterine pathologies, such as leiomyoma and adenomyosis, on the increased expression of transforming growth factor beta and its receptor. These findings may be used to develop new diagnostic and therapeutic approaches for hyperplastic endometrial processes, including targeted therapy aimed at regulating the activity of the transforming growth factor beta signaling pathway.

Keywords: hyperplasia, polyp, transforming growth factor beta, myoma, adenomyosis.

Введение

Сигнальный путь трансформирующего фактора роста бета (TGF β) участвует во многих клеточных процессах как у взрослых организмов, так и у развивающихся эмбрионов. К этим процессам относятся рост клеток, дифференцировка, миграция, апоптоз, поддержание гомеостаза и другие функции. Сигнальные пути TGF β являются высококонсервативными [1]. Несмотря на широкий спектр процессов, которые они регулируют, механизм их действия достаточно прост. Лиганды суперсемейства TGF β связываются с рецептором типа II, который привлекает и фосфорилирует рецептор типа I. Рецептор типа I затем фосфорилирует рецептор-регулируемые SMAD-белки (R-SMAD), которые связываются с ко-SMAD (например, SMAD4). SMADs представляют собой семейство структурно сходных белков, которые являются основными передатчиками сигналов для рецепторов суперсемейства трансформирующего фактора роста бета (TGF-B). SMADs критически важны для регуляции развития и роста клеток. Аббревиатура SMAD относится к гомологиям генов *Caenorhabditis elegans* SMA (фенотип «маленького» червя) и MAD family («Матери против декапентаплегии») у дрозофилы. Комплексы R-SMAD/ко-SMAD накапливаются в ядре, где действуют как факторы транскрипции, регулируя экспрессию целевых генов [2].

Суперсемейство TGF β включает такие лиганды, как костные морфогенетические белки (BMPs; bone morphogenetic proteins), факторы роста и дифференцировки (GDFs), антимюллеров гормон (AMH), активин, Nodal и TGF β [3, 4, 5]. Сигнализация начинается с связывания лиганда суперсемейства TGF β с рецептором типа II. Этот рецептор представляет собой серин/треониновую киназу, которая катализирует фосфорилирование рецептора типа I. Каждый класс лигандов связывается со специфическим рецептором типа II. Активины, которых существует три типа (A, B и AB), участвуют в эмбриогенезе, остеогенезе и регулируют гормоны гипофиза, гонад и гипоталамуса, а также инсулин [6–8]. Они также являются факторами выживания нервных клеток. BMPs связываются с рецептором типа 2 для костных морфогенетических белков (BMPR2) и регулируют остеогенез, дифференцировку клеток, спецификацию переднезадней оси, рост и гомеостаз.

Регуляция сигнального пути TGF β осуществляется через антагонисты лигандов, ингибиторы SMAD-белков, псевдорецепторы и процессы убиквитинирования. Например, Chordin (белок, играющий важную роль в формировании дорсально-вентрального паттерна на ранних стадиях эмбрионального развития) и Noggin (белок, который участвует в развитии

многих тканей организма, включая нервную ткань, мышцы и кости) ингибируют BMPs, связываясь с ними и предотвращая их взаимодействие с рецепторами I-SMAD, такими как SMAD6 и SMAD7, выполняют функцию отрицательной обратной связи, предотвращая фосфорилирование R-SMAD. Уровень I-SMAD увеличивается при активации TGF β , что говорит об их роли в регуляции сигнала. SMAD-белки также регулируются через убиквитинирование. E3 убиквитин-лигазы, такие как SMURF1 и SMURF2, участвуют в убиквитинировании и деградации R-SMAD, снижая их активность и регулирование экспрессии генов. Эта многоуровневая система контроля обеспечивает точную настройку сигнального пути TGF β для выполнения его многочисленных функций в клетке [9].

Цель исследования

Изучение особенностей экспрессии трансформирующего фактора роста бета и его рецептора первого типа при гиперпластических процессах эндометрия, сочетающихся с лейомиомой матки и аденомиозом. Исследование направлено на выявление взаимосвязи между уровнем экспрессии этих маркеров и патогенезом данных заболеваний, а также на определение их роли в процессах пролиферации и ремоделирования тканей эндометрия в условиях сочетанной патологии.

Материал и методы исследования

В гинекологическом отделении отдела оперативной гинекологии «НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» было проведено комплексное обследование 90 пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия, из них: 15 – с полипом эндометрия (ПЭ) (1-я группа), 15 – с гиперплазией эндометрия (ГЭ) (2-я группа), 15 – с полипом эндометрия и аденомиозом (3-я группа), 15 – с полипом эндометрия и миомой (4-я группа), 15 – с гиперплазией эндометрия и аденомиозом (5-я группа) и 15 – с гиперплазией эндометрия и миомой (6-я группа). Дооперационное консультирование пациентов включало: сбор анамнеза, жалобы, оценку клинико-лабораторных и инструментальных данных с последующей интраоперационной оценкой гистологического материала, которое было проведено в 1-м патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГиП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России по стандартным методикам в комплексе с иммуногистохимическими исследованиями. Далее была проведена послеоперационная оценка состояния эндометрия с помощью инструментальных методов, гистологического и иммуногистохимического исследований с помощью оценки экспрессии TGF-и его рецептора 1-го типа (TGF-betaR1).

