

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Гвазава Екатерина Николаевна

**Клинико-диагностическое значение экспрессии мРНК никотиновых
ацетилхолиновых рецепторов при гиперплазии эндометрия**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Леваков Сергей Александрович

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1.1. Эпидемиология гиперплазии эндометрия и рака эндометрия	14
1.1.2. Факторы риска трансформации гиперплазии эндометрия и развития рака эндометрия.....	18
1.1.3. Основы профилактики и терапии гиперплазии эндометрия	22
1.2. Роль никотиновых ацетилхолиновых рецепторов при онкологических процессах.....	25
1.3. Антагонисты никотиновых ацетилхолиновых рецепторов и их противоопухолевый потенциал	33
1.4. Длинные некодирующие РНК и их роль в канцерогенезе	40
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	45
2.1. Общая структура клинического материала	45
2.2. Методы исследования	46
2.2.1. Общеклинические методы обследование.....	46
2.2.2. Ультразвуковое исследование	47
2.2.3. Исследования биопсийного материала эндометрия	49
2.2.4. Оценка уровня экспрессии мРНК генов в тканях эндометрия.....	50
2.2.5. Статистическая обработка результатов	51
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	53
3.1. Клинико-демографическая характеристика обследованных женщин	53
3.2. Значение экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в норме, при гиперплазии и раке эндометрия	57
3.2.1. Оценка уровней относительной экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в норме и при гиперплазии эндометрия	57
3.2.2. Оценка уровней относительной экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в норме, при гиперплазии эндометрия и раке эндометрия.....	61
3.2.3. Диагностическая значимость относительной экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов при дифференцировании нормального эндометрия, гиперплазии и рака эндометрия	63
3.2.4. Корреляция уровней экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых рецепторов с факторами риска развития гиперплазии и рака эндометрия	67

3.3. Значение экспрессии lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 в нормальном эндометрии, при гиперплазии и раке эндометрия.....	71
3.3.1. Оценка уровней относительной экспрессии lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 в нормальном эндометрии, при гиперплазии и раке эндометрия.....	71
3.3.2. Диагностическая значимость относительной экспрессии lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 при дифференцировании нормального эндометрия, гиперплазии и рака эндометрия	73
3.3.3. Корреляция уровней экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 с факторами риска развития гиперплазии и рака эндометрия.....	75
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	78
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	93
ВЫВОДЫ.....	95
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	97
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	98
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	99

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Гиперплазия эндометрия представляет собой неинвазивную аномальную пролиферацию эндометрия и часто является предшественником рака эндометрия. Аномальные маточные кровотечения остаются отличительным признаком патологии эндометрия и до 10–20% кровотечений обусловлены либо гиперплазией, либо раком. В Российской Федерации распространенность рака тела матки в 2022 году зарегистрирована на уровне 195,6 случаев на 100 тыс. населения. С 2012 года рост составил 31,8%, когда распространенность данной патологии была 148,4 случаев на 100 тыс. населения [1]. В 2022 году рак тела матки в Соединенных Штатах Америки затронул 65 950 человек, что составило 7% всех случаев злокачественных новообразований у женщин [2].

Воздействие эстрогенов является установленным фактором риска развития рака эндометрия [3] и может, по крайней мере частично, объяснить связь таких факторов, как ожирение, отсутствие родов в анамнезе и более поздний возраст менопаузы с повышенным риском рака эндометрия [4; 5]. Напротив, курение сигарет было последовательно связано с более низким риском развития рака эндометрия [6; 7]. Однако биологические механизмы, лежащие в основе этой ассоциации, неясны. Хотя было высказано предположение, что курение может снизить риск за счет его антиэстрогенных эффектов [8]. Таким образом, неясно, является ли предполагаемая обратная связь курения с риском развития рака эндометрия, обнаруженная во многих обсервационных исследованиях, причинно-следственной связью или результатом систематической ошибки из-за неизвестных или неточно измеренных искажающих факторов. Ответ на данный вопрос может дать исследование роли никотин-ацетилхолиновых рецепторов (nAChR) в патогенезе гиперплазии эндометрия и рака тела матки.

nAChR являются лиганд-зависимыми ионными каналами, которые включают пять типов субъединиц - α , β , δ , ϵ или γ , первые две из которых являются

ключевыми субъединицами. Ранее предполагали, что nAChR представлены только в центральной и периферической нервной системе. В настоящее время накоплен достаточный фактический материал, доказывающий, что различные субтипы nAChR также присутствуют в клетках и тканях других органов и систем. Соответственно, nAChR могут играть роль во множестве биологических процессов, помимо передачи сигналов синапсах нервной системы [9]. Постепенно накапливаются научные знания о наличии тесной взаимосвязи между nAChR и канцерогенезом. В различных исследованиях данные рецепторы описываются как значимые молекулы, участвующие в инициации развития опухоли, прогрессирующем опухолевом росте, ангиогенезе, метастазировании и в механизмах апоптоза опухолевых клеток [10; 11]. Влияние на активность различных типов nAChR считается перспективным направлением разработки новых препаратов противоопухолевой терапии [12].

Степень разработанности темы исследования

Предшествующие исследования показали взаимосвязь экспрессии nAChR с развитием различных злокачественных новообразований. Например, $\alpha 7$ nAChR связан с развитием рака мочевого пузыря [13], толстого кишечника [14], желудка [15], плоскоклеточного рака головы и шеи [16], поджелудочной железы [17]. При раке легкого экспрессия $\alpha 7$ nAChR ассоциируется с никотин-опосредованной пролиферацией, проангиогенезом и метастазированием, которые могут быть элиминированы $\alpha 7$ -nAChR-специфическими ингибиторами [18]. Кроме того, снижение экспрессии $\alpha 9$ -nAChR в клетках рака молочной железы человека путем РНК-интерференции ингибировало рост опухолей [19]. Также обнаружено, что подавление экспрессии $\alpha 9$ -nAChR значительно снижает никотин-индуцированную пролиферацию клеток рака молочной железы [20]. Субъединицы nAChR $\alpha 3$, $\alpha 9$, $\alpha 10$ и $\beta 4$ сверхэкспрессируются в опухолевых клетках при раке шейки матки по сравнению с таковыми в нормальных клетках. При этом конотоксины, блокирующие $\alpha 9\alpha 10$ или $\alpha 3\beta 4$ nAChR, были способны значительно ингибировать

пролиферацию опухолевых клеток [21]. Однако понимание роли nAChR в развитии и прогрессировании гиперплазии эндометрия и рака тела матки ограничено.

В промышленно развитых странах рак эндометрия представляет собой наиболее распространенное злокачественное новообразование женских репродуктивных путей, предшественником которого часто является гиперплазия эндометрия, представляющая собой неинвазивную аномальную пролиферацию эндометрия, выстилающего матку, связанную со значительным риском одновременного развития рака эндометрия [22].

Гиперплазия эндометрия микроскопически определяется как резко утолщенный пролиферативный эндометрий и может быть подразделена на неатипичную гиперплазию (доброкачественную гиперплазию эндометрия) и атипичную гиперплазию (также известную как эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия). Микроскопическое различие между атипичной гиперплазией и низкодифференцированной эндометриоидной карциномой могут быть трудновывяемыми, потому что последние обычно возникают на гиперпластическом фоне, поэтому они часто сосуществуют, что может затруднять своевременную диагностику. Соответственно, необходимы биомаркеры, которые позволят выявлять высокий риск малигнизации гиперплазии для более тщательного динамического наблюдения за женщинами и дифференцированного подхода к лечению. Такими биомаркерами могут являться некодирующие молекулы РНК.

Около 2% генов всего генома организмов кодируют первичную аминокислотную последовательность белков. Также существуют некодирующие молекулы РНК, участвующие многочисленных биологических процессах организма, но при этом не имеющие функций трансляции белков [23]. К некодирующим РНК с различными функциями регуляции относятся микроРНК, малые интерферирующие РНК (миРНК), PIWI-взаимодействующие РНК (piRNA) и семейство длинных некодирующих РНК (lncRNA).

MALAT1, важный член семейства lncRNA, был первым, который идентифицирован как lncRNA-MALAT1, и тесно ассоциируется с возникновением

и развитием различных видов рака человека [24]. LncRNA-MALAT1 представляет собой межгенный транскрипт, который расположен на хромосоме человека 11q13.1 и имеет длину около 8,7 kb [25]. Участие lncRNA-MALAT1 в канцерогенезе при различных видах злокачественных новообразований имеет важное значение для прогнозирования развития и диагностики заболеваний, определения терапевтических мишеней и разработки новых противоопухолевых препаратов.

Еще одним потенциальным биомаркером является ROR-1 (receptor tyrosine kinase like orphan receptor-1), который относится к семейству рецепторов с тирозинкиназной активностью (RTK — receptor tyrosine kinase) [26]. Исследования показывают, что высокий уровень экспрессии LncROR-1 связан с увеличенной пролиферацией и инвазивностью опухолевых клеток, что делает его потенциальной мишенью для терапии злокачественных новообразований [27].

Таким образом, изучение дифференциальной экспрессии nAChR, LncRNA-MALAT1 и ROR-1 при гиперплазии эндометрия, раке тела матки и в нормальных эпителиальных клеточных линиях матки является актуальной проблемой, решение которой позволит определить роль LncRNA-MALAT1, ROR-1 и различных субъединиц nAChR в патогенезе гиперплазии и рака эндометрия и, соответственно, могут быть потенциальными мишенями для создания таргетных лекарственных препаратов.

Цель и задачи исследования

Уточнить новые эпигенетические маркеры гиперпластических процессов эндометрия для оптимизации методов диагностики гиперплазии эндометрия и прогнозирования малигнизации.

1. Уточнить факторы риска развития гиперплазии и рака эндометрия у женщин репродуктивного возраста.
2. Определить взаимосвязь экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов с развитием гиперпластических процессов в эндометрии.

3. Установить роль LncRNA-MALAT1 и ROR-1 при гиперплазии раке эндометрия, а так же оценить их взаимосвязь с факторами риска развития данных заболеваний.
4. Оценить взаимосвязь экспрессии LncRNA-MALAT1 и ROR-1 с факторами риска развития гиперплазии и рака эндометрия.
5. Разработать новые подходы к ранней диагностике гиперплазии с атипией и рака эндометрия у женщин репродуктивного возраста.

Научная новизна

В представленном исследовании установлена роль никотиновых ацетилхолиновых рецепторов и длинных некодирующих РНК MALAT1 и ROR-1 в эпигенетических изменениях при гиперпластических процессах эндометрия и разработаны методы диагностики малигнизации.

Впервые показано, что при атипичной гиперплазии эндометрия по сравнению с нормальным эндометрием повышена экспрессия генов $\alpha 4$ -nAChR, $\beta 1$ -nAChR и $\beta 2$ -nAChR и, напротив, понижена экспрессия генов $\alpha 3$ -nAChR, $\alpha 5$ -nAChR, $\alpha 6$ -nAChR и $\alpha 7$ -nAChR. При раке эндометрия гиперэкспрессируются $\alpha 1$ -nAChR, $\alpha 3$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR по сравнению с нормальным и гиперплазированным эндометрием.

Впервые продемонстрировано, что у женщин репродуктивного возраста при атипичной гиперплазии эндометрия по сравнению с нормальным эндометрием повышена экспрессия lncROR-1, тогда как при раке эндометрия гиперэкспрессируется lncRNA-MALAT1.

Установлено, что уровни экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, LncRNA-MALAT1 и ROR-1 являются новыми диагностическими маркерами, которые позволяют дифференцировать предраковые заболевания и рак эндометрия у женщин репродуктивного возраста.

Впервые установлены корреляционные взаимосвязи уровней экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, LncRNA-MALAT1 и ROR-1 с такими

факторами риска развития гиперплазии и рака эндометрия, как возраст женщин, индекс массы тела, количество выкуриваемых сигарет и количество беременностей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявление новых информативных диагностических маркеров, позволяющих дифференцировать предраковые заболевания и рак эндометрия у женщин репродуктивного возраста: нормальный эндометрий от гиперплазированного с наибольшей диагностической значимостью позволяют дифференцировать уровни экспрессии $\alpha 4$ -субтипа никотиновых ацетилхолиновых рецепторов и lncRNA-MALAT1; рак эндометрия от его гиперплазии – уровни экспрессии $\alpha 3$ - субтипа никотиновых ацетилхолиновых рецепторов и lncRNA-MALAT1; рак эндометрия от нормального и находящегося в состоянии гиперплазии – отсутствие экспрессии lncROR-1.

Методология и методы исследования

Исследование выполнено в соответствии со стандартами «Надлежащей клинической практики».

Проведено когортное исследование женщин репродуктивного возраста с диагнозом «Гиперплазия эндометрия» по данным ультразвукового исследования органов малого таза с наличием клинических проявлений, проявляющихся аномальными маточными кровотечениями из половых путей, и без таковых. В зависимости от гистологического заключения, полученного после проведения пайпель-биопсии, все пациентки разделены на три группы исследования: первая группа - пациентки с эндометриальной гиперплазией; вторая группа - больные раком эндометрия; третья группа – женщины с нормальным эндометрием.

На первом этапе выполнен скрининг женщин на наличие гиперпластических процессов и разделение их на группы исследования.

На втором этапе исследования проводилось определение уровней экспрессии генов, кодирующих LncRNA-MALAT1 и ROR-1, а также никотиновые ацетилхолиновые рецепторы ($\alpha 1$ -nAChR, $\alpha 3$ -nAChR, $\alpha 4$ -nAChR, $\alpha 5$ -nAChR, $\alpha 6$ -nAChR, $\alpha 7$ -nAChR, $\alpha 9$ -nAChR, $\beta 1$ -nAChR, $\beta 2$ -nAChR), в биопсийном материале эндометрия при его гиперплазии, раке и в эндометрии без органической патологии. На данном этапе также определялась взаимосвязь экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, LncRNA-MALAT1 и ROR-1 с факторами риска развития гиперплазии и рака эндометрия

На третьем этапе исследования проводилось определение диагностической значимости никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, LncRNA-MALAT1 и ROR-1 для дифференциальной диагностики предраковых заболеваний и рака эндометрия у женщин репродуктивного возраста.

Личный вклад автора

Автором были изучены современные и зарубежные источники литературы. В рамках проведения научно-квалификационной работы автор определил цели и задачи исследования, разработал дизайн исследования.

Автор самостоятельно проводил работу по клинико-инструментальному скринингу тематических пациенток, оперативному вмешательству; осуществил анализ клинико-лабораторных и инструментальных исследований; проанализировал полученные данные, провел статистическую обработку полученных результатов, подготовил и написал статьи и тезисы, а также лично написал все разделы диссертационной работы.

Положения, выносимые на защиту

1. У женщин репродуктивного возраста уровни экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, LncRNA-MALAT1 и ROR-1 коррелируют с такими факторами риска развития гиперплазии и рака эндометрия, как с возраст женщин,

индекс массы тела, количество выкуриваемых сигарет, количество беременностей. Развитие рака эндометрия ассоциируется с возрастом, курением в анамнезе и меньшим количеством выкуриваемых сигарет в сутки и длительностью периода после окончания приема комбинированных оральных контрацептивов.

2. При гиперпластических процессах в эндометрии и раке эндометрия изменяется экспрессия различных субъединиц никотиновых ацетилхолиновых рецепторов.

3. При гиперплазии эндометрия повышается экспрессия lncROR-1 и отсутствует при раке эндометрия; при раке эндометрия гиперэкспрессируется lncRNA-MALAT1.

4. Уровни экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, lncRNA-MALAT1 и ROR-1 позволяют дифференцировать атипическую гиперплазию и рак эндометрия у женщин репродуктивного возраста.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) для студентов при изучении дисциплины «Акушерство и гинекология», а также при подготовке кадров высшей квалификации (ординатура и аспирантура) по специальности «Акушерство и гинекология» (акт акт № 720-У от 25.08.2025).