Критериями включения являются: репродуктивный возраст от 18 до 45 лет; наличие гиперпластических процессов эндометрия (полип или гиперплазия эндометрия), определенных при ультразвуковом исследовании, подтверждено интраоперационно и окончательно верифицировано при патологоанатомическом исследовании; наличие миомы

матки или аденомиоза, выявленное при гинекологическом и ультразвуковом исследовании, подтверждено интраоперационно и окончательно верифицировано при патологоанатомическом исследовании; наличие информированного согласия на участие в исследовании.

Критериями исключения являются: злокачественные новообразования любой локализации, гормональная терапия в течение 6 месяцев до оперативного лечения, воспалительные заболевания органов малого таза в стадии обострения, наличие тяжелой соматической патологии, применение антибактериальных препаратов за 1 месяц до исследования.

Пациенты в исследуемых группах значимо не различались по возрасту. Возраст всех женщин в среднем составил $35,1 \pm 5,5$ года. Ожирение отмечалось у 18 (20%) пациенток из 90 (100%). Авторы не выявили статистически значимых различий по наступлению менархе, длительности менструального цикла и длительности менструаций ($p > 0.05$)

Непосредственным материалом для исследования являлись образцы эндометрия, полученные с помощью пайпель-биопсии и отдельного диагностического выскабливания. Для всех образцов была проведена химическая фиксация в 10%-ном нейтральном забуференном формалине в течение 24 ч. Затем образцы были обезвожены в автоматическом режиме при помощи гистологического процессора замкнутого цикла с вакуумом TissueTek VIP5 (Sakura, Япония). Дегидратацию образцов тканей производили с использованием 10%-ного забуференного формалина и раствора для гистологической проводки на основе изопропанола IsoPrep («Биовитрум», Россия), на заключительном этапе проводки выполняли вакуумную пропитку парафином МистерВакс («Биовитрум», Россия). Затем образцы тканей были залиты в парафин Гистомикс Экстра («Биовитрум», Россия) на станции заливки гистологического материала Tissue Tek TEC 5 (Sakura, Япония). Далее из парафиновых блоков были получены срезы толщиной 5 мкм, которые были нанесены на предметные стекла. С помощью аппарата для автоматической окраски Leica Autosteiner XL ST5010 (Leica, Германия) стекла были депарафинированы ксилолом и этанолом, окрашены гематоксилином и эозином; просветление производили с помощью ксилола. Стекла были заключены под покровное стекло с использованием автоматического прибора для заключения срезов Leica CV5030 (Leica, Германия) [10].

Для проведения иммуногистохимического исследования с парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 5 мкм, которые наносили на предметные стекла с положительным зарядом поверхности SuperFrost Plus (Thermo Scientific, США). Затем микропрепараты окрашивали при помощи иммуностейнера BenchMark XT (Ventana, Roche,

Швейцария) и панели детекции DAB Universal ultraView (Ventana, Roche, Швейцария). Методика была использована для каждого из антител в соответствии с протоколом, представленным производителем: антитело TGF-beta (клон E-AB-16094; разведение 1:200, производитель: Elabscience (Китай); антитело TGF-R1 (клон E-AB-40049; разведение 1:100, производитель: Elabscience (Китай)). На начальном этапе выполняли отработку титров антител [10].

Оценку иммуногистохимических маркеров авторы проводили полуколичественным методом с подсчетом показателя IRS-score (показатель иммунореактивности), в соответствии с которым IRS вычисляли по формуле: $IRS = A \times B$, где A – процент позитивных клеток (0 – нет позитивных клеток, 1 – <10% позитивных клеток, 2 – 10–50% позитивных клеток, 3 – 51–80% позитивных клеток, 4 – >80% позитивных клеток), а B – интенсивность экспрессии (0 – нет окрашивания, 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное окрашивание, 3 – сильное окрашивание). Итоговый IRS составил от 0 до 12 баллов (0–1 – негативная экспрессия, 2–3 – слабая экспрессия, 4–8 – умеренная экспрессия, 9–12 – сильная экспрессия) [11].

Статистическую обработку данных авторы проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2015, MedCalc v. 12. Нормальность распределения значений в выборках оценивали с применением тестов Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении количественных данных, выраженных средним арифметическим и стандартным отклонением, при отклонении от нормального распределения – медианой и размахом отклонения от минимального до максимального. Для качественных данных приводили абсолютные и относительные величины, наличие различий между группами определяли с помощью теста Хи-квадрат. Различия между непрерывными величинами оценивали с использованием t-теста или U-теста Манна–Уитни. Наличие взаимосвязи между факторами риска и исходом определяли путем расчета показателя относительного риска с 95%-ным доверительным интервалом. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$ [12].