Результаты диссертационной работы внедрены в лечебный процесс гинекологического отделения федерального государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Клиническая больница № 85 Федерального медико-биологического агентства России» (акт 712 от 4.09.2025).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, пунктам 4 и 5 паспорта специальности Акушерство и гинекология.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационного исследования обеспечена использованием современных методов исследования, которые соответствуют цели работы и поставленным задачам. Сформулированные в тексте диссертации научные положения, выводы и практические рекомендации основаны на фактических данных, продемонстрированных в приведенных таблицах и рисунках. Статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Апробация диссертационной работы состоялась на кафедральной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии ИКМ имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) и врачей гинекологического отделения ФГБУЗ КБ № 85 ФМБА России 27.10.2025г (протокол № 10-02).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 3 научные статьи в рецензируемых научных изданиях, входящих в международную наукометрическую базу данных SCOPUS.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 127 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 21 рисунком. Библиографический указатель содержит 241 источников литературы, их них 23 отечественных и 218 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология, этиология и лечение гиперплазии эндометрия и рака эндометрия

1.1.1. Эпидемиология гиперплазии эндометрия и рака эндометрия

Исторически гиперплазия эндометрия классифицировалась как простая или сложная с атипией или без нее, с риском злокачественного прогрессирования от 1 до 43%. В настоящее время эндометриальная интраэпителиальная неоплазия признана предшествующей стадией атипичной гиперплазией эндометрия и считается предвестником эндометриоидной карциномы. Все остальные варианты гиперплазии эндометрия являются доброкачественными вариантами, которые можно лечить медикаментозно. Интраэпителиальную неоплазию эндометрия не следует путать с интраэпителиальной карциномой эндометрия, которая является предшественником более агрессивного серозно-папиллярного рака тела матки [28, 29, 30].

Гиперплазия эндометрия микроскопически определяется как резко утолщенный пролиферативный эндометрий и может быть подразделена на неатипичную гиперплазию (доброкачественную гиперплазию эндометрия) и атипичную гиперплазию (также известную как эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия). Эта двухуровневая схема была одобрена Всемирной организации здравоохранения в 2014 году и представляет собой эволюцию четырехуровневого подхода, предложенного в 1994 году. Предыдущая система учитывала как цитологическую атипию, так и железистую сложность, в результате чего было четыре категории: первая включает простую гиперплазию без атипии, вторая представлена простой гиперплазией с атипией, третья категория - сложная гиперплазия без атипии и четвертая категория представляет собой сложную гиперплазию с атипией. Эта классификационная система оказалась под пристальным вниманием в значительной степени потому, что категория самого

высокого риска, сложная гиперплазия с атипией, не смогла охватить значительную подгруппу поражений, связанных с высоким риском развития карциномы эндометрия [31, 32]. В связи с низкой диагностической воспроизводимостью вышеупомянутая четырехуровневая классификация была модифицирована до бинарной классификации. Согласно новой классификации выделяют две формы [22, 33]: гиперплазия эндометрия без атипии и гиперплазия эндометрия с атипией/эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия. Новая бинарная классификация демонстрирует более надежную прогностическую силу, воспроизводимость и соответствие вариантам лечения.

Несмотря на то, что неатипичная гиперплазия приводит к четырехкратному увеличению риска развития рака эндометрия, эти темпы прогрессирования по-прежнему остаются низкими, и в большинстве случаев их можно контролировать или вылечить с помощью гормонального лечения или выскабливания, или и того, и другого [34, 35]. Микроскопически неатипичная гиперплазия характеризуется железами, выстланными простым эпителием, напоминающим нормальный пролиферативный эндометрий, но с повышенной скученностью. Точное соотношение желез и стромы, необходимое для постановки диагноза гиперплазии, остается спорным. Соотношение 2:1 используется многими патологоанатомами в качестве порогового значения для постановки диагноза, хотя в некоторых рекомендациях железистый вклад, превышающий 55%, что соответствует соотношению железы:строма, чуть выше 1:1, считается применимым.

По сравнению с неатипичной гиперплазией, атипичная гиперплазия несет заметно повышенный риск развития карциномы, при этом до одной трети пациентов получают диагноз карциномы в течение года [22, 36]. Для постановки диагноза требуется скопление желез либо с цитологической атипией, превышающей ожидаемую при пролиферативном эндометрии, либо с морфологически отличным субклоном желез, не относящимся к доброкачественной метаплазии.

Аргумент в пользу классификации некоторых гиперплазий как «атипичных» на основании морфологически различных пролифераций, в которых отсутствует

выраженная цитологическая атипия, основан на включении эндометриальной интраэпителиальной неоплазии для классификации предраковых поражений эндометрия. Эта система основана на детальных морфометрических и молекулярных исследованиях, которые учитывают как ядерные, так и структурные особенности клеток [37], а также мутации в гене PTEN (гомолог фосфатазы и тензина) и потерю экспрессии белка PTEN [38]. Исследования показали, что скученные железы эндометрия с дефицитом PTEN, морфологически отличающиеся от фонового эндометрия, несут риск, сопоставимый с риском пролиферации, несущей более выраженную цитологическую атипию [38].

Микроскопическое различие между атипичной гиперплазией и низкокодифференцированной эндометриоидной могут быть трудновывяемыми, потому что эндометриоидные карциномы обычно возникают на гиперпластическом фоне, поэтому они часто сосуществуют. Злокачественная прогрессия подтверждается под микроскопом, когда отдельные железы демонстрируют потерю целостности, что приводит к их слиянию и росту [39].

Исторически на основе ретроспективного обзора Kurman et al. (1985) риск прогрессирования от атипичной гиперплазии эндометрия до рака матки составлял 29%. При этом период наблюдения за женщинами с гиперплазией эндометрия составил не менее одного года с момента первичной постановки диагноза по данным биопсии до проведения гистерэктомии. У 10 пациенток со сложной атипичной гиперплазией развился рак эндометрия, и это ретроспективное когортное исследование было использовано для первоначальной классификации гиперплазии эндометрия на основе цитологической атипии. Более поздние проспективные данные демонстрируют наличие рака в 43% случаев во время гистерэктомии [40]. В многоцентровом исследовании с участием 477 пациентов, сравнивавших критерии Всемирной организации здравоохранения 1994 и 2014 годов, прогрессировало в рак 13% атипичной гиперплазии и 2,3% неатипичной гиперплазии по классификации 1994 года. Согласно обновленной классификации 19% случаев атипичной гиперплазии прогрессировали в рак и в 0,6% случаев неатипичной гиперплазии трансформировались в опухолевый процесс [41].

Рак эндометрия чаще развивается в постменопаузальном периоде, однако до 14% случаев заболевания регистрируется у женщин в предменопаузальном периоде [42]. По данным Minig L. et al. более 5% случаев рака эндометрия выявляется в возрасте от 35 до 44 лет и 2% в более молодом возрасте от 20 до 24 лет [43]. Риск развития рака эндометрия повышен у женщин, имеющих избыточную массу тела или ожирение (по индексу массы тела (ИМТ), повышенный уровень инсулина, сахарный диабет, повышенное артериальное давление, отсутствие ановуляторных циклов и деторождения в анамнезе [44, 45, 46].

Рак эндометрия чаще выявляется на начальных стадиях, когда опухоль ограничена маткой, когда женщины обращаются за медицинской помощью в связи с появлением раннего симптома заболевания, проявляющегося аномальным маточным кровотечением. В данной ситуации тактика ведения заключается в тотальной гистерэктомии, двусторонней сальпингоофорэктомии и оценке наличия метастазов в лимфатических узлах [47, 48]. После тотальной гистерэктомии по показаниям проводится адъювантная терапия [49, 50]. Благодаря тотальной гистерэктомии общая выживаемость при раке эндометрия 1-2 стадии составляет более 95% [51], тем не менее хирургическое вмешательство приводит к бесплодию у женщин в пременопаузе.

Фертильносберегающие подходы у молодых пациенток с раком эндометрия рекомендованы международными сообществами [46]. Однако консервативное лечение гинекологических заболеваний, таких как рак эндометрия и атипичная гиперплазия эндометрия, сопряжено с риском рецидива [52, 53]. Таким образом, первостепенное значение имеет разработка стандартизированного и научно обоснованного ведения с четким определением критериев приемлемости, лечения первичного поражения и метода последующего наблюдения. Несмотря на то, что консервативный подход к ранним стадиям низкодифференцированного эндометриоидного рака и поражений-предшественников стал общепринятым [54], рекомендации в основном основываются на экспертном мнении или консенсусе [55, 56]. Имеющиеся доказательства неоднородны и основаны на ретроспективных исследованиях с различными протоколами лечения и последующего наблюдения.

При решении вопроса для определения тактики ведения пациенток с раком тела матки первым шагом является первичная оценка состояния пациента путем полного сбора анамнеза, в том числе и семейного, а также клинического обследования [56].

Затем обязательна постановка правильного диагноза и определение стадии заболевания с исключением инвазии миометрия и отдаленных метастазов с помощью компьютерной томографии, усиленной магнитно-резонансной томографии (МРТ) или экспертного ультразвукового исследования [57, 58]. Правильное получение и дальнейшее исследование гистологического образца также имеет ключевое значение для диагностики [59, 56]. Для получения проб рекомендуется гистероскопия с биопсией эндометрия, что является более предпочтительным по сравнению с дилатацией и кюретажем [56]. Соответствующее первичное обследование должно подтвердить право на фертильно-щадящее лечение, которое возможно в случае выявления высокодифференцированного рака матки или атипичной гиперплазии эндометрия. Важно, чтобы процесс был ограничен эндометрием и отсутствовали противопоказания к лекарственной терапии [54].

1.1.2. Факторы риска трансформации гиперплазии эндометрия и развития рака эндометрия

В 2013 г. исследовательской сетью The Cancer Genome Atlas (TCGA) разработана новая классификация рака эндометрия, в рамках которой выделено 4 молекулярных подтипа - с мутациями POLE, высоким уровнем микросателлитной нестабильности, высоким уровнем копийности P53, низким уровнем копийности P53 [54, 60, 61].

Различные молекулярно-генетические факторы играют важную роль в развитии прогрессировании рака эндометрия, влияя на прогноз. Данные маркеры могут быть рекомендованы для стратификации риска развития патологии [62]. Некоторые мутации уже хорошо известны и рассматриваются в клинических

условиях для ведения пациенток. Однако они до сих пор не были включены в алгоритм принятия решения о фертильно-щадящем лечении [61, 63]. В недавнем обзоре [63] выявлены и обобщены установленные в настоящее время генетические прогностические факторы, включенные в прогностические категории, с целью установить, способствуют ли они принятию решения о сохранении фертильности при раннем раке эндометрия. Основываясь на частоте рецидивов после лечения, риске метастазирования и летальности от рака эндометрия на ранней стадии, были определены мутации в генах PTEN (фосфатаза с двойной субстратной специфичностью, являющаяся супрессором опухолевого роста) и POLE (экзонуклеазного домена ДНК-полимеразы эpsilon) как надежные прогностические факторы, благоприятствующие фертильно-щадящему лечению. С другой стороны, менее надежными прогностическими факторами оказались PIK3CA (каталитическая субъединица фосфатидилинозит-4,5-бисфосфат-3-киназы альфа), HER2 (рецептор эпидермального фактора роста, тип 2), ARID1A (AT-rich interactive domain-containing protein 1A), p53, L1CAM и FGFR2 (Рецептор фактора роста фибробластов 2). Однако для принятия решения необходимо учитывать клинко-патологические особенности пациентов [63]. Для определения роли этих прогностических факторов в алгоритме лечения этих опухолей необходимо провести более масштабные клинические исследования [64].

Синдром Линча является наследственным заболеванием, предрасполагающим к колоректальному раку, раку тела матки, раку желудка и другим злокачественным новообразованиям, и составляет от 2 до 5% всех случаев злокачественных новообразований эндометрия [65, 66, 67]. Этот наследственный синдром, наследуемый по аутосомно-доминантному типу, обусловлен мутацией гена, участвующего в репарации ДНК (MMR)/микросателлитной нестабильности (MSI) [61]. Распространённость синдрома Линча составляет от 1 из 370 до 2000 человек [68]. Риск развития злокачественного новообразования эндометрия составляет примерно 50% в течение жизни, и, как правило, больные женщины моложе, чем пациентки со спорадическим раком тела матки [69]. Исходя из этого при определении показаний к консервативному лечению специалистам необходимо

собрать подробный семейный анамнез, и при наличии указаний на высокий риск развития синдрома Линча следует генетическое тестирование на наличие микросателлитной нестабильности [56].

Атипичная гиперплазия эндометрия чрезвычайно распространена с различной скоростью прогрессирования инвазивного рака эндометрия, и быстрое распознавание факторов риска, а также симптомов и признаков является обязательным условием для ранней диагностики и эффективного лечения. Вероятность развития гиперплазии эндометрия трудно определить для населения в целом, но вероятность развития рака тела матки увеличивается с возрастом [2, 70]. Заболеваемость раком тела матки неуклонно растет, что объясняется как снижением фертильности, так и увеличением избыточной массы тела [71]. Несмотря на то, что развитие атипичной гиперплазии эндометрия и прогрессирование рака эндометрия тесно связаны как с избытком эстрогена, так и с ожирением, множество других факторов также могут играть роль, включая генетическую предрасположенность, репродуктивные факторы и воздействие окружающей среды [72].

Хотя подавляющее большинство случаев гиперплазии эндометрия и рака эндометрия являются спорадическими, существует несколько наследственных синдромов генетической предрасположенности, которые могут заметно увеличить риск развития гиперплазии и рака. Наиболее распространенным является синдром Линча, также известный как синдром наследственного неполипозного рака, который вызывается патогенным вариантом в одном из генов репарации ДНК (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 и EPCAM). Риск развития рака в этой популяции колеблется от 13 до 57% в зависимости от конкретного патогенного варианта [73, 74, 75]. Следует отметить, что существует относительно распространенное эпигенетическое изменение (метилирование MLH1), которое также может быть приобретенным, а не наследованным, что также увеличивает риск. Менее распространенные синдромы, такие как синдром Коудена (патогенный вариант PTEN) и синдром Пейтца-Егерса (патогенный вариант STK 11), также могут заметно повышать риск развития рака тела матки (на 9–28% и 9% риск соответственно) [76, 77].

Ожирение является одним из самых значимых факторов риска гиперплазии эндометрия и рака, и риск возрастает с увеличением степени тяжести [78, 79]. Например, в одном исследовании у женщин в пременопаузе риск гиперплазии эндометрия в контрольной группе соответствующего возраста показал увеличение в 2,3 раза у лиц с избыточной массой тела (ИМТ - 25–29,0 кг/м²), в 3,7 раза у женщин с ожирением (ИМТ 30–39 кг/м²), и 13-кратное увеличение числа женщин с морбидным ожирением (ИМТ 40 кг/м² или выше) [80]; многочисленные предыдущие обзоры продемонстрировали увеличение суммарных коэффициентов риска рака эндометрия в пределах от 1,39 до 1,62 на каждые 5 единиц увеличения ИМТ. Избыток эндогенного эстрогена, как полагают, является преобладающим фактором риска, связанным с ожирением, и происходит через несколько механизмов, включая хроническую ановуляцию, периферическое превращение андрогенов в эстрогены в жировой ткани и снижение уровня глобулина, связывающего половые гормоны, с последующим повышением уровня свободных стероидных гормонов. Кроме того, ожирение приводит к другим изменениям, которые, как предполагается, способствуют росту и потенциальному канцерогенезу, включая воспалительные и метаболические изменения [81].

Другие репродуктивные факторы могут увеличивать риск гиперплазии эндометрия независимо от ожирения, включая отсутствие родов в анамнезе, нерегулярные менструации, синдром поликистозных яичников (СПКЯ) (влечет за собой трехкратное увеличение риска), хроническую ановуляцию, пожилой возраст при первых родах и поздний возраст при менопаузе. Дополнительные механизмы, которые могут играть определенную роль, включают подавление регуляции генов, регулируемых прогестероном, гиперандрогению, гиперсекрецию лютеинизирующего гормона, повышение уровня глюкозы, гиперинсулинемию, резистентность к инсулину, увеличение инсулиноподобного фактора роста и воспалительные реакции, которые могут привести к активации нескольких связанных путей, ускоряющих рост опухоли [82, 83, 84]. Защитные факторы включают курение и использование комбинированных оральных контрацептивов [79, 85].

Адьювантная терапия рака молочной железы тамоксифеном значительно повышает риск развития рака эндометрия. Установлено, что рецепторы к эстрогенам подразделяются на две изоформы: α -изоформа экспрессируется преимущественно в тканях молочной железы, β -изоформа обнаружена в эндометрии и костях. Относящийся к классу селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов Тамоксифен, является преимущественно антагонистом α -изоформы и агонистом β -изоформы. Стимуляция тамоксифеном β -изоформы эстрагеновых рецепторов активирует пролиферацию эндометрия, что повышает риск развития рака эндометрия у пациенток, получающих в качестве адьювантной гормонотерапии рака молочной железы тамоксифен [86].

1.1.3. Основы профилактики и терапии гиперплазии эндометрия

Учитывая, что ожирение тесно коррелирует с развитием гиперплазии и рака эндометрия, было показано, что эффективные методы лечения ожирения снижают риск и даже эффективно лечат уже установленную гиперплазию [82]. У пациентов, у которых была гиперплазия эндометрия во время проведения бариатрической операции, обнаружено разрешение после оперативного лечения ожирения и последующей потери веса. Физические упражнения, даже при отсутствии потери веса, связаны со снижением заболеваемости раком $e4r$

Гормональные препараты обычно используются в этой группе пациентов для облегчения симптомов и снижения риска рака эндометрия. Оральные контрацептивы, если их принимать в течение 5 лет, могут снизить популяционный риск рака эндометрия на 50%. Аналогичным образом, у пациентов с СПКЯ использование гормональных препаратов было связано со снижением риска на 50–70%, которое увеличивается с увеличением продолжительности лечения [83].

Консервативное лечение атипичной гиперплазии эндометрия и рака тела матки с сохранением матки и придатков у женщин в пременопаузе с желанием деторождения достигло удовлетворительных результатов с точки зрения полного ответа, рецидива, частоты наступления беременности и ее вынашивания. Однако

имеющиеся доказательства неоднородны и имеют много ограничений. Лишь немногие исследования являются рандомизированными, контролируемые или нерандомизированными. Большинство доказательств основано на ретроспективных наблюдениях, которые вводят возможные искажения и систематические ошибки отбора [88].

К настоящему времени существуют варианты консервативного лечения атипичной гиперплазии эндометрия и рака тела матки у женщин в пременопаузе, желающих иметь детей, чтобы сохранить их фертильность. Тем не менее, первичная хирургия, основанная на гистерэктомии и двусторонней аднексэктомии, по-прежнему рекомендуется в качестве терапии первой линии [56]. Любое лечение, сохраняющее фертильность, потенциально может иметь худшие онкологические исходы из-за персистенции или рецидива заболевания, чем состояние после гистерэктомии. Следовательно, обязательным является тщательное наблюдение [34, 55, 89].

Согласно современным данным не существует уникального протокола, сохраняющего фертильность, для лечения атипичной гиперплазии эндометрия и рака тела матки. Применение пероральных прогестинов является наиболее распространенным консервативным лечением, имеющим доказанную эффективность. На фоне терапии прогестинами отмечается высокая частота ответа на терапию, с одной стороны. Но, с другой стороны, отмечается высокий риск рецидивов, а системные проявления терапии могут снизить приверженность женщин к лечению [34, 56].

Для снижения нежелательных проявлений системной терапии прогестеронами применяют внутриматочные гормональные релизинг-системы, что в комбинации с пероральными прогестинами, агонистами (ГнРГ) или метформинном способствует снижению риска рецидива рака эндометрия и повышает частоту наступления беременности [34, 56]. Существуют доказательства, что проведение гистероскопической резекции перед местной или системной прогестиновой терапией с агонистом гонадотропин-релизинг-гормона или без него, повышает эффективность лечения рака эндометрия [56].

Независимо от выбранного лечения, сохраняющего фертильность, тщательное наблюдение является обязательным для всех пациентов, находящихся на консервативном лечении в связи с риском рецидива опухоли [90]. Применение поддерживающей терапии прогестероном или наступление беременности после полного ответа на лечение оказывает благоприятное действие, снижая риск рецидивов рака тела матки [91, 92].

Важным наблюдением представляется факт, что рецидив рака тела матки снижает вероятность наступления беременности, снижая вероятность зачатия на 80% [93]. В ретроспективном исследовании, в котором приняли участие 68 женщин после фертилоберегающей терапии, наблюдалась более низкая частота рецидивов в группе беременных по сравнению с группой без беременности — 16,7% и 40,6% соответственно. В данном исследовании установлены важные предикторы наступления беременности, к каковым относятся нормальный ИМТ, короткий период до полного ответа на терапию, меньшее количество гистероскопических вмешательств и большая толщина эндометрия [93].

После рождения ребенка в случаях отсутствия ответа на гормональную терапию или развития рецидива рака эндометрия рекомендуется проведение гистерэктомия [56]. В некоторых исследованиях показаны хорошие результаты лечения злокачественного новообразования и возможность наступления беременности после консервативного лечения рецидивов [51, 94]. Тем не менее, необходима осторожность, поскольку имеются ограниченные доказательства, а также продемонстрирована более низкая 5-летняя безрецидивная выживаемость [94]. В будущем необходимы более однородные и лучше спланированные, возможно, многоцентровые исследования для стандартизации критериев, отвечающих критериям отбора, первичного лечения поражения и последующего наблюдения для консервативного лечения рака эндометрия с сохранением фертильности.

1.2. Роль никотиновых ацетилхолиновых рецепторов при онкологических процессах

Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (нАХР) представляют собой лиганд-зависимые катионные каналы, состоящие из пяти субъединиц - α , β , δ , ϵ или γ [95, 96]. В основном они находятся в плазматической мембране различных клеток, но также и во внешней митохондриальной мембране [96, 97]. Структура каждой субъединицы состоит из четырех трансмембранных доменов и варибельной цитоплазматической петли между третьим и четвертым трансмембранными доменами, в то время как N- и C-концевые домены расположены во внеклеточном пространстве. Описаны десять изоформ α -субъединицы ($\alpha 1$ – $\alpha 10$), четыре β -субъединицы ($\beta 1$ – $\beta 4$) и по одной γ , δ и ϵ субъединицы [98]. Важнейшее отличие α субъединиц от других состоит в том, что первые содержат дисульфидную связь, необходимую для связывания агонистов в так называемом ортостерическом участке [98]. Нейрональные нАХР бывают гомомерными или гетеромерными и состоят из различных изоформ α и β субъединиц. Гомомерные нАХР состоят из пяти одинаковых α субъединиц, в то время как гетеромерные нАХР состоят из комбинаций α и β субъединиц. Эволюционно наиболее древними нАХР считаются гомомерные $\alpha 7$ нАХР [99]. Субъединичный состав нАХР определяет его функцию. Например, гомомерный $\alpha 7$ нАХР участвует в быстрой синаптической передаче, в то время как гетеромерный $\alpha 7\beta 2$ нАХР проявляет метаботропные свойства и действует в более медленных временных интервалах [100]. Мышечные нАХР расположены в нервно-мышечных соединениях и состоят из двух $\alpha 1$ -субъединиц: $\beta 1$, γ/ϵ и δ субъединицы. Развивающаяся мышца нАХР характеризуется γ субъединицей, а зрелая мышца нАХР характеризуется ϵ субъединицей [101]. Место ортостерического связывания в основном расположено на α субъединицах, хотя соседняя субъединица необходима для заполнения кармана связывания лигандов. Таким образом, гомомерные нАХР обладают максимальным числом сайтов связывания.

В формировании ортостерического сайта связывания участвуют специфические участки внеклеточного домена α субъединицы, называемые петлями А, В и С, а также петли D, Е и F соседнего субъединицы внеклеточного домена [102]. Субъединицы $\alpha 7$, $\alpha 8$, $\alpha 9$ и $\alpha 10$ являются единственными α субъединицами, которые до сих пор образовывали гомомерные nAChR рецепторы, хотя они также могут образовывать гетеромерные структуры [103]. Важно понимать, что изменение одной субъединицы пентамерного nAChR может оказывать глубокое влияние на ионопроводящую функцию рецептора, будь то с точки зрения кинетических параметров, ионной селективности, специфичности лиганда или передачи сигнала [104]. Аминокислотные остатки в петле Е в связывающем кармане не сохраняются между различными субъединицами, и было высказано предположение, что различие в их полярности влияет на изменчивость сродства связывания лигандов [102]. Эти вариабельности являются основой функциональной универсальности nAChR в разных тканях.

Наиболее изученной функцией nAChR является быстрая синаптическая передача. Связывание ацетилхолина или другого агониста, например, никотина, с nAChR приводит к конформационному изменению рецептора [97, 105], что открывает ионный канал и обеспечивает приток катионов, главным образом Na^+ и Ca^{2+} , из внеклеточного пространства в клетку. Таким образом, отрицательный заряд на цитозольной стороне плазматической мембраны уменьшается, что приводит к деполяризации мембраны. Другим следствием является открытие потенциал-зависимых ионных каналов на цитозольной стороне, что приводит к дополнительному притоку Ca^{2+} [95]. Также важно отметить, что разные подтипы nAChR имеют разную проницаемость к Ca^{2+} . Показано, что гомомерные $\alpha 7$ или $\alpha 9$ nAChR и гетеромерные $\alpha 9\alpha 10$ nAChR обладают наибольшей проницаемостью Ca^{2+} [106].

Никотин и производные никотина могут связываться с nAChR и стимулировать те же эффекты, что и физиологический нейромедиатор. В последнее время в качестве эндогенных модуляторов nAChR были предложены длинноцепочечные ненасыщенные ацетилхолины [97, 107]. В предыдущих исследованиях также были

обнаружены белки семейства Ly-6, такие как lynx1, lynx2, SLURP-1, SLURP-2, PSCA и Pate-B в качестве физиологических модуляторов nAХР [108, 109]. Их структура напоминает токсины яда трехпалой змеи, такие как α -бунгаротоксин – до сих пор самый известный антагонист nAХР [110]. В последние годы было открыто несколько новых природных антагонистов nAХР, например, α -конотоксины [111], полимеры 3-алкилпиридиния [112] и противопаразитарный монотерпеноид фенолкарвакрол из эфирных масел растений [113], все из которых имеют потенциальную терапевтическую ценность. Кроме того, существует несколько аллостерических модуляторов, которые прикрепляются к участкам, отличным от ортостерического сайта, называемых аллостерическими сайтами. Как правило, эти модуляторы не проявляют свои эффекты независимо друг от друга, а вместо этого регулируют эффекты агонистов или других аллостерических модуляторов или антагонистов [101].

На протяжении десятилетий считалось, что nAХР экспрессируются только в нервной системе и в нервно-мышечных соединениях. Затем их экспрессия была обнаружена и в опухолевых клетках при раке легкого, поэтому было высказано предположение об их участии в регуляции роста раковых клеток, что было подтверждено пониманием роли nAХР в регуляции апоптоза [114]. В настоящее время установлено, что nAХР экспрессируются в различных клетках и тканях млекопитающих, а не только в нервной ткани [114]; данные рецепторы принимают участие в регуляции пролиферации клеток, миграции, дифференцировки и, следовательно, в случае злокачественного новообразования - роста опухоли, ангиогенеза и метастазирования [115].

Рассмотрим роль nAХР в развитии и прогрессировании рака. Обсуждается возможная функциональная значимость различий в уровнях экспрессии субъединиц nAХР в нормальных и опухолевых клетках, что может открыть новые направления исследований для лучшего понимания важности состава субъединиц nAХР.

Самые высокие показатели смертности из онкологических заболеваний показывают рак легких, молочной железы, печени, шейки матки, колоректальный

рак и рак желудка [116]. В полногеномном исследовании были проанализированы 317139 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в образцах рака легкого и 2625 контрольных нераковых образцов от лиц из шести стран Центральной Европы [117]. Несколько SNP в хромосомной области 15q25, содержащей кластер из трех генов, кодирующих субъединицы nAChR ($\alpha 3$ -nAChR, $\alpha 4$ -nAChR, $\alpha 5$ -nAChR), были тесно связаны с более высоким риском развития рака легкого. Несколько последующих исследований, пытавшихся соотнести курение с этими SNP, дали, однако, противоположные результаты. Например, из SNP rs8034191, rs16969968 и rs1051730 все три тесно связаны с высоким риском развития рака легкого, но только третий был ассоциирован с курением [117], а первые два не показали такой взаимосвязи [118]. В последнее время также были проведены клеточные и молекулярные анализы, подтверждающие связь между определенными SNP и более высоким риском развития рака легкого [119], что подтверждает значимость nAChR при опухолевых процессах.

Экспрессия субъединиц $\alpha 2$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, $\alpha 9$ и $\alpha 10$ была показана в иммунных клетках, где они, по-видимому, регулируют иммунный ответ [120]. Дендритные клетки, обработанные никотином, показали меньшую способность стимулировать антигенпрезентирующие клеточно-зависимые Т-клеточные ответы [121]. Иммуносупрессивные эффекты также наблюдались при стимуляции $\alpha 7$ nAChR, экспрессируемых на Т-клетках и антигенпрезентирующих клетках. С другой стороны, было обнаружено, что В-клетки требуют экспрессии $\alpha 4$, $\alpha 7$ и $\beta 2$ субъединиц для их пролиферации, созревания и продукции иммуноглобулинов класса G [122]. Одним из последствий реакции иммунной системы на рак является собственно ассоциированное с новообразованием воспаление, которое, как это ни парадоксально, способствует геномной нестабильности, эпигенетической модификации и индукции пролиферации опухолевых клеток, активации антиапоптотических путей и ангиогенеза [123]. Тем не менее, nAChR были связаны с противовоспалительным эффектом, который регулируется через сигнальный путь $\alpha 7$ nAChR, модулирующий выработку цитокинов. Важно подчеркнуть, что связь между онкозаболеванием и nAChR, расположенными на иммунокомпетентных

клетках, которые опухолевые клетки могут использовать для уклонения от иммунного надзора или оказания противовоспалительного действия, еще предстоит понять [122].

Тем не менее, влияние передачи сигналов нАХР на прогрессирование рака, по-видимому, значительно сложнее, чем предполагалось изначально. При изучении участия нАХР в развитии онкопроцесса необходимо учитывать важность комбинаций нАХР, так как разница только в одной субъединице нАХР может полностью изменить функциональность других нАХР [124]. Более того, тот или иной лиганд может по-разному связываться с нАХР, способствуя активации или, наоборот, выступать в роли конкурентного антагониста [125]. Такое действие было продемонстрировано, например, в нескольких исследованиях, сообщающих о противоположных эффектах никотина на апоптоз [126, 127]. Фрагментация ДНК и фосфорилирование р53 индуцируются высокими дозами никотина [128]. Кроме того, воздействие на эпителиальные клеток бронхов никотином индуцировало апоптоз и старение через опосредованное активными формами кислорода нарушение аутофагии [129]. Показано, что лечение промиелоцитарных клеток лейкоза человека HL-60 никотином частично останавливает клеточный цикл в фазе G1 и влияет на синтез белков *de novo* [130]. Тем не менее, в данных работах применялись концентрации никотина выше, чем те, которые использовались в большинстве исследований, демонстрирующих эффекты, способствующие пролиферации клеток.

Особенности экспрессия нАХР при онкологических процессах

Ранее проведенные исследования продемонстрировали, что далее передаваемые сигналы от нАХР могут отличаться в разных типах клеток и тканях, между нормальными и злокачественными клетками, или даже может зависеть от состояния клеточного цикла и клеточной среды [124]. Поскольку было продемонстрировано, что даже незначительное изменение в одной субъединице нАХР может значительно влиять на функцию рецептора [124], очевидно, что к

важности состава субъединиц nAChR следует относиться очень серьезно. Например, человеческая $\alpha 5$ -субъединица была собрана совместно с $\alpha 3\beta 2$ или $\alpha 3\beta 4$ субъединицами, и влияние такой рекомбинации на функциональность nAChR было изучено в ооцитах *Xenopus*. Присутствие $\alpha 5$ -субъединицы повышало десенсибилизацию и проницаемость Ca^{2+} обоих субъединичных комплексов, которые, в свою очередь, были сопоставимы с таковыми у $\alpha 7$ -пентамеров [124]. Кроме того, субъединицы $\alpha 6$ и $\beta 3$ показали более высокие уровни экспрессии в клетках немелкоклеточного рака легкого некурящих, чем в клетках курильщиков [131]. Кроме того, гетеромерные nAChR могут существовать в различных стехиометриях. Например, $\alpha 3\beta 4$ nAChR может состоять либо из трех α , либо из трех β субъединиц соответственно [132]. То же самое справедливо и для $\alpha 4\beta 2$ nAChR [133], в то время как $\alpha 7\beta 2$ nAChR может состоять из одной, двух или трех $\beta 2$ -субъединиц [134]. Это говорит о том, что существует большое разнообразие nAChR, играющих различные физиологические роли, специфичные для определенных клеток, тканей или рака.

Поэтому в некоторых случаях стимуляция с помощью nAChR может быть специфично нацелена на опухолевые клетки, не затрагивая окружающие здоровые ткани, что идеально подходит для разработки лекарств. Таким образом, некоторые антагонисты nAChR уже показали терапевтический потенциал в сочетании с существующими химиотерапевтическими препаратами или ионизирующим излучением [93].

Субъединица $\alpha 5$, по-видимому, особенно важна при опухолевых процессах. Ранее гиперэкспрессия $\alpha 5$ -субъединицы при раке легкого коррелировала с более низкой выживаемостью пациентов [135]. Повышенные уровни $\alpha 5$ -субъединицы в опухолевых клетках были обнаружены после воздействия никотином [136], даже при воздействии низких доз никотина, представляющих собой пассивное курение [137].