Результаты исследования и их обсуждение

По данным иммуногистохимического исследования, экспрессия TGF-бета составила 5,00 (3,5–7,0) баллов в группе ПЭ, 7,00 (6,0–8,0) баллов в группе ГЭ, 8,00 (7,0–8,0) баллов в группе сочетания ПЭ и аденомиоза, 6,00 (6,0–7,5) баллов в группе сочетания ГЭ и аденомиоза, 8,00 (8,0–8,0) баллов в группе сочетания ПЭ и лейомиомы, 7,00 (6,0–8,0) баллов в группе сочетания ГЭ и лейоимомы (где показатели выражены следующим образом: $Me(Q1-Q3)$). Статистически значимая разница была выявлена между 1-й и 3-й группами ($p=0,001$), 5-й и 1-й группами ($p=0,001$) и между 4-й и 5-й группами ($p=0,034$) (используемый метод: критерий Краскела–Уоллиса) (рис. 1А, 2).

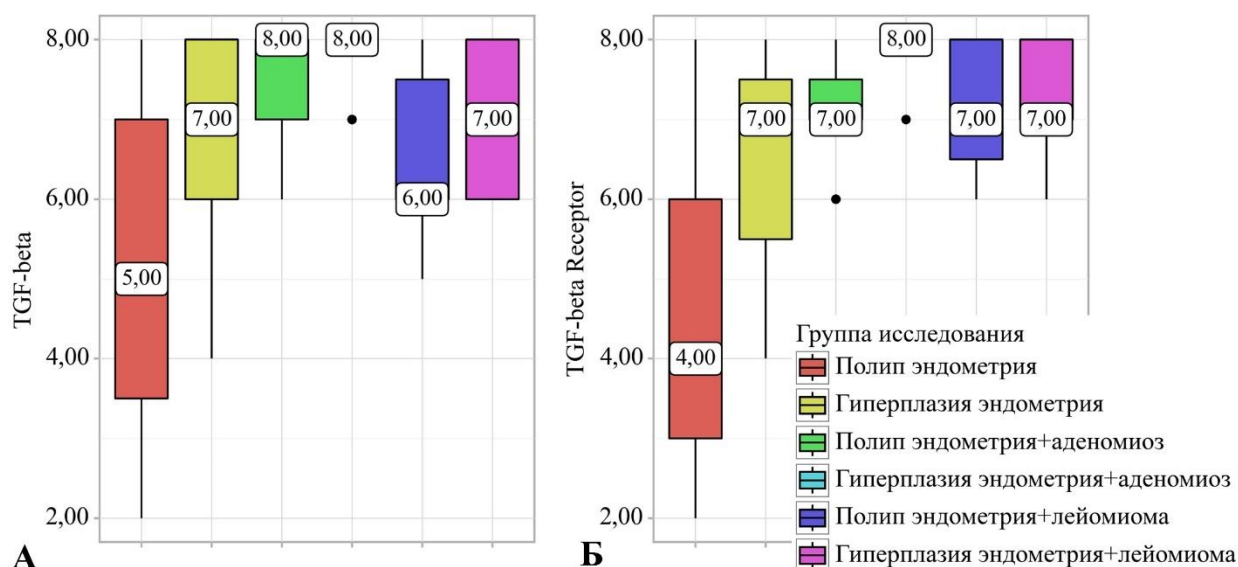


Рис. 1. Анализ TGF-beta (А) и TGF-beta рецептора 1-го типа (TGF-betaR1) (Б) в зависимости от группы исследования. В группе пациенток с полипом эндометрия отмечается самая низкая экспрессия как TGF-beta, так и TGF-betaR в эндометрии, наиболее высокие показатели экспрессии отмечаются в группах пациентов, в которых имеется сочетание полипа эндометрия и аденомиоза, а также гиперплазии эндометрия и аденомиоза

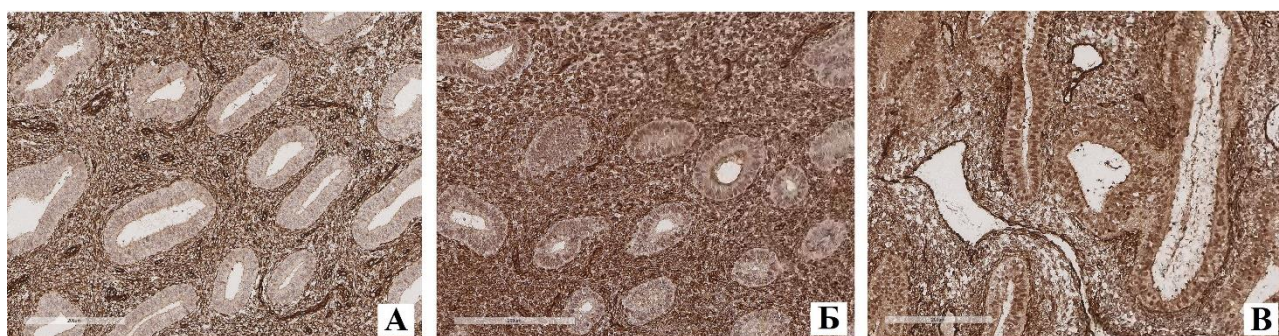


Рис. 2. Иммуногистохимическая экспрессия TGF-beta в эндометрии пациенток с полипом эндометрия (А), в эндометрии пациенток с сочетанием полипа эндометрия и лейомиомы (Б), в эндометрии пациенток с сочетанием гиперплазии эндометрия и аденомиоза. Обращают на себя внимание наиболее низкая экспрессия TGF-beta в эндометрии у пациенток с полипом эндометрия, промежуточные (средние) показатели экспрессии – у тех пациенток, у которых имеется сочетание полипа эндометрия и лейомиомы, наиболее высокие показатели экспрессии – в группе пациенток, у которых отмечается сочетание гиперплазии эндометрия и аденомиоза. Увеличение x100

По иммуногистохимической экспрессии TGF-betaR1 получены следующие данные: 4,00 (3,0–6,0) баллов в группе ПЭ, 7,00 (5,5–7,5) – в группе ГЭ, 7,00 (7,0–7,5) – в группе сочетания ПЭ и аденомиоза, 8,00 (8,0–8,0) – в группе сочетания ГЭ и аденомиоза, 7,00 (6,5–

8,0) – в группе сочетания ПЭ и лейомиомы, 7,00 (7,0–8,0) – в группе сочетания ГЭ и лейоимомы (где показатели выражены следующим образом: Me(Q1-Q3)). Статистически значимая разница была выявлена между 1-й и 3-й группами ($p=0,023$), 4-й и 1-й группами ($p<0,001$), между 5-й и 1-й группами ($p=0,009$) и между 6-й и 1-й группами ($p=0,006$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса) (рис. 1Б, 3).

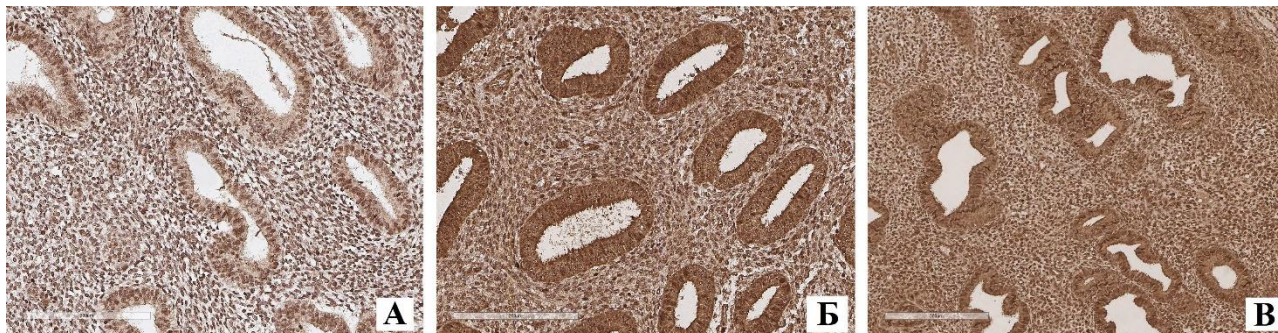


Рис. 3. Иммуногистохимическая экспрессия рецептора TGF-beta в эндометрии пациенток с полипом эндометрия (А), в эндометрии пациенток с сочетанием полипа эндометрия и лейомиомы (Б), в эндометрии пациенток с сочетанием гиперплазии эндометрия и аденомиоза. Обращают на себя внимание наиболее низкая экспрессия TGF-beta в эндометрии у пациенток с полипом эндометрия, средние показатели экспрессии – у тех пациенток, у которых отмечается сочетание полипа эндометрия и лейомиомы, наиболее высокие показатели экспрессии – в группе пациенток, у которых отмечается сочетание гиперплазии эндометрия и аденомиоза. Увеличение $\times 100$

Кроме того, авторами был выполнен корреляционный анализ взаимосвязи TGF-beta и TGF-beta R1. Коэффициент корреляции составил 0,739 (теснота связи по шкале Чеддока – высокая) ($p<0,001$) (рис. 4).

При оценке связи TGF-beta Receptor1 и TGF-beta была установлена высокой тесноты прямая связь. Наблюдаемая зависимость TGF-beta R1 от TGF-beta описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{\text{TGF-beta Receptor}} = 0,908 \times X_{\text{TGF-beta}} + 0,54.$$

При увеличении TGF-beta на 1 следует ожидать увеличения TGF-beta R1 на 0,908. Полученная модель объясняет 73,8% наблюдаемой дисперсии TGF-beta R1.