В последнее время экспрессию $\alpha 5$ -субъединицы также связывают с эндотелиально-мезенхимальным переходом (EMT) и миграцией клеток [138]. Соответственно, нокдаун $\alpha 5$ nAChR-субъединицы в клетках рака предстательной

железы приводил к снижению пролиферации и миграции клеток и даже индукции апоптоза [136, 138]. Кроме того, было показано, что $\alpha 5$ -субъединица участвует в формировании неортодоксальных сайтов связывания с отличительной селективностью лигандов [139], что может быть важным фактором, способствующим регуляции и передаче сигналов о раке и, таким образом, способствующим прогрессированию заболевания [140].

Несколько исследований с участием больных раком молочной железы показали более высокую экспрессию $\alpha 9$ -субъединицы в опухолевых клетках по сравнению с нормальными клетками [141]. Это также верно для субъединицы $\alpha 7$, которая ранее описывалась как особенно важная и повышенная в клетках рака легких [142]. Однако гиперэкспрессия $\alpha 7$ нАХР при немелкоклеточном раке легкого также была связана с повышенной выживаемостью пациентов по графикам Каплана-Мейра [135]. Было высказано предположение, что в ранней фазе онкогенеза немелкоклеточного рака легкого $\alpha 7$ нАХР значительно экспрессируется, что обеспечивает быстрый рост клеток и ангиогенез, в то время как в дальнейшем экспрессия $\alpha 7$ нАХР снижается [135]. Это говорит о том, что экспрессия субъединиц нАХР регулируется и даже различается на разных стадиях рака.

Субъединицы $\alpha 2$ и $\alpha 4$, по-видимому, повышены в нормальных клетках по сравнению с опухолевыми, позволяющее предположить, что они подавлены при раке и могут быть вовлечены в защитные механизмы, направленные против опухолевого процесса. Поэтому при разработке препаратов на основе нАХР следует обращать внимание на субъединицы рецепторов, экспрессия которых повышается в нормальных клетках, окружающих опухолевую ткань, чтобы свести к минимуму побочные эффекты.

Продемонстрирован синергетический эффект между нАХР и факторами роста, такими как эпидермальный фактор роста (EGF) и инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I), приводящий к более сильной индукции пролиферации клеток бронхиального эпителия человека по сравнению с их обычной активностью [143].

Только недавно были проведены исследования, которые выявили связь между нАХР и аутофагией. Было высказано предположение, что $\alpha 7$ нАХР может

опосредовать баланс между апоптозом и аутофагией в хрящевой ткани коленного сустава при остеоартрите [21]. В другом исследовании было показано, что низкие дозы никотина способствуют аутофагии и ингибируют апоптоз кардиомиоцитов за счет повышения регуляции фермента гемоксигеназы-1 [144]. Кроме того, было показано, что $\alpha 7$ nAChR усиливает аутофагию моноцитов/микроглии, что, в свою очередь, подавляет нейровоспаление [145].

В последнее время сообщалось, что $\alpha 7$ nAChR также действует с помощью внеклеточных везикул. Было высказано предположение, что внеклеточные везикулы, секретируемые клетками меланомы, несут рецепторную mRНК, которая в дальнейшем стимулировала экспрессию $\alpha 7$ nAChR на кератиноцитах и их пролиферацию [146]. Сообщалось также, что гипоксия повышает уровни экспрессии $\alpha 7$ nAChR и ацетилхолина [147]. По-видимому, nAChR участвуют в комплексной регуляции различных сигнальных каскадов, что позволяет предположить, что сигнализация, связанная со стимуляцией различных подтипов nAChR в разных тканях и типах рака, может быть вариабельной.

Митохондрии являются важными клеточными органеллами, которые обеспечивают энергию, необходимую для жизнедеятельности клеток. Они также регулируют гомеостаз Ca^{2+} и апоптоз. Митохондриальная дисфункция, если она не слишком тяжелая, связана с развитием опухолевого заболевания [148]. Было показано, что никотин проникает в клетку и конкурирует с NADH за связывание с комплексом I в митохондриальной дыхательной цепи, уменьшая генерацию активных [149]. До сих пор не до конца понятно, как никотин попадает в клетку, но предполагается участие протон-связанного транспортера [150]. В другом исследовании никотин был способен уменьшать отек митохондрий и высвобождение цитохрома C, индуцированное нейротоксинами [151]. Сообщалось также, что хроническое воздействие никотина на крыс регулирует экспрессию генов компонентов митохондриальной цепи переноса электронов [152]. Недавно было показано, что кверцетин, антиоксидант, поглощающий свободные радикалы, уменьшает митохондриальную дисфункцию и окислительный стресс через $\alpha 7$ nAChR/Nrf2/НО-1 опосредованный путь [153].

НАХР локализованы на митохондриях, в частности, в наружной митохондриальной мембране были обнаружены $\alpha 3\beta 2$, $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 7$, $\alpha 7\beta 2$, $\alpha 9$, $\alpha 9\alpha 10$, $\alpha 3\beta 4$, $\alpha 4\beta 4$ и $\alpha 9\beta 4$ НАХР [154, 155]. До этого открытия внутриклеточные НАХР считались либо незрелыми, либо нефункциональными. Митохондриальные НАХР связаны с регуляцией образования пор митохондриальной проницаемости (mPTP) и высвобождением цитохрома С [156]. Данные свидетельствуют о том, что в условиях стресса митохондриальные НАХР функционируют не как классические ионные каналы, а взаимодействуют с интрамитохондриальными киназами.

Было высказано предположение, что НАХР плазматической мембраны в основном участвуют в стимуляции клеточной пролиферации при связывании с агонистом, в то время как митохондриальные НАХР ингибируют открытие mPTP, тем самым предотвращая апоптоз. Более того, было замечено, что при злокачественной трансформации клеток легкого увеличивается количество митохондриальных НАХР и, следовательно, способность ингибировать открытие mPTP [143].

Связь между составом субъединиц НАХР и функцией актуальна и в случае митохондриальных НАХР. Было высказано предположение, что разнообразие субъединиц НАХР позволяет стимулировать несколько различных сигнальных путей, приводящих к одному и тому же результату, и что наличие нескольких гетеромерных подтипов рецепторов обеспечивает митохондриальную резистентность к различным экзогенным и эндогенным проапоптотическим агентам [157].

1.3. Антагонисты никотиновых ацетилхолиновых рецепторов и их противоопухолевый потенциал

Резистентность к лечению является одной из самых больших проблем в терапии злокачественных новообразований, поскольку она ограничивает эффективность противоопухолевой терапии и замедляет выздоровление пациента [158]. Воздействие табачного дыма и никотина было связано с повышенной

резистентностью к химиотерапии [159]. Недавно было обобщено nAHR-зависимое влияние на химиотерапевтические препараты [158]. Фактические данные свидетельствуют о том, что терапия на основе антагонистов nAHR в сочетании с традиционной химиотерапией является лучшим подходом, делая опухоли более восприимчивыми к более низким дозам химиотерапевтических агентов и избегая их токсичности при более высоких дозах. Такой подход может быть особенно полезен для лечения опухолей с гиперэкспрессией nAHR [158]. Хорошим примером являются глиомы и недавно использованные пептиды, связывающие nAHR, оказались полезным инструментом для доставки лекарств через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) путем нацеливания высокоэкспрессированных nAHR на эндотелиальные клетки капилляров опухоли головного мозга [160]. Кроме того, были разработаны новые наночастицы, нацеленные на гиперэкспрессию nAHR на клетках ГЭБ и глиомы, и их эффективное таргетное воздействие было доказано *in vivo* [161, 162].

Антагонисты nAHR связываются с соответствующими рецепторами и блокируют связывание никотина и других агонистов или ослабляют их действие. Конкурентные антагонисты взаимодействуют с тем же сайтом связывания в рецепторе, что и агонисты. Напротив, у большинства природных антагонистов nAHR место связывания на рецепторе не пересекается с местом связывания агонистов. Они опосредованно подавляют действие агонистов [105]. Например, в результате неконкурентного связывания антагониста с nAHR соседние субъединицы рецептора смыкаются, препятствуя их «скручиванию», необходимому для открытия ионной поры [163].

Связываясь с nAHR, неконкурентные антагонисты также могут физически препятствовать связыванию агонистов или прохождению катионов через ионную пору. При этом показано, что агонисты в очень высоких концентрациях также как неконкурентные антагонисты могут взаимодействовать с сайтами связывания и предотвращать поток ионов [164].

Большинство известных природных антагонистов nAHR являются растительными продуктами и токсинами животного происхождения, однако также

было показано, что секретируемый трехпетельный белок человека SLURP-1 блокирует nAХР-стимулированную пролиферацию и миграцию опухолевых клеток [146]. Наиболее известными антагонистическими соединениями nAХР растительного происхождения являются метилликаконитин (MLA), дитерпеноидный алкалоид, обнаруженный во многих видах *Delphinium* [165], и алкалоиды кураре, такие как D-тубокурарин из тропического вида деревьев *Chondrodendron tomentosum* [166]. В последнее время были описаны и другие курареподобные алкалоиды, которые действуют как антагонисты nAХР, такие как бисбензилизохинолиновые алкалоиды (BBIQA) [167, 168]. Алкалоиды, выделенные из *Erythrina* sp., такие как эритралин и эритрамин, также были известны в течение десятилетий своей курареподобной активностью [169]. Было обнаружено, что терпеновый борнеол, основной компонент дерева *Dryobalanops aromatica* или широко известного как камфорное дерево, является неконкурентным антагонистом nAХР [170]. Микрогревиапин А, пиперидиновый алкалоид из *Microcos paniculate*, показал антагонистическое действие на $\alpha 3\beta 4$ и $\alpha 4\beta 2$ nAХР и селективную цитотоксическую активность на клетки рака толстой кишки по сравнению с нормальными клетками толстой кишки [171]. Кроме того, было обнаружено, что новые алкалоиды - 3,5-бис-(1-метил-пирролидин-2-ил)-пиридин и пара диастереомеров 1,1'-диметил-[2,3']бипирролидинила, выделенные из корней *Nicotiana tabacum*, являются антагонистами $\alpha 4\beta 2$ nAХР [172]. Было обнаружено, что мультитаргетный препарат каннабидиол, терпеноидное соединение из марихуаны, не обладающее психоактивными эффектами, ингибирует $\alpha 7$ nAХР [98]. Синоменин, алкалоид из корня вьющегося растения *Sinomenium acutum*, является антагонистом $\alpha 7$ nAХР и, в свою очередь, уменьшает пролиферацию и миграцию клеток рака легких и даже увеличивает процент апоптотических клеток [173].

Наиболее известными токсинами животного происхождения, которые действуют антагонистически на nAХР, являются α -нейротоксины змеиного яда, например, конкурентные антагонисты nAХР от элапидных змей, такие как α -бунгаротоксин тайваньского полосатого крайта (*Bungarus multicinctus*) или α -кобротоксин из яда различных видов кобр, таких как *Naja kaouthia* [174].

Морские токсины, в частности, оказались богатым источником антагонистов nAHP. Наиболее изученными среди них являются конотоксины [175, 176].

В последние годы исследования сосредоточены на создании синтетических аналогов природных антагонистов nAHP, действующих селективно на определенные типы рецепторов, для повышения эффективности рецепторов и уменьшения нежелательных побочных эффектов на организмы при использовании в качестве лекарственных препаратов. Конопектиды, полученные из природных α -конотоксинов, вызвали большой интерес благодаря своему большому разнообразию и селективности, которая уже в меньшей степени присутствует в природных соединениях. Было показано, что эти пептиды являются мышечными или нейрональными nAHP-специфичными и видоспецифичными. Они даже могут различать определенные подтипы nAHP [175, 176]. Селективность конопептидов может быть дополнительно усилена путем введения специфических мутаций либо путем химического синтеза, либо с помощью рекомбинантной технологии [177], либо путем димеризации [178].

В недавнем обзорном документе сообщалось о 224 патентных документах, связанных с конотоксинами или конопептидами, и представлялись их многочисленные применения [179]. Показано, что α O-конотоксин GeXIVA из конусной улитки *Conus generalis* состоит из последовательности Arg-Arg-Arg-Arg (RRRR) и обладает высокой селективностью к $\alpha 9\alpha 10$ nAHP [180]. Показано, что остатки Arg и Lys важны для связывания с nAHP [181]. Кроме того, остатки Arg играют решающую роль в действии «крышки», которое закрывает отверстие канала nAHP [182]. Кроме того, сообщалось, что синтезированные олигопептидные лиганды, такие как олиго-Arg [248], олиго-Lys и олиго-His, оказывают ингибирующее действие на nAHP, особенно $\alpha 7$ и $\alpha 9\alpha 10$ nAHP [183]. Эти катионные полимеры привлекли дальнейший исследовательский интерес, поскольку они биоразлагаемы и могут быть использованы в качестве внутриклеточных инструментов доставки лекарств [183]. Многие из синтетических антагонистов nAHP проявляют терапевтический потенциал, а некоторые из них вступили в доклиническую или клиническую стадию исследований [136, 184].

До сих пор антагонисты nAChR и их радиоактивные или флуоресцентные производные в основном использовались для определения nAChR и в качестве молекулярных инструментов при изучении nAChR-опосредованных сигнальных путей. Они также были очень полезны в структурных исследованиях, например, для определения аминокислотных остатков, которые важны для селективного связывания лигандов с отдельными субъединицами nAChR [185]. Тем не менее, влияние антагонистов nAChR на nAChR-опосредованные сигнальные пути до сих пор в значительной степени не определено. Например, APS-8, синтетического аналога природного поли-APS, который, как было показано, индуцирует апоптоз в клеточных линиях рака легкого A549 и SK-MES [186].

Очевидным способом изучения существующих nAChR-действующих препаратов в терапии опухолевых заболеваний является их тестирование на опухолевых клетках *in vitro*, а также на животных моделях опухолевых процессов. Однако применение антихолинергических препаратов осложняется возникновением побочных эффектов, которые могут негативно влиять на наше здоровье даже спустя десятилетия после лечения [187]. Это связано с повсеместной экспрессией nAChR и их участием в регуляции множества различных физиологических процессов [188]. Это предостережение, на которое следует обратить особое внимание при разработке препаратов nAChR для медицинского применения. Повышение их специфичности, чтобы воздействовать только на определенные субъединицы nAChR или их определенные комплексы с помощью дизайна лекарственного препарата, имеет решающее значение.

При изучении nAChR для лекарственного таргетирования при различных заболеваниях часто упрощают сложный физиологический механизм их действия и регуляции, сосредотачиваясь исключительно на терапевтических аспектах. Однако понимание физиологической регуляции не только экспрессии nAChR, но и их сборки, транспорта и активации, специфичных для различных составов nAChR, имеет решающее значение для совершенствования методов исследования в поисках новых терапевтических средств [189].

Поскольку вспомогательные белки различаются не только в регуляции различных составов nAChR, но и в разных тканях [189], они потенциально могут проявлять специфичность и для опухолевых тканей. Понимание регуляции этих механизмов в отношении опухолей представляет собой важный следующий шаг на пути к более эффективному таргетированию лекарственных препаратов.

Таким образом, учитывая экспрессию nAChR в различных организмах, включая клетки и ткани млекопитающих, бактерии, водоросли и растения, что предполагает наличие консервативных регуляторных механизмов, неудивительно, что они играют решающую роль в определении выживаемости или гибели клетки. Эта связь тесно связана с регуляцией роста и прогрессирования опухоли. Сложность этой регуляторной системы также создает риск при манипулировании холинергической системой при лечении различных патологических процессов. Передача сигналов, опосредованная nAChR при онкопроцессе, очень сложна, отчасти из-за участия различных субъединиц рецепторов в конкретных типах рака. Например, анализ дифференциальной экспрессии субъединиц nAChR в нормальных клетках по сравнению с опухолевыми клетками выявил повышенные уровни $\alpha 5$ -субъединицы при различных видах рака, что свидетельствует о терапевтическом потенциале селективного воздействия субъединиц-связывающего вещества $\alpha 5$ nAChR на опухолевые клетки. Понимание механизмов, регулирующих состав субъединиц и тканеспецифическую модуляцию функции nAChR с помощью вспомогательных белков, остается сложным, но имеет решающее значение для расширения терапевтических возможностей. Важно определить, манипулирует ли механизм канцерогенеза этими вспомогательными белками для достижения экспрессии, сборки, транспортировки и/или активации специфических комбинаций субъединиц nAChR. Это может предоставить новые терапевтические подходы для лечения онкологических заболеваний. Манипулирование вспомогательными белками nAChR, которые могут различаться в разных тканях и, возможно, в опухолевых тканях, представляет собой еще одну возможность для селективного таргетирования. Однако, основываясь на современных знаниях, наиболее эффективное использование противоопухолевых препаратов на основе nAChR, по-

видимому, заключается в комбинации с традиционной химиотерапией или лучевой терапией, повышая восприимчивость опухолей к более низким дозам обычных препаратов.