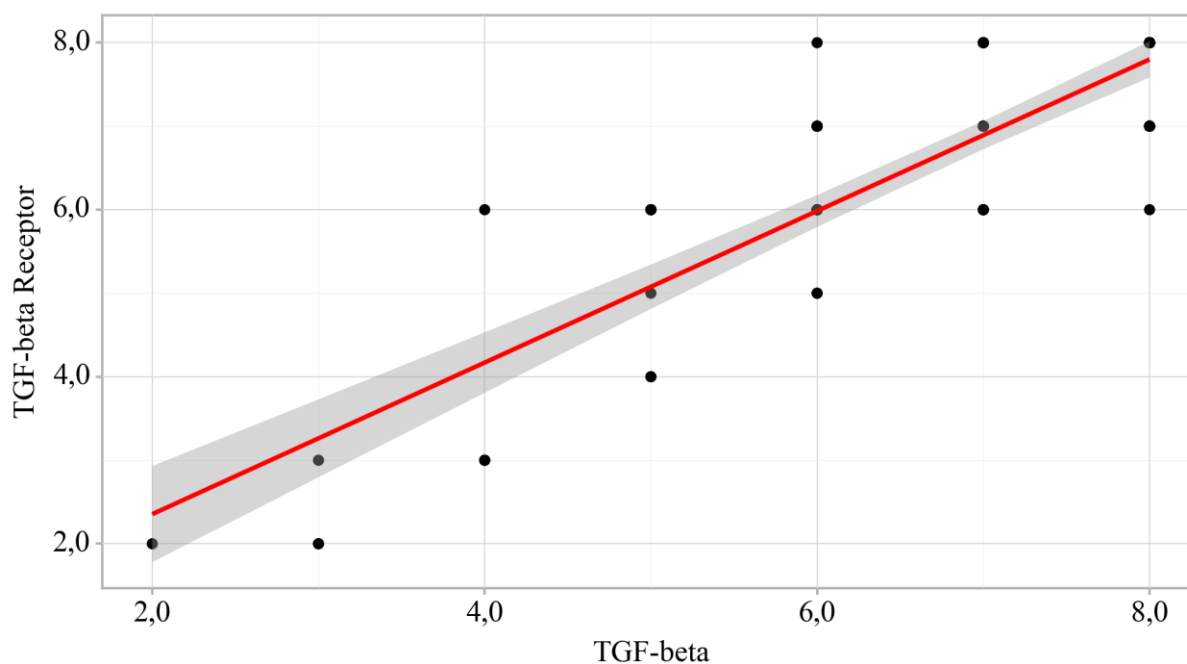


Рис. 4. График регрессионной функции, характеризующий зависимость TGF-beta R1 от TGF-beta

Этиология и патогенез гиперпластических процессов эндометрия остаются не до конца изученными. В отношении полипа эндометрия (ПЭ) было высказано предположение о том, что ПЭ формируется в результате аномальной экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона [13]. Другие авторы выдвинули гипотезу апоптоза на основе наблюдений за белками Bcl-2 и ki67 и предположили, что ПЭ является результатом дисрегуляции, при которой не происходит ожидаемой пролиферации, дифференциации и отторжения тканей в течение менструальной фазы, а не развивается в результате накопления массы ткани с избыточной способностью к пролиферации. Некоторые исследователи также считают, что пролиферация клеток и ангиогенез могут способствовать образованию ПЭ через аномальную экспрессию ферментов и цитокинов, таких как ароматаза, циклооксигеназа (COX), матриксные металлопротеиназы (MMP) и интерферон-гамма (IFN-g) [14-16]. Относительно экспрессии TGF-b в эндометрии ситуация является значительно более спорной. В одном исследовании установлено, что экспрессия этого фактора сильнее в железистых клетках [13], тогда как другие исследования показали, что она сильнее в стромальных клетках [17, 18]. Кроме того, некоторые исследователи обнаружили, что экспрессия зависит от стадии менструального цикла, усиливаясь в поздней пролиферативной фазе и в ранней или средней секреторной фазе либо только в секреторной фазе [19, 20, 21].

В проведенном авторами данной статьи исследовании оценивали экспрессию TGF- β комплексно, не разделяя на железистую и стромальную, так как в первую очередь задачей данного исследования было показать влияние на регуляцию TGF- β -зависимого сигнального пути сопутствующей доброкачественной патологии матки (лейомиомы и аденомиоза). Авторы выявили, что как TGF- β , так и его рецептор первого типа демонстрируют более высокую экспрессию в группах пациенток с сочетанной патологией матки, особенно с аденомиозом. Следует отметить, что зарубежными авторами уже предпринимались попытки изучить состояние компонентов TGF- β -зависимого сигнального пути при аденомиозе и лейомиоме матки. Были получены противоречивые данные: А. Ясобо и соавт. установили, что экспрессия TGF- β 1 между эктопическим эндометрием у пациенток с аденомиозом и эутопическим эндометрием контрольной группы не различалась [22]. Однако другая группа авторов показала, что TGF присутствовал и имел отличную от контрольной группы экспрессию в гладкомышечных клетках пациенток с аденомиозом. Этот результат был подтвержден в эксперименте на модели аденомиоза у мышей с использованием анти-TGF-терапии: противовоспалительный эффект TGF был блокирован, что открывает новые перспективы для будущего лечения данного заболевания. Авторы отмечают, что в будущем, если будут найдены возможности различать диффузный аденомиоз с положительным и отрицательным TGF, лечение может быть различным, например с использованием препаратов, направленных на TGF. В другом исследовании, используя ту же методологию, Х. Ли и соавт [23] выявили значительное увеличение агрегации тромбоцитов, экспрессии TGF- β 1 и фосфорилированного Smad3 у пациенток с эндометриозом и аденомиозом по сравнению с контрольной группой. В данной работе, помимо изучения экспрессии TGF- β , авторы также исследовали экспрессию его рецептора первого типа (TGF- β R1). Сопоставление полученных результатов является крайне важным, поскольку регуляция конечных эффектов TGF- β – сигнального пути является сложнорегулируемым процессом, и важно понимать, как изменяется экспрессия наиболее высоко расположенных компонентов при развитии той или иной патологии (рис. 5).

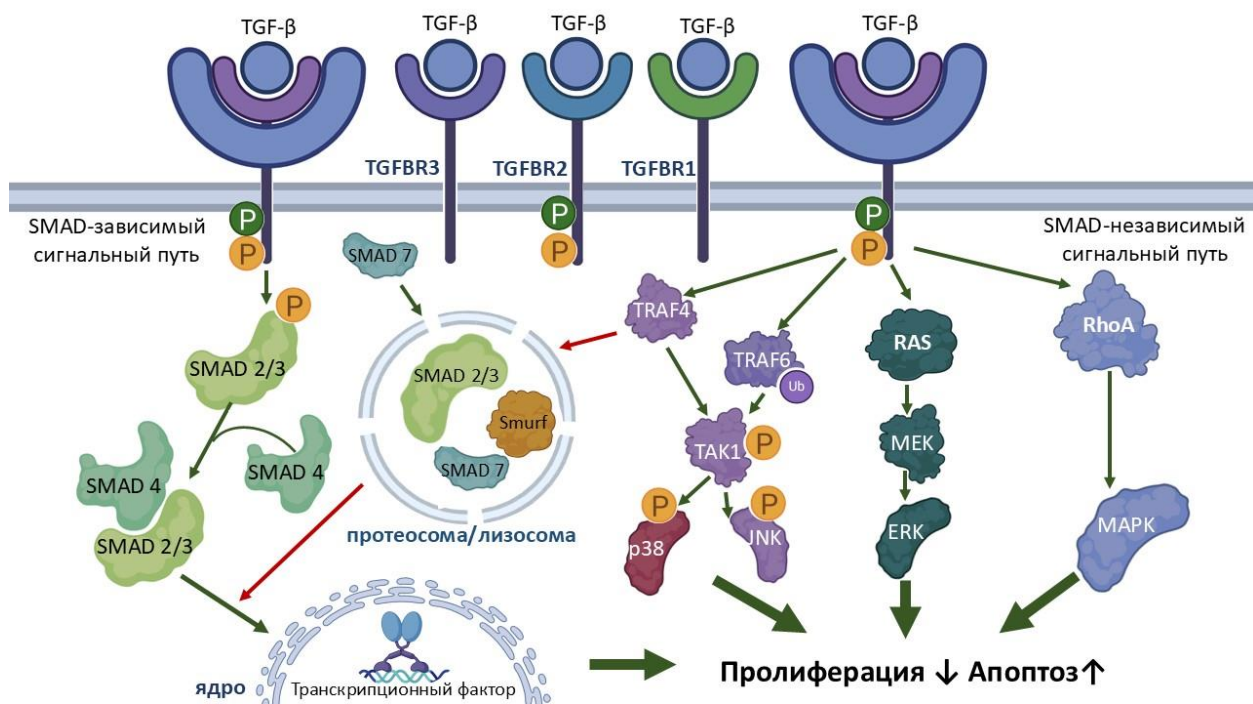


Рис. 5. Сигнальный путь TGF-beta: реализация SMAD-зависимого и SMAD-независимого путей через фосфорилирование рецепторов TGF-beta (оригинальная иллюстрация, созданная на платформе BioRender)

В данном исследовании наблюдалась высокая корреляция между экспрессией TGF-beta и его рецептором первого типа. Важная роль в синергической регуляции этих двух важнейших компонентов TGF-beta зависимого пути в патогенезе гиперплазии эндометрия уже была продемонстрирована ранее. Также проведены и наблюдения за изменением экспрессии рецепторов TGF-beta при развитии ПЭ. Показано, что повышение не только экспрессии самого TGF-beta, о котором уже упоминалось выше, но и его рецепторов, главным образом именно TGF-betaR1, может вносить вклад в развитие ПЭ наряду с дисбалансом стероидных рецепторов и прангиогенных факторов [24–26].