Предыдущие исследования показали, что экспрессия nAChR ассоциирована с развитием различных злокачественных новообразований: с раком мочевого пузыря [13], толстого кишечника [14], желудка [15], плоскоклеточного рака головы и шеи [16], поджелудочной железы [17], раком легкого [18], раке молочной железы. Однако понимание роли nAChR в развитии и прогрессировании гиперплазии эндометрия и рака тела матки ограничено.

В настоящее время проведены единичные исследования взаимосвязи субъединиц nAChR с развитием гинекологических злокачественных новообразований. В частности, было продемонстрировано, что субъединицы nAChR $\alpha 3$, $\alpha 9$, $\alpha 10$ и $\beta 4$ сверхэкспрессируются в опухолевых клетках при раке шейки матки по сравнению с таковыми в нормальных клетках. При этом конотоксины, блокирующие $\alpha 9\alpha 10$ или $\alpha 3\beta 4$ nAChR, были способны значительно ингибировать пролиферацию опухолевых клеток [190]. В другом исследовании показано, что субъединица $\beta 1$ -nAChR присутствовала в мембраносвязанной форме в нормальном и неопластическом плоском эпителии шейки матки *in situ*, но отсутствовала в подлежащей мезенхиме и даже в прилегающем столбчатом эпителии. Авторы сделали заключение, что холинергическая передача сигналов в нормальных физиологических условиях и стимулируемая никотином у курильщиков табака влияет на эпителиальный гомеостаз и неопластическую прогрессию шейки матки аналогично известным эффектам на эпителий рта, дыхательных путей и легких [191].

Влияние nAChR на развитие гиперплазии и рака эндометрия в настоящее время не изучалось. Но было показано, что активация $\alpha 7$ никотинового рецептора ацетилхолина замедляет развитие эндометриоза. Иммуноокрашивание $\alpha 7$ nAChR было значительно снижено в эндометриоидных эпителиальных клетках человека по сравнению с их аналогом в нормальном эндометрии. Уровни окрашивания $\alpha 7$ nAChR в очагах поражения отрицательно коррелировали с фиброзом поражений

и тяжестью дисменореи. Агонист $\alpha 7nAChR$ значительно препятствовал развитию эндометриоидных поражений на мышинных моделях [192].

1.4. Длинные некодирующие РНК и их роль в канцерогенезе

Около 2% генов всего генома организмов кодируют первичную аминокислотную последовательность белков. Также существуют некодирующие молекулы РНК, участвующие многочисленных биологических процессах организма, но при этом не имеющие функций трансляции белков [23]. К некодирующим РНК с различными функциями регуляции относятся микроРНК, малые интерферирующие РНК (миРНК), PIWI-взаимодействующие РНК (piRNA) и семейство длинных некодирующих РНК (lncRNA). lncRNA не обладают способностью кодировать белки, тем не менее играют важную роль в процессах жизнедеятельности клеток и организма [12], регулируя транскрипцию и трансляцию кодирующих генов, влияют на биологические процессы, в том числе и в опухолевых клетках [25].

MALAT1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1, ассоциированная с метастазированием аденокарциномы легких) является одним из первых идентифицированных членов семейства lncRNA и обозначается как LncRNA-MALAT1. LncRNA-MALAT1 располагается на 11q13.1 хромосоме человека и имеет длину около 8,7 kb [193]. Данный маркер показал тесную взаимосвязь с возникновением и прогрессированием многих злокачественных новообразований [194]. В частности, доказана значимая роль LncRNA-MALAT1 при развитии и прогрессировании злокачественных новообразований бронхолегочной системы и женской репродуктивной системы. Разнообразные механизмы канцерогенеза, в которых принимает участие lncRNA-MALAT1, определяют важную роль данного маркера для диагностики злокачественных новообразований, определения новых терапевтических мишеней и разработки эффективных и более безопасных лекарств.

Функциональная роль lncRNA в процессах жизнедеятельности организма, как физиологических, так и патологических, может зависеть от их первичной или вторичной структуры [195, 196]. LncRNA могут регулировать внутриклеточную передачу сигнала, тем самым влияя на пролиферацию опухолевых клеток – усиливая или, напротив ингибируя. Также lncRNA могут вызывать активацию апоптоза опухолевых клеток, регулировать их рост и метастазирование. Кроме того, LncRNA осуществлять эпигенетический контроль, влияя на экспрессию генов через активность микроРНК и активируя различные сигнальные пути [160, 197].

LncRNA выполняют ключевую роль в дифференцировке клеток, отборе клеточных линий, органогенезе и поддержании гомеостаза в тканях. LncRNA через регуляцию экспрессии генов и, соответственно, метаболических процессов принимают участие в процессах адаптации клеток к изменениям во внешней среде [198].

Роль LncRNA в жизнедеятельности клеток также может регулироваться на уровне транскрипции, влияя на уровень экспрессии других генов или модифицируя активность транскрипционных факторов. Например, методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией определялась экспрессия гена CTD-3252C9.4 в культуре клеток рака поджелудочной железы. В результате был определен ген-мишень, подавляемый геном CTD-3252C9.4; и повышенная экспрессия этого гена-мишени может влиять на выживаемость и апоптоз опухолевых клеток [199]. Следовательно, транскрипция lncRNA может явиться сигналом, для факторов транскрипции других генов, что обеспечивает регулируемое изменение метаболизма в клетках.

Кроме того, LncRNA может экспрессироваться в кооперации белком апоптоза p53, тем самым блокируя транскрипцию и трансляцию других генов [200]. Данные факты указывают на то, что LncRNA могут играть либо стимулирующую, либо подавляющую роль в регуляции транскрипции эукариотических клеток.

Злокачественное новообразование - это многофакторное заболевание, в основе которого лежат множественные генные мутации, различные эпигенетические изменения, хромосомные изменения, проявляющиеся

делециями, дупликациями и транслокациями. Несмотря на отсутствие трансляции, lncRNA выполняют ключевые физиологические функции в различных клетках, влияя на экспрессию генов, рост и дифференцировка клеток [202]. Также как и в неизмененных клетках lncRNA регулируют различные патологические процессы в опухолевых клетках, включая пролиферацию, апоптоз и метастазирование. Гены, подвергшиеся мутациям в опухолевых клетках, могут инициировать неконтролируемую пролиферацию. Сравнительный анализ уровня экспрессии lncRNA MALAT1 в опухолевых и паранеопластических тканях при немелкоклеточном раке легкого показало ее сверхэкспрессию в раковых клетках, а также была продемонстрирована значимая роль данной некодирующей РНК в ингибировании пролиферации, миграции и инвазии клеток [202].

lncRNA-MALAT1 также конкурентно с микроРНК осуществляет регуляцию уровней экспрессии нижележащих генов [203]. Так, введение микроРНК SW480 приводило к депрессии экспрессии гена lncRNA-MALAT1, что сопровождалось увеличением количества апоптотических клеток и скорости программируемой гибели клеток [204]. Таким образом, lncRNA-MALAT1 воздействует на различные сигнальные пути и регулирует уровень экспрессии нижележащих генов, индуцируя пролиферацию опухолевых клеток, что приводит к неограниченному росту злокачественного новообразования в организме [25].

Способность клеток к регулируемому движению, с одной стороны, является одним из наиболее важных результатов эволюции. С другой стороны, характерным признаком злокачественных опухолей является способность к метастазированию. Показано, что lncRNA-MALAT1 может оказывать ингибирующее влияние на способность регулировать миграцию опухолевых клеток за счет повышения экспрессии гена-мишени microRNA432-5p [205]. Кроме того, блокирование пути lncRNA-MALAT1 может регулировать эпителиально-мезенхимальную трансформацию и противодействовать метастазированию опухоли [206].

Представленные факты свидетельствуют о том, что lncRNA-MALAT1 может выступать биомаркером риска метастазирования злокачественных новообразований, который может нивелировать усилия по профилактике

метастазирования опухолевых клеток. Это создает предпосылки для продолжения изучения роли lncRNA-MALAT1 при различных видах опухолевых заболеваний, в том числе и женской репродуктивной системы.

Злокачественные новообразования молочной железы, яичников, матки, влагалища, шейки матки и вульвы представляет значительную угрозу для здоровья женщины. LncRNA-MALAT1 может являться потенциальным биомаркером для диагностики и прогноза заболевания, а также возможной мишенью для создания новых лекарственных препаратов при лечении гинекологических опухолей [207]. Роль LncRNA-MALAT1 при опухолях женской репродуктивной системы изучалась в нескольких работах.

Так, блокирование lncRNA-MALAT1 значительно снижало уровень экспрессии фактора роста эндотелия сосудов в клетках инвазивной аденокарциномы протоков молочной железы. Было высказано предположение, что lncRNA-MALAT1 способствует ангиогенезу при раке молочной железы [208]. Следовательно, уровень lncRNA-MALAT1 способствует прогрессированию рака молочной железы, положительно коррелируя с пролиферацией и ростом клеток.

В другой экспериментальной работе показано, что экспрессия lncRNA-MALAT1 в клетках выше при раке шейки матки по сравнению с неизмененными образцами плоскоклеточного эпителия шейки матки. Также было высказано предположение, что lncRNA-MALAT1 стимулирует миграцию и пролиферацию клеток при раке шейки матки. Важным моментом является факт, что lncRNA-MALAT1 экспрессируется в плоскоклеточных клетках шейки матки серопозитивных по вирусу: напротив, не было отмечено экспрессии данного маркера отрицательных на вирус папилломы человека, клетках шейки матки.

LncRNA-MALAT1 была одной из первых LncRNA, которая была изучена при метастазировании и является прогностическим фактором выживаемости пациентов с ранними стадиями рака. Доклинические модели метастатических опухолей показали потенциал в качестве терапевтических мишеней для лечения опухолевых заболеваний.

Таким образом, в настоящее время доказано, что LncRNA-MALAT1 играет решающую роль в развитии и прогрессировании многих видов злокачественных новообразований [209]. Однако исследований по изучению роли LncRNA-MALAT1 при гиперплазии и раке эндометрия ранее не проводилось. Разработка таргетных препаратов, влияющих на активность lncRNA-MALAT1, и понимание механизмов их действия на основе понимания роли данной длинной некодирующей РНК в патогенезе опухолей женской репродуктивной системы, имеют жизненно важное значение для лечения злокачественных новообразований.

Гены в опухолевых клетках действуют через различные сигнальные пути, являясь многоцелевым и многосвязным регуляторным процессом [210]. Терапию злокачественных новообразований можно разделить одно- и мультитаргетную терапию. В первом случае противоопухолевые препараты могут блокировать только один сигнальный путь. В этом случае, с одной стороны, терапия может быть эффективна, но, с другой стороны, опухолевые клетки могут ускользать от лечения через активацию других сигнальных путей или даже активировать амплификацию других генов, что может привести к рецидиву заболевания и метастазированию опухоли. Напротив, эффект мультитаргетных ингибиторов превосходит эффект одностаргетных препаратов для лечения злокачественных новообразований [211], позволяющее предположить, что мультитаргетные ингибиторы, в том числе влияющие на экспрессию длинных некодирующих РНК должны быть дополнительно изучены при лечении злокачественных новообразований.

Злокачественные новообразования характеризуется высокой заболеваемостью и смертностью. Поэтому является перспективным проведение дальнейших исследований для выяснения механизмов, через которые lncRNA-MALAT1 реализует свой проонкогенный или противоонкогенный потенциал; оценить преимущества и потенциальные неблагоприятные эффекты блокирования экспрессии данного маркера и выбрать оптимальный метод подавления пролиферации и миграции опухолевых клеток.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Общая структура клинического материала

Проведено исследование на базах кафедры акушерства и гинекологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет): ГКБ №85 ФМБА России, ГБУЗ «ГКБ им. М.П. Кончаловского ДЗМ», Мытищинская Областная клиническая больница.

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией для исследований на людях и было одобрено Этическим комитетом.

В исследование включено 120 женщин репродуктивного возраста, которым по данным ультразвукового исследования органов малого таза, был поставлен диагноз «Гиперплазия эндометрия» с наличием и без клинических проявлений (аномальное маточное кровотечение из половых путей). Всем пациенткам проведены гистероскопия, раздельное диагностическое выскабливание полости матки и цервикального канала. В зависимости от гистологического заключения все пациентки разделены на три группы исследования: первая группа - женщины с гиперплазией эндометрия (n=58) (атипическая гиперплазия по данным гистологического исследования); вторая группа - пациентки с раком тела матки (n=14); третья группа – женщины с нормальным эндометрием (n=48).

Критерии включения в исследование:

1) Для женщин с гиперплазией эндометрия по данным ультразвукового исследования органов малого таза без клинических проявлений заболевания:

- Возраст от 18 до 49 лет;
- Подписанное письменное информированное согласие на участие в исследовании.

2) Для женщин с гиперплазией эндометрия по данным ультразвукового исследования органов малого таза с клиническими проявлениями заболевания:

- Возраст от 18 до 49 лет;

- Подписанное письменное информированное согласие на участие в исследовании;

- Аномальное маточное кровотечение (острое – кровотечение, требующее срочного оперативного лечения, хроническое – кровотечение, повторяющееся в течение 6 месяцев, межменструальное – в пред- и постменструальный период, а также в середине менструального цикла);

Критерии исключения из исследования:

1) женщины ювенильного, перименопаузального и постменопаузального периода;

2) наличие острых воспалительных и острых инфекционных заболеваний женской репродуктивной системы;

3) экстрагенитальная патология в стадии обострения;

4) рака эндометрия неэндометриоидного типа;

5) рак эндометрия, обусловленный наследственными синдромами (синдром Линча);

6) злокачественные новообразования иной локализации.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Общеклинические методы обследования

Единая методика обследования женщин включала сбор анамнеза, оценку жалоб, общий осмотр, оценку состояния репродуктивной системы, пальпацию молочных желез и расчет индекса массы тела.

Гинекологический осмотр проводили бимануальным методом с оценкой состояния наружных половых органов, шейки и тела матки, матки, а также определяли наличие болевого синдрома при осмотре. При необходимости пациентки осматривались другими специалистами для исключения серьезных сопутствующих экстрагенитальных поражений.

В процессе исследования анализировались следующие клинические и анамнестические данные: жалобы, возраст менархе, длительность менструального цикла и продолжительность менструаций, количественная характеристика менструаций, а также наличие болезненных ощущений при них; количество беременностей, родов и абортов в анамнезе, наличие бесплодия, ИМТ, наследственный онкологический анамнез; оценивался стаж курения и количество обычных или электронных сигарет в сутки, регистрировалось наличие соматических заболеваний (гипертонической болезни, заболеваний вен нижних конечностей, патологии бронхолегочной, пищеварительной и мочевыделительной системы, сахарного диабета 2 типа, заболеваний щитовидной железы). Также проводилась регистрация приема комбинированных оральных контрацептивов в анамнезе с оценкой длительности их приема и давность окончания их приема до включения женщин в исследование.

2.2.2. Ультразвуковое исследование

Ультразвуковое исследование матки позволяет оценить характер М-эха, которое интерпретировалось с учетом фаз менструального цикла

Эхографические признаки гиперплазии эндометрия

- УЗИ эндометрия проводилось на 5-7 день менструального цикла. Нормальный эндометрий характеризует гипозхогенность, однородность с толщиной 4-7 мм.
- При гиперплазии эндометрия его толщина увеличивается до 10-20 мм, эхогенность повышается. Трехслойная структура эндометрия, характерная для пролиферативной фазы, частично или полностью утрачивается. Эхогенная структура однородна и часто сопровождается множественными мелкими неэхогенными включениями (аденокистозный тип).
- Дистальнее гиперплазии эндометрия может наблюдаться эффект акустического усиления.

- Можно сделать вывод о наличии локализованной гиперплазии эндометрия, если эхогенная зона видна на фоне практически неизмененного эндометрия.

Эхографические признаки полипов эндометрия

- Овальное или круглое образование умеренной или повышенной эхогенности с четкой границей между полипом и окружающей тканью, обычно в виде эхогенного края.
- Может содержать эхогенную кистозную полость размером до 6мм.
- Размеры полипов сильно варьируют – от 5 мм до 40-60 мм (для аденофиброзных и аденоматозных полипов эндометрия)
- При небольших полипах эндометрия (<5 мм) диагностика затруднена, и единственным эхогенным признаком является деформация гиперэхогенных М-эхогенных структур по средней линии.