Заключение

Результаты изучения иммуногистохимической экспрессии трансформирующего фактора роста бета (TGF-beta) и его рецептора первого типа (TGF-betaR1) при гиперпластических процессах эндометрия в сочетании с лейомиомой матки и аденомиозом позволяют предположить, что сочетание гиперпластических процессов эндометрия с сопутствующей патологией тела матки, особенно с аденомиозом, затрагивает функциональную активность регулируемого TGF-beta сигнального пути, что приводит к усилению экспрессии как самого TGF-beta, так и его рецептора первого типа. Это может свидетельствовать о важной роли TGF-beta-зависимого сигнального пути в патогенезе данных состояний.

Список литературы

1. Kalliopi T., Moustakas A. TGF- β Signaling // *Biomolecules*. 2020. Vol. 10. Is. 3. P. 487. DOI: 10.3390/biom10030487.
2. Kriseman M.L., Tang S., Liao Z., Jiang P., Parks S.E., Cope D.I., Yuan F., Chen F., Masand R.P., Castro P.D., Ittmann M.M., Creighton C.J., Tan Z., Monsivais D. SMAD2/3 signaling in the uterine epithelium controls endometrial cell homeostasis and regeneration // *Communications Biology*. 2023. Vol. 6. Is. 1. P. 261. DOI: 10.1038/s42003-023-04619-2.
3. Kadota Y., Kato T., Kasai K., Kawakita T., Murayama M., Shinya A., Sasada H., Katayama S., Nii M., Yamamoto S., Noguchi H., Tamura K., Aoki H., Taniguchi M., Nakagawa T., Kaji T., Nishimura M., Kinouchi R., Yoshida K., Iwasa T. Expression of SMADs in orthotopic human endometrium, ovarian endometriosis, and endometriotic lesions in a murine model // *Endocrine Journal*. 2024. Vol. 71. Is. 4. P. 395-401. DOI: 10.1507/endocrj. EJ23-0486.
4. Huminiecki L., Goldovsky L., Freilich S., Moustakas A., Ouzounis C., Heldin C.H. Emergence, development and diversification of the TGF-beta signalling pathway within the animal kingdom // *BMC Ecology and Evolution*. 2009. Vol. 3. Is. 9. P. 28. DOI: 10.1186/1471-2148-9-28.
5. Zi Z. Molecular Engineering of the TGF- β Signaling Pathway // *Journal of Molecular Biology (JMB)*. 2019. Vol. 12. Is. 431 (15). P. 2644-2654. DOI: 10.1016/j.jmb.2019.05.022.
6. Loomans H.A., Andl C.D. Intertwining of Activin A and TGF β Signaling: Dual Roles in Cancer Progression and Cancer Cell Invasion // *Cancers*. 2014. Vol. 7. Is. 1. P. 70-91. DOI: 10.3390/cancers7010070.
7. Poniatowski Ł.A., Wojdasiewicz P., Gasik R., Szukiewicz D. Transforming growth factor Beta family: insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications // *Mediators of Inflammation*. 2015. Vol. 2015. Is. 1. P. 17. DOI: 10.1155/2015/137823.
8. Valcourt U., Kowanetz M., Niimi H., Heldin C.H., Moustakas A. TGF-beta and the Smad signaling pathway support transcriptomic reprogramming during epithelial-mesenchymal cell transition // *Molecular biology of the cell*. 2005. Vol. 16. Is. 4. P. 1987-2002. DOI: 10.1091/mbc.e04-08-0658.
9. Yang Q., Chen S.P, Zhang X.P, Wang H., Zhu C., Lin H.Y. Smurf2 participates in human trophoblast cell invasion by inhibiting TGF-beta type I receptor // *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*. 2009. Vol. 57. Is. 6. P. 605-612. DOI: 10.1369/jhc.2009.953166.
10. Бадлаева А.С., Варданын М.А., Чекенева Н.А., Асатурова А.В., Трегубова А.В., Дворников С.К., Буралкина Н.А., Мельников М.В., Павлович С.В. Иммуногистохимическая

оценка маркеров эпителиально-мезенхимального перехода при различных формах эндометриоза // Современные проблемы науки и образования. 2025. №1. DOI: 10.17513/spno.33810.

11. Cizkova K., Foltynkova T., Gachechiladze M., Tauber Z. Comparative Analysis of Immunohistochemical Staining Intensity Determined by Light Microscopy, ImageJ and QuPath in Placental Hofbauer Cells // Acta Histochemica Cytochemica. 2021. Vol. 54. Is. 1. P. 21-29. DOI: 10.1267/ahc.20-00032.

12. Омельченко В.П., Демидова А.А. Информатика, Медицинская информатика, статистика 2021. Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа", Москва. 608 с. DOI: 10.33029/9704-5921-8-MIS-2021-1-608.

13. Асатурова А.В., Чернуха Г.Е., Иванов И.А., Кузмин А.А. Клинико-морфометрические особенности полипов эндометрия и механизмы возникновения аномальных маточных кровотечений // Акушерство и гинекология. 2019. Т10. С. 64-70. DOI: 10.1016/j.jmig.2006.10.022.