Эхогенные признаки рака эндометрия

При раке эндометрия, развившегося на фоне гиперплазии эндометрия:

- Толщина М-эхо превышает половину толщины матки.
- Отмечаются неровности эндометрия и контуры нечеткие.
- Регистрируется повышенная эхогенность и звукопроводимость
- Внутренняя эхоструктура гетерогенна
- Выявляется наличие включений внутренней жидкости
- Имеются признаки инфильтрации миометрия с неравномерным его истончением
- В полости матки может присутствовать жидкость
- В эндометрии определяется кровоток в виде множественных, часто беспорядочно расположенных цветовых локусов
- Регистрируется повышенная скорость кровотока в эндометрии при низком сопротивлении.

2.2.3. Исследования биопсийного материала эндометрия

Всем женщинам проводилась диагностическое выскабливание слизистой под гистероскопическим контролем с последующим морфологическим исследованием полученного материала. Гистероскопия проводилась с использованием эндоскопического оборудования по стандартной методике. Слизистую оболочку шейки и тела матки собирали отдельно путем кюретажа и фиксировали материал в 10% нейтральном формалине.

Срезы толщиной 5-6 мкм готовили путем заливки в парафин и окрашивали гематоксилин-эозином. Для гистологической диагностики использовали критерии, рекомендованные ВОЗ (2014 года).

1. При гиперплазии эндометрия без атипии отмечается увеличенная пролиферация желез без значительных клеточных изменений. Характеризуется различными по размеру и форме железами, расположенными неравномерно, с различной плотностью желез и стромы. Представленные железы могут быть сохранены в нормальной форме, ветвистыми или кистозно расширенными. Присутствуют повреждения стромы и локальные кровоизлияния.

2. При атипичной гиперплазии эндометрия определяются признаки клеточной атипии в сочетании с гиперплазией. Выявляются скопления скученных трубчатых с клеточными изменениями или ветвящихся желез, в которых железы превалируют над стромой.

3. Эндометриоидная аденокарцинома эндометрия является железистой опухолью с ацинарными, папиллярными или частично солидной структурой, в которой отсутствуют ядерные признаки серозной карциномы. Железы имеют сложную скученную ветвящуюся структуру чаще с гладким просветом. Цитоплазма опухолевых клеток эозинофильная или гранулярная. Сами клетки имеют умеренную ядерную атипию и вариативный митотический индекс.

При гистологическом исследовании определяются железистые или хорионические структуры, покрытые столбчатым эпителием со сложными, разветвленными структурами. Сами клетки, выстилающие просвет железы, чаще

столбчатые с общей апикальную границу с близлежащими клетками, просвет гладкий.

2.2.4. Оценка уровня экспрессии мРНК генов в тканях эндометрия

Экспрессия генов никотиновых ацетилхолиновых рецепторов

Всем женщинам дополнительно исследовался уровень экспрессии генов, кодирующих никотиновые ацетилхолиновые рецепторы ($\alpha 1$ -nAChR, $\alpha 3$ -nAChR, $\alpha 4$ -nAChR, $\alpha 5$ -nAChR, $\alpha 6$ -nAChR, $\alpha 7$ -nAChR, $\alpha 9$ -nAChR, $\beta 1$ -nAChR, $\beta 2$ -nAChR), в эпителии матки.

В исследовании мРНК выделяли с помощью тризолового реагента, а экспрессия генов никотиновых ацетилхолиновых рецепторов исследовали с помощью метода real-time ПЦР. В качестве материала для исследования использовали эндометрий, полученный в результате выскабливания полости матки, ЦУГ биопсии эндометрия и при пайпель-биопсии.

При заборе в образцы добавляли 1 мл раствора тризола с целью ингибирования работы РНКаз, затем производилась гомогенизация и быстрая заморозка образцов при температуре - 80С. Выделение тотальной мРНК производилось по протоколу Matz, 2002 г., синтез первой цепи кДНК по протоколу фирмы Евроген для проведения последующей амплификации. Уровень экспрессии nAChR определяли методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (RTQ-PCR) с использованием праймеров, специфичных для соответствующих никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. Условия проведения ПЦР следующие: 1 – предварительный нагрев 5 мин, 2 – 45 циклов (10 секунд – 95°, 30 секунд – 60°). Нормирование образцов кДНК проводили по контрольному гену АСТВ, кодирующему актин. Затем проводился анализ экспрессии генов никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в образцах.

Эффективность ПЦР реакции (E) для каждой пары праймеров рассчитывалась при помощи программного обеспечения амплификатора Real-Time

PCR Detection System CFX96 («Bio Red», USA). Относительная концентрация исследуемого гена рассчитывалась по формуле: $C_{rel\ target} = C_{target} / C_{ref} = (E_{ref})^{Ct_{ref}} / (E_{target})^{Ct_{target}}$.

Экспрессия генов lncROR и MALAT1

После получения биопсионного материала из него были взяты образцы ткани, которые затем погружали в стерильные пробирки. В каждую пробирку добавляли по 1 мл Тризола, гомогенизировали и замораживали при - 80°C. Выделение тотальной мРНК проводили в соответствии с протоколом Eurogen's Extract RNA Reagent BC032, а синтез кДНК первой линии - в соответствии с протоколом Eurogen's MMLV RTKitSK021. Экспрессию декодирующей РНК проводили с использованием реакционной смеси qPCRmix-HS SYBR (Evrogen) и специфических праймеров для 18S, lncROR и MALAT1 и оценивали методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе. ПЦР проводили при следующих условиях: преинкубация - 95°C в течение 150 секунд; 3-шаговая амплификация 95°C в течение 20 секунд, 60°C в течение 20 секунд, 72°C в течение 20 секунд - 45 циклов; температурная детекция плавления продуктов реакции.

Образцы кольцевой ДНК (кДНК) стандартизировали по генам рибосомальной 18S РНК. Экспрессию генов lncROR и MALAT1 в образцах затем анализировали методом 2-ΔΔСТ; отсутствие побочных продуктов ПЦР определяли по кривой плавления. Во всех образцах наблюдался один и тот же пик плавления для каждой пары праймеров.

2.2.5. Статистическая обработка результатов

Статистическая интерпретация данных исследования осуществлялась с использованием программного пакета STATISTICA версии 13.0 и программы Microsoft Excel (Excel 2016 (16) — Microsoft Office 2016). Для описания количественных данных, имеющих нормальное распределение, использовалось

среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD). При распределении признаков, отличающемся от нормального, их описывали в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала в формате Me [25–75%]. Качественные показатели представляли как в абсолютных (n), так и в относительных (%) величинах. Для сопоставления двух групп по количественным признакам использовался U-критерий Манна–Уитни, Разница между группами считалась статистически значимой при $p < 0,05$.

Для выявления взаимосвязи между показателями рассчитывался коэффициент ранговой корреляции по Спирмену. При отрицательном коэффициенте корреляции определяли обратную зависимость между изучаемыми переменными (большему показателю одной переменной соответствуют меньшие значение другой). При положительном коэффициенте корреляции определяли прямую зависимость между изучаемыми переменными (большему показателю одной переменной соответствуют большее значение другой). Числовые значений коэффициента корреляции интерпретировали следующим образом: 1) при коэффициенте корреляции $r > 0,70$ – сильная взаимосвязь; 2) при коэффициенте корреляции $0,50 < r < 0,69$ – средняя зависимость; 3) при коэффициенте корреляции $0,30 < r < 0,49$ – умеренная взаимосвязь; 4) при коэффициенте корреляции $0,20 < r < 0,29$ – слабая зависимость; 5) при коэффициенте корреляции при $r < 0,19$ - очень слабая взаимосвязь.

ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic) был использован для оценки качества маркеров для диагностики гиперплазии и рака эндометрия. В процессе анализа, рассчитывали площадь под кривой (AUC), определяли оптимальное значение порога отсечения (cut off), при котором диагностический маркер показывает наибольшую чувствительность и специфичность.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Клинико-демографическая характеристика обследованных женщин

Учитывая возможные взаимосвязи с развитием гиперплазии и рака эндометрия таких факторов риска, как возраст, вес, курение, отсутствие родов в анамнезе, нерегулярные менструации, более старший возраст при первых родах, использование комбинированных оральных контрацептивов, было проведено сравнение исследованных групп в отношении данных факторов риска (Таблица 1).

Таблица 1 - Клинико-демографические показатели у женщин в исследованных группах

Показатель	Норма эндометрия (n=48)	Гиперплазия эндометрия (n=58)	Рак эндометрия (n=14)
Возраст, лет (Me [Q25; Q75])	37 [31; 43]	39 [34; 45]	41 [36; 46]*
Индекс массы тела, кг/м ² (Me [Q25; Q75])	29 [27; 31,5]	30 [28; 33]	28 [26; 30]
Избыточная масса тела (n, %)	18 (37,5)	20 (34,5)	3 (21,4)
Ожирение 1 степени (n, %)	12 (25,0)	22 (37,9)*	5 (28,5)
Курение (n, %), из них	8 (16,7)	10 (17,2)	4 (28,6)#
• сигареты	6 (12,5)	8 (13,8)	2 (14,3)
• электронные сигареты	2 (4,2)	2 (3,4)	2 (14,3)
Стаж курения лет (Me [Q25; Q75])	14 [11; 19]	15 [11; 20]	15 [9; 20]
Количество сигарет в сутки (n, %)	12 [9; 14]	10 [8; 12]	8 [6; 11]*
Возраст наступления менархе, лет (Me [Q25; Q75])	13 [12; 14]	13 [12; 14]	13 [12; 14]
Количество беременностей (Me [Q25; Q75])	2 [0; 3]	3 [1; 4]	2 [0; 3]
Количество родов (Me [Q25; Q75])	1 [0; 2]	1 [0; 2]	1 [0; 2]
Количество аборт (Me [Q25; Q75])	1 [0; 1]	1 [0; 1]	1 [0; 1]
Отсутствие родов (n, %)	14 (29,2)	16 (27,6)	3 (21,4)
Бесплодие (n, %)	4 (8,3)	4 (6,9)	2 (14,3)
Возраст первых родов, лет (Me [Q25; Q75])	25 [22; 29]	28 [25; 31]*	26 [23; 29]

Продолжение Таблицы 1

Использование оральных контрацептивов в анамнезе (n, %)	22 (45,8)	25 (43,1)	7 (50)
Длительность приема оральных контрацептивов в анамнезе, лет	5 [4; 6]	4 [3; 5]	4 [3; 5]
Давность окончания приема оральных контрацептивов до включения в исследование, лет	3 [2; 4]	6 [4; 7]*	6 [5; 7]*
Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении с нормальным эндометрием; # $p < 0,05$ по сравнению с нормальным и гиперплазированным эндометрием			

Медиана возраста пациенток с нормальным и гиперплазированным эндометрием была сопоставима, однако у больных раком эндометрия регистрировался более старший возраст по сравнению с женщинами с нормальным эндометрием (41 [36; 46] лет и 37 [31; 43] лет, соответственно, $p=0,024$).

Во всех группах наблюдения медиана индекса масса тела не отличалась, как и количество женщин с избыточной массой тела (ИМТ = 25-29,9 кг/м²). При этом в группе пациенток с гиперплазией эндометрия значимо чаще регистрировалось ожирение 1 степени (ИМТ = 30-34,9 кг/м²) по сравнению с женщинами с нормальным эндометрием (25% и 37,9%, соответственно, $p=0,018$).

Количество курящих женщин было значимо больше в группе с раком эндометрия по сравнению с нормальным и гиперплазированным эндометрием (28,6% против 16,7% и 17,2%, соответственно, $p < 0,05$). Но количество выкуриваемых сигарет в сутки, напротив, у больных раком эндометрия существенно меньше по сравнению с женщинами с нормальным эндометрием (8 [6; 11] и 12 [9; 14] сигарет, соответственно, $p=0,037$). При этом по стажу курения исследованные группы существенно не различались.

По возрасту наступления менархе, количеству беременностей, родов и абортс исследованные группы не различались. Также не выявлено

существенных различий по количеству женщин с отсутствием родов в анамнезе и бесплодием.

При этом в группе женщин с гиперплазией эндометрия регистрировался более старший возраст первых родов по сравнению с нормальным эндометрием и раком эндометрия (28 [25; 31] лет против 25 [22; 29] лет и 26 [23; 29] лет, соответственно, $p < 0,05$).

Количество женщин, использовавших комбинированные оральные контрацептивы в анамнезе, между группами значимо не различалось. Тем не менее, давность окончания приема препаратов была существенно меньше у женщин с нормальным эндометрием по сравнению с гиперплазированным эндометрием и раком эндометрия (3 [2; 4] лет против 6 [4; 7] лет и 6 [5; 7] лет, соответственно, $p < 0,05$).

Гинекологический анамнез и данные ультразвукового исследования матки у женщин в исследованных группах представлены в Таблице 2. По продолжительности менструального цикла и продолжительности менструаций исследованные группы значимо не различались.

Однако у женщин с гиперплазией эндометрия и раком эндометрия существенно чаще регистрировались обильные менструальные кровотечения (46,6% и 57,1% против 20,8%, соответственно, $p < 0,05$), болезненные менструальные кровотечения (34,5% и 42,9% против 20,8%, соответственно, $p < 0,05$) и нерегулярный менструальный цикл (17,2% и 28,5% против 4,2%, соответственно, $p < 0,05$).

Миома матки и хронический сальпингоофарит регистрировались во всех группах наблюдения, но без значимых различий.

По данным ультразвукового исследования матки выявлен значимо меньший показатель М-эхо у женщин с нормальным эндометрием по сравнению с гиперплазией эндометрия и раком тела матки ($p < 0,05$). При раке эндометрия показатель М-эхо существенно превышал таковой при гиперплазии эндометрия ($p < 0,05$). Объем матки при раке эндометрия был

существенно больше по сравнению с нормальным эндометрием ($p < 0,05$) (Таблица 2).

Таблица 2 - Гинекологический анамнез и данные ультразвукового исследования у женщин в группах сравнения

Заболевания	Норма эндометрия (n=48)	Гиперплазия эндометрия (n=58)	Рак эндометрия (n=14)
Продолжительность менструального цикла, сутки (Me [Q25; Q75])	28 [27; 28]	28 [28; 29]	28 [28; 30]
Продолжительность менструаций, сутки (Me [Q25; Q75])	5 [5; 5]	5 [5; 6]	5 [5; 6]
Обильные менструальные кровотечения (n, %)	10 (20,8)	27 (46,6)*	8 (57,1)*
Болезненные менструальные кровотечения (n, %)	10 (20,8)	20 (34,5)*	6 (42,9)*
Нерегулярный менструальный цикл (n, %)	2 (4,2)	10 (17,2)*	4 (28,5)*
Миома матки (n, %)	5 (10,4)	5 (8,6)	2 (14,3)
Хронический сальпингоофарит (n, %)	2 (4,2)	3 (5,2)	1 (7,1)
Узи матки: Объем матки, см ³ (Me [Q25; Q75])	45 [41; 51,5]	49 [45; 60]	56 [48; 65]*
М-эхо, мм (Me [Q25; Q75])	6 [5; 7]	8 [6; 10]*	10 [8; 11]*#
Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении с нормальным эндометрием, # $p < 0,05$ при сравнении с гиперплазией эндометрия			

Сопутствующие заболевания (анемия легкой степени, патология дыхательной системы, артериальная гипертензия, пищеварительной и мочевыделительной систем, сахарный диабет и гипотиреоз) отмечались у пациенток во всех группах наблюдения (Таблица 3).

Значимые различия выявлены только по встречаемости анемии легкой степени тяжести: у больных раком эндометрия патология регистрировалась

чаще по сравнению с пациентками с нормальным и гиперплазированным эндометрием (42,9% против 20,8% и 31,0%, соответственно, $p < 0,05$).

Таблица 3 - Сопутствующая патология у женщин в исследованных группах

Заболевания	Норма эндометрия (n=48)	Гиперплазия эндометрия (n=58)	Рак эндометрия (n=14)
Анемия легкой степени (n, %)	10 (20,8)	18 (31,0)	6 (42,9)*
Артериальная гипертензия (n, %)	5 (10,4)	5 (8,6)	2 (14,3)
Тромбоз вен нижних конечностей (n, %)	2 (4,2)	2 (3,4)	1 (7,1)
Варикозное расширение вен нижних конечностей (n, %)	4 (8,3)	5 (8,6)	1 (7,1)
Бронхо-легочная патология (n, %)	3 (6,3)	4 (6,9)	2 (14,3)
Патология системы пищеварения (n, %)	5 (10,4)	7 (12,1)	3 (21,4)
Патология мочевыделительной системы (n, %)	6 (12,5)	6 (10,3)	3 (21,4)
Патология эндокринной системы (n, %)			
сахарный диабет 2-го типа	5 (10,4)	6 (10,3)	2 (14,3)
гипотиреоз	3 (6,3)	3 (5,2)	2 (14,3)
Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении с нормальным эндометрием			

3.2. Значение экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в норме, при гиперплазии и раке эндометрия

3.2.1. Оценка уровней относительной экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в норме и при гиперплазии эндометрия

На рисунках 1-9 представлены относительные уровни экспрессии генов исследованных nAChR в образцах у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии. Экспрессия генов $\alpha 1$ -nAChR и $\alpha 9$ -

nAChR значимо не различалась (Рисунки 1 и 7) в нормальном и гиперплазированном эндометрии.

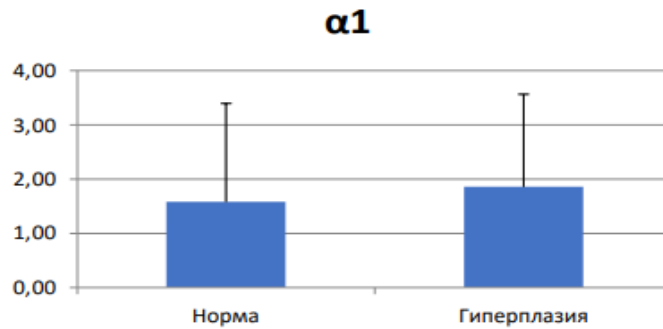


Рисунок 1 - Относительная экспрессия гена $\alpha 1$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии

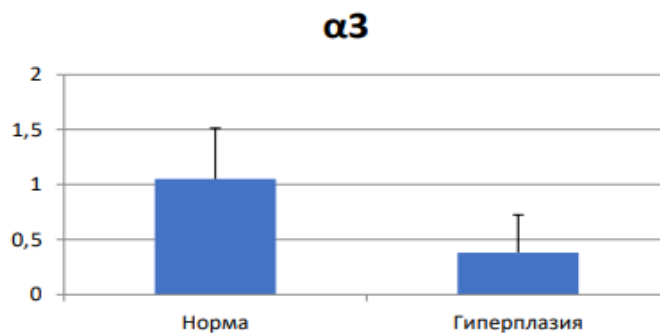


Рисунок 2 - Относительная экспрессия гена $\alpha 3$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии

Экспрессия гена $\alpha 3$ -nAChR была на 276% выше ($p < 0,001$) (Рисунок 2), гена $\alpha 5$ -nAChR – на 227% выше ($p < 0,001$) (Рисунок 4), гена $\alpha 6$ -nAChR – на 263% выше ($p < 0,001$) (Рисунок 5), гена $\alpha 7$ -nAChR – на 158% выше ($p = 0,014$) (Рисунок 6) у женщин с нормальным эндометрием по сравнению с гиперплазированным.

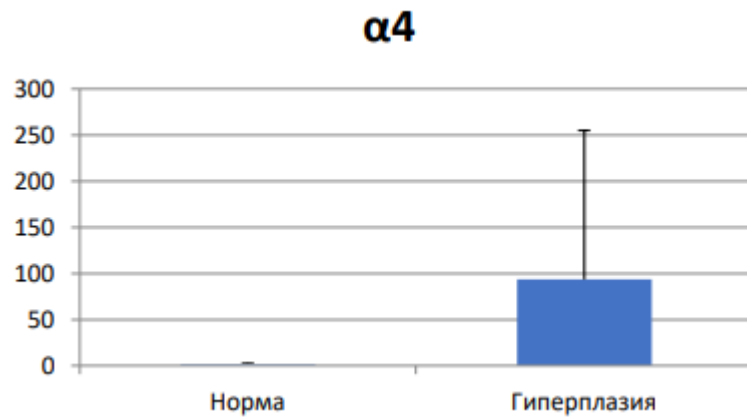


Рисунок 3 - Относительная экспрессия гена $\alpha 4$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии

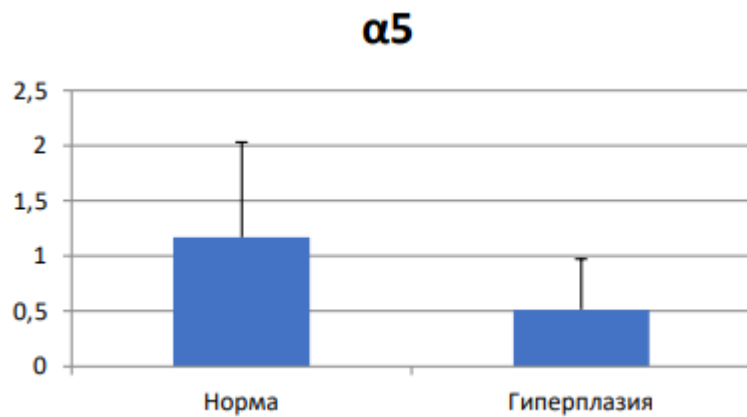


Рисунок 4 - Относительная экспрессия гена $\alpha 5$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии

Экспрессия гена $\alpha 4$ -nAChR была на 7243% выше ($p < 0,001$) (Рисунок 3), гена $\beta 1$ -nAChR – на 287% выше ($p < 0,001$) (рисунок 8), гена $\beta 2$ -nAChR – на 161% выше ($p = 0,018$) (Рисунок 9) у женщин с гиперплазированным эндометрием по сравнению с нормальным.

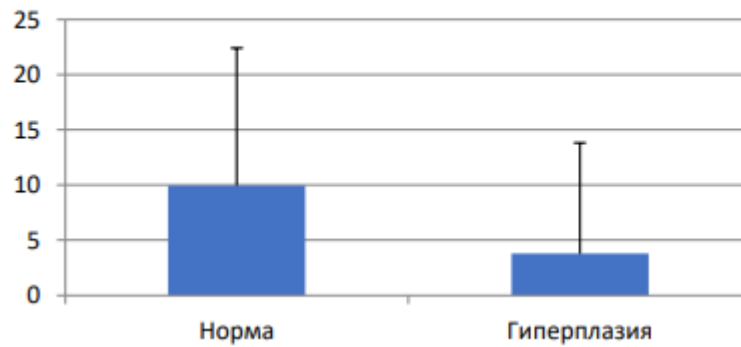
$\alpha 6$ 

Рисунок 5 - Относительная экспрессия гена $\alpha 6$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии

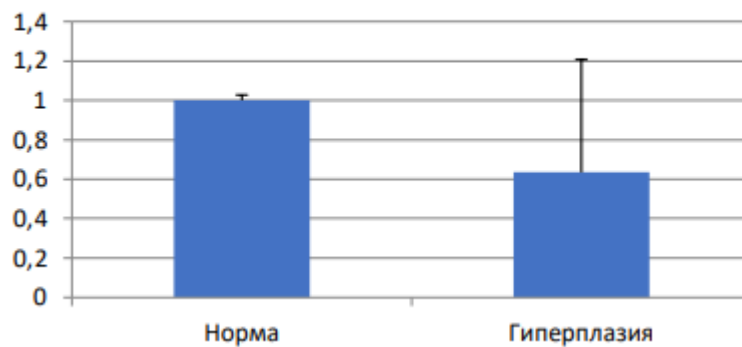
 $\alpha 7$ 

Рисунок 6 - Относительная экспрессия гена $\alpha 7$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии

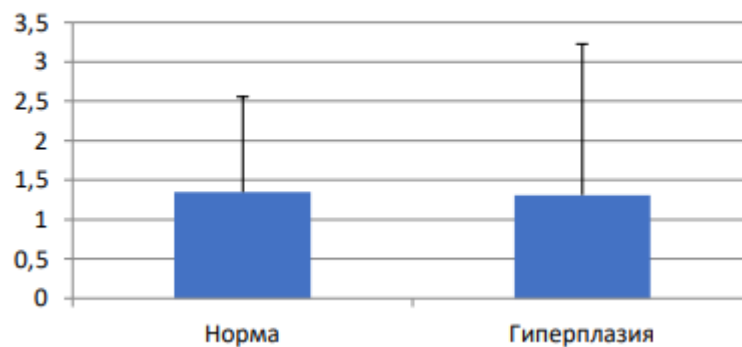
 $\alpha 9$ 

Рисунок 7 - Относительная экспрессия гена $\alpha 9$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии

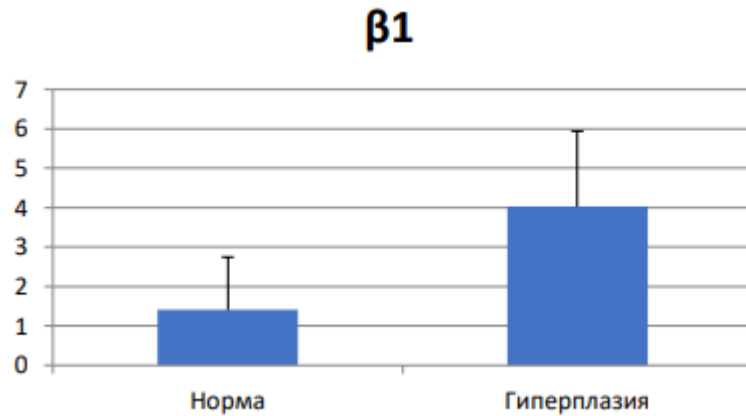


Рисунок 8 - Относительная экспрессия гена $\beta 1$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии

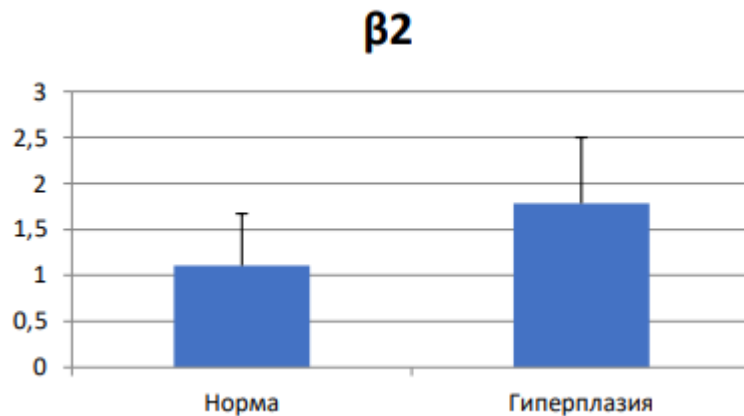


Рисунок 9 - Относительная экспрессия гена $\beta 2$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора у женщин с нормальным эндометрием и эндометрием с наличием гиперплазии

3.2.2. Оценка уровней относительной экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в норме, при гиперплазии эндометрия и раке эндометрия

Выявлены значимые различия в уровнях экспрессии nAChR при раке эндометрия по сравнению с женщинами с нормальным и гиперплазированным эндометрием (Рисунки 10-12). При раке эндометрия выявлен существенно повышенный уровень экспрессии рецепторов $\alpha 1$ -nAChR (на 2593%, $p < 0,001$), $\alpha 3$ -nAChR (на 13642%, $p < 0,001$) и $\alpha 6$ -nAChR (на 800%, $p < 0,001$) по сравнению с эндометрием в состоянии гиперплазии. Также при раке эндометрия

экспрессия данных рецепторов была значимо выше ($p < 0,001$) по сравнению с нормальным эндометрием.

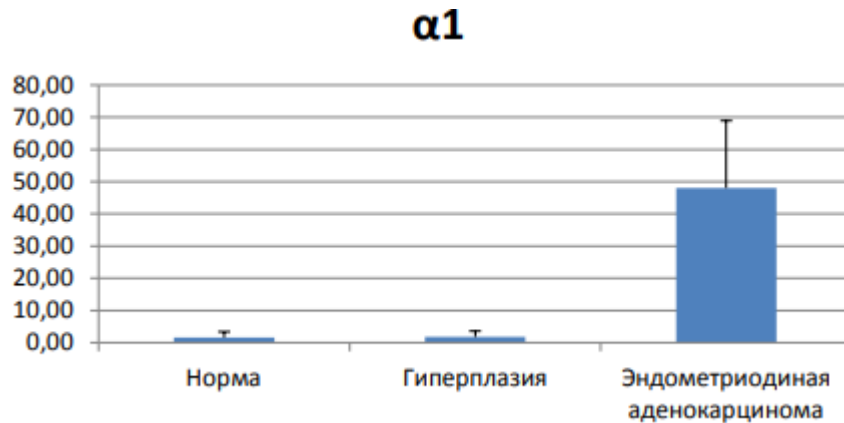


Рисунок 10 - Относительная экспрессия гена $\alpha 1$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора в норме, при гиперплазии эндометрия и раке эндометрия

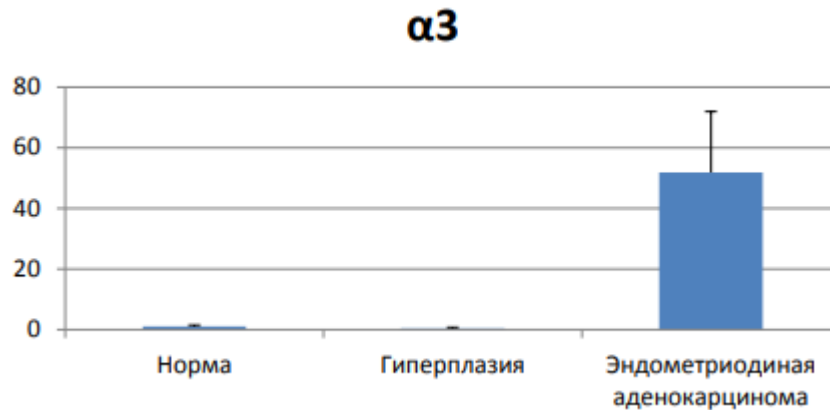


Рисунок 11 - Относительная экспрессия гена $\alpha 3$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора в норме, при гиперплазии эндометрия и раке эндометрия

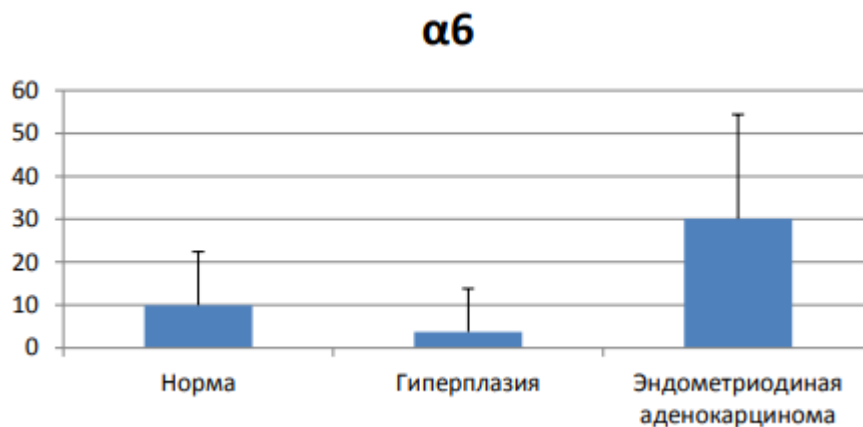


Рисунок 12 - Относительная экспрессия гена $\alpha 6$ -никотин-ацетилхолиновых рецептора в норме, при гиперплазии эндометрия и раке эндометрия

3.2.3. Диагностическая значимость относительной экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов при дифференцировании нормального эндометрия, гиперплазии и рака эндометрия

Диагностическая характеристика уровней экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов как маркеров, позволяющих дифференцировать нормальный, гиперплазированный эндометрий и рак тела матки с применением ROC-анализа, показана в Таблицах 4 и 5.

Из всех исследованных никотиновых ацетилхолиновых рецепторов только уровень относительной экспрессии $\alpha 4$ -nAChR (Рисунок 13) и $\alpha 6$ -nAChR (Рисунок 14) позволяет дифференцировать нормальный и гиперплазированный эндометрий, из которых уровень $\alpha 4$ -nAChR с наибольшей вероятностью (чувствительность – 81%, специфичность – 70%, AUC=86%; 95%ДИ=78-94; $p < 0,0001$) дифференцирует гиперплазию эндометрия от нормального.