14. Kasap E., Karaarslan S., Gur E.B., Genc M., Sahin N., Güclü S. Investigation of the Roles of Cyclooxygenase-2 and Galectin-3 Expression in the Pathogenesis of Premenopausal Endometrial Polyps // Journal of Pathology and Translational Medicine 2016. Vol.50 Is 3. P.225-30. DOI: 10.4132/jptm.2016.03.08. E.

15. Pereira A.K., Garcia M.T., Pinheiro W., Ejzenberg D., Soares J.M.Jr., Baracat E.C. What is the influence of cyclooxygenase-2 on postmenopausal endometrial polyps? // Climacteric. 2015. Vol. 18 Is. 4. P. 498-502. DOI: 10.3109/13697137.2014.966240.

16. Zhu N., Yang X., Liu Q., Chen Y., Wang X., Li H., Gao H. "Iron triangle" of regulating the uterine microecology: Endometrial microbiota, immunity and endometrium // Front Immunol. 2022. Vol. 9. Is. 13. P. 928475. DOI: 10.3389/fimmu.2022.928475.

17. Pavlides S., Lecanda J., Daubriac J., Pandya U., Gama P., Blank S., Mittal K., Shukla P., Gold L. TGF- β activates APC through Cdh1 binding for Cks1 and Skp2 proteasomal destruction stabilizing p27kip1 for normal endometrial growth // Cell Cycle. 2016. Vol. 15. Is. P. 931-47. DOI: 10.1080/15384101.2016.1150393.

18. Parekh T., Gama P., Wen X., Demopoulos R., Munger J., Carcangiu M., Reiss M., Gold L. Transforming growth factor beta signaling is disabled early in human endometrial carcinogenesis concomitant with loss of growth inhibition // Cancer Res. 2002. Vol. 15. Is. 62. P. 2778-90.

19. Marshburn P.B., Arici A.M., Casey M.L. Expression of transforming growth factor-beta 1 messenger ribonucleic acid and the modulation of deoxyribonucleic acid synthesis by transforming growth factor-beta 1 in human endometrial cells // American journal of obstetrics and gynecology. 1994. Vol. 170. Is. 4. P. 1152-1158. DOI: 10.1016/s0002-9378(94)70112-1.

20. Chegini N., Zhao Y., Williams R., Flanders K. Human uterine tissue throughout the menstrual cycle expresses transforming growth factor-beta 1 (TGF beta 1), TGF beta 2, TGF beta 3, and TGF beta type II receptor messenger ribonucleic acid and protein and contains [125I] TGF beta 1-binding sites // *Endocrinology*. 1994. Vol. 135. Is. 1. P. 439-49. DOI: 10.1210/endo.135.1.8013382.
21. Maybin J., Boswell L., Young V., Duncan W., Critchley H. Reduced Transforming Growth Factor- β Activity in the Endometrium of Women With Heavy Menstrual Bleeding // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2017. Vol. 1. Is. 102. P. 1299-1308. DOI: 10.1210/jc.2016-3437.
22. Jacobo A., Borges R.F., de Souza C.A.B., Genro V.K., Cunha-Filho J.S. Transforming growth factor beta-1 (TGF- β 1) expression in patients with adenomyosis // *Revista brasileira de ginecologia e obstetricia: revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia*. 2024. Vol. 46. Is. 31. P. 9. DOI: 10.61622/rbgo/2024rbgo31.
23. Liu X., Shen M., Qi Q., Zhang H., Guo S.W. Corroborating evidence for platelet-induced epithelial-mesenchymal transition and fibroblast-to-myofibroblast transdifferentiation in the development of adenomyosis // *Human reproduction*. 2016. Vol. 31. Is. 4. P. 734-49. DOI: 10.1093/humrep/dew018.
24. Nijkang N.P., Anderson L., Markham R., Manconi F. Endometrial polyps: Pathogenesis, sequelae and treatment // *SAGE open medicine*. 2019. Vol. 7. Is. 1. P. 12. DOI: 10.1177/2050312119848247.
25. Ruiz-Mitjana A., Navaridas R., Vidal-Sabanés M., Perramon-Güell A., Yeramian A., Felip I., Eritja N., Egea J., Encinas M., Matias-Guiu X., Dolcet X. Lack of extracellular matrix switches TGF- β induced apoptosis of endometrial cells to epithelial to mesenchymal transition // *Scientific reports*. 2022. Vol. 12. Is. 1. P. 14821. DOI: 10.1038/s41598-022-18976-1.
26. Faraji A., Shamsadinimoghadam R., Jahromi M.A., Namazi N. TGF- β 1 role in uterine leiomyoma and endometrial polyp: an insight to drug-based treatment instead of surgical techniques // *Obstetrics & gynecology science*. 2021. Vol. 64. Is. 1. P. 107-113. DOI: 10.5468/ogs.20191.