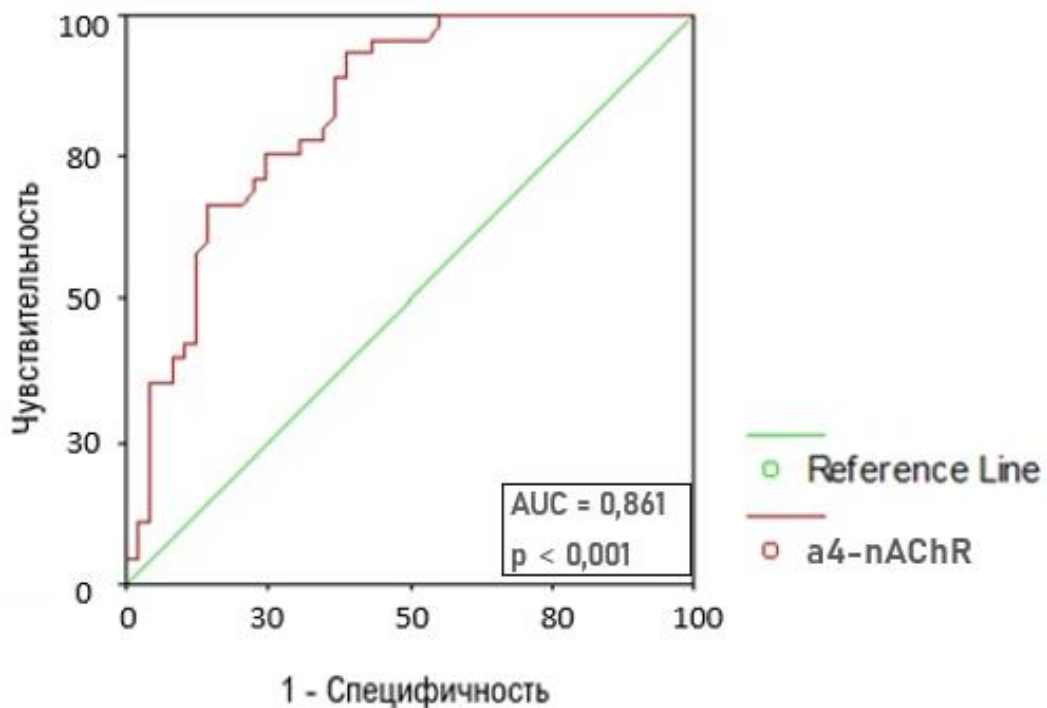


Рисунок 13 - Экспрессия гена $\alpha 4$ -nAChR при дифференциальной диагностике нормального эндометрия и гиперплазии эндометрия на основании ROC-анализа

Таблица 4 - ROC-анализ и диагностические характеристики уровня экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых рецепторов при дифференцировании нормального эндометрия и гиперплазии эндометрия

Рецептор	Площадь под ROC-кривой, %	95% ДИ	p	Отсечка	Чувствительность %	Специфичность %
$\alpha 1$	53	39-68	0,867	1,72	58	35
$\alpha 3$	61	48-73	0,232	0,61	31	65
$\alpha 4$	86	78-94	0,001	8,31	81	70
$\alpha 5$	54	40-69	0,545	0,71	44	58
$\alpha 6$	66	55-77	0,013	6,25	59	60
$\alpha 7$	55	39-70	0,571	0,82	57	30
$\alpha 9$	51	36-59	0,727	1,32	40	53
$\beta 1$	63	49-77	0,059	2,92	38	61
$\beta 2$	56	42-69	0,382	1,58	60	35

Таблица 5 - ROC-анализ и диагностические характеристики уровня экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых рецепторов при дифференцировании гиперплазии и рака эндометрия

Рецептор	Площадь под ROC-кривой, %	95% ДИ	p	Отсечка	Чувствительность %	Специфичность %
$\alpha 1$	73	61-85	0,001	11,23	77	63
$\alpha 3$	94	86-98	0,001	7,82	96	85
$\alpha 6$	62	52-73	0,022	12,41	53	65

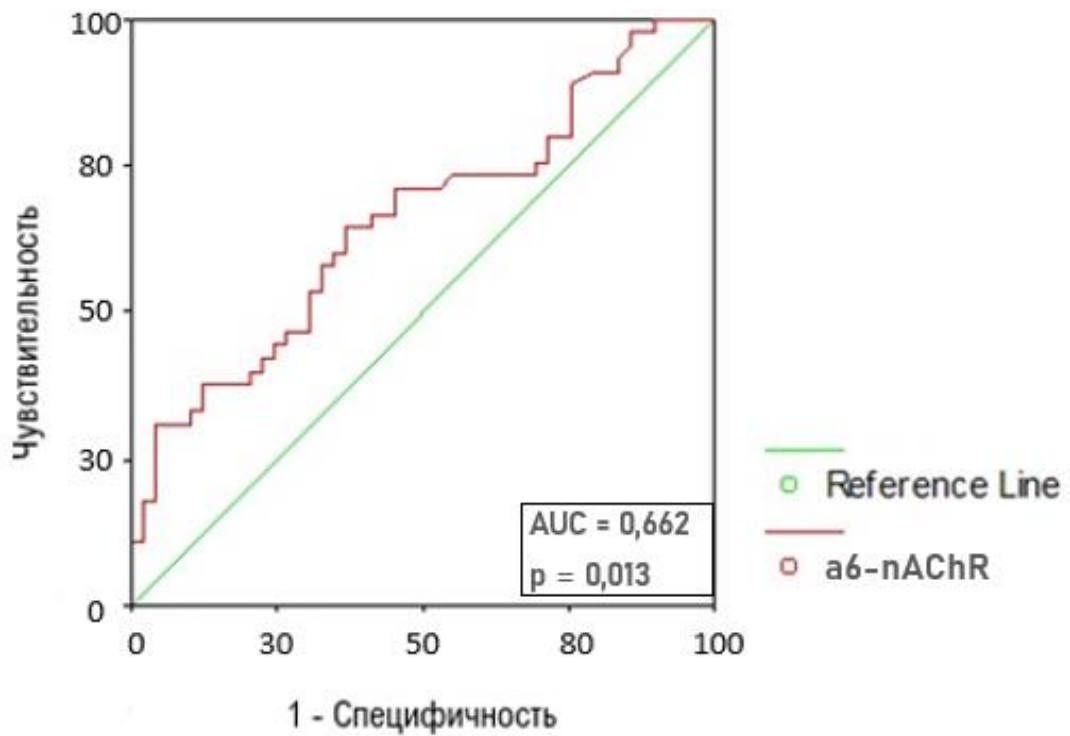


Рисунок 14 - Экспрессия гена $\alpha 6$ -nAChR при дифференциальной диагностике нормального эндометрия и гиперплазии эндометрия на основании ROC-анализа

Для $\alpha 6$ -nAChR (Рисунок 14) показана меньшая диагностическая значимость: относительная экспрессия рецептора с чувствительностью 59% и специфичностью 60% (AUC=66%; 95%ДИ=55-77; $p=0,013$) дифференцирует гиперплазию эндометрия от нормального эндометрия.

Рак эндометрия от гиперплазированного эндометрия позволяют дифференцировать уровни относительной экспрессии $\alpha 1$ -nAChR (Таблица 5, рисунок 15), $\alpha 3$ -nAChR (Таблица 5, Рисунок 16) и $\alpha 6$ -nAChR (Таблица 5, Рисунок 17). При этом наибольшей диагностической значимостью обладал $\alpha 3$ -nAChR, который позволяет с наибольшей вероятностью (чувствительность – 96%, специфичность – 85%, AUC=94%; 95%ДИ=86-98; $p=0,001$) диагностировать рак эндометрия.

Уровни экспрессии $\alpha 1$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR показали меньшую диагностическую значимость при дифференциации рака эндометрия и его гиперплазии. Для $\alpha 1$ -nAChR чувствительность составила 77%, специфичность – 63% (AUC=73%; 95%ДИ=61-85; $p=0,001$), для $\alpha 6$ -nAChR чувствительность составила 53%, специфичность – 65% (AUC=62%; 95%ДИ=52-73; $p=0,022$).

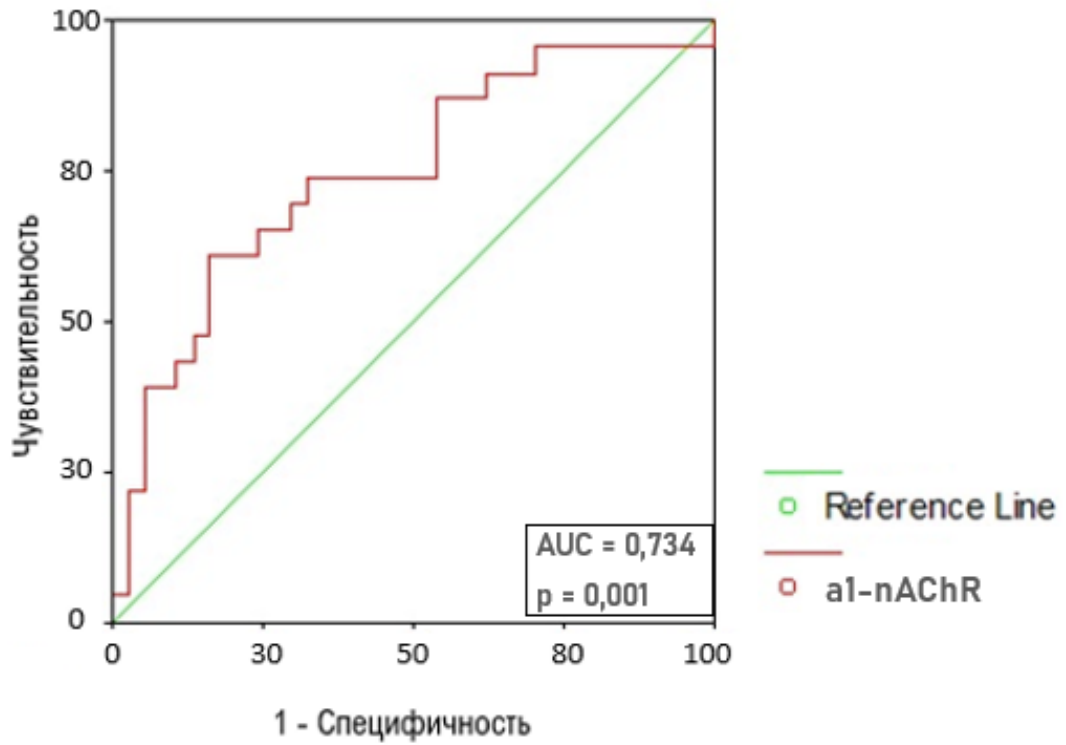


Рисунок 15 - Экспрессия гена $\alpha 1$ -nAChR при дифференциальной диагностике гиперплазии и рака эндометрия на основании ROC-анализа

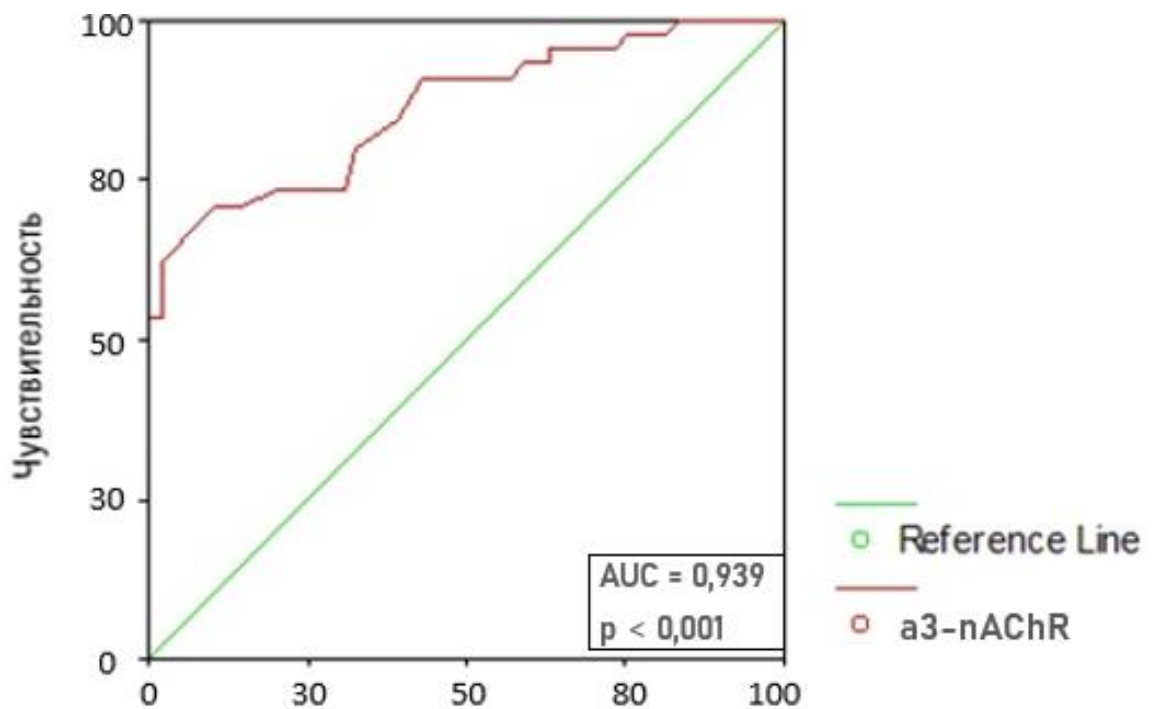


Рисунок 16 - Экспрессия гена $\alpha 3$ -nAChR при дифференциальной диагностике гиперплазии и рака эндометрия на основании ROC-анализа

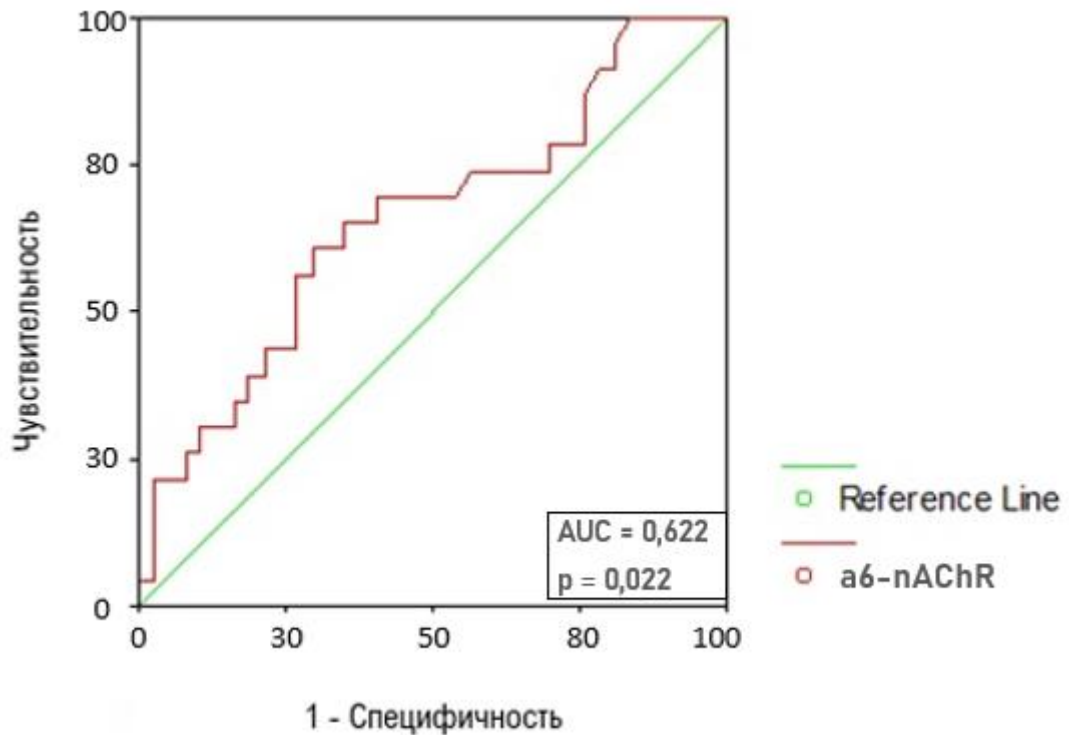


Рисунок 17 - Экспрессия гена $\alpha 6$ -nAChR при дифференциальной диагностике гиперплазии и рака эндометрия на основании ROC-анализа

3.2.4. Корреляция уровней экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых рецепторов с факторами риска развития гиперплазии и рака эндометрия

Результаты корреляционного анализа уровней экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых рецепторов с возрастом женщин, индексом массы тела, количеством выкуриваемых сигарет, количеством беременностей, аборт и родов представлены в Таблицах 6-11.

По результатам проведенного анализа выявлено, что уровни экспрессии $\alpha 1$ -nAChR, $\alpha 3$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR имеют прямую корреляционную взаимосвязь с возрастом женщин при раке эндометрия (умеренную для $\alpha 3$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR, сильную для $\alpha 1$ -nAChR) (Таблица 6).

С индексом массы тела обратно умеренно коррелировал $\alpha 4$ -nAChR у женщин с гиперплазией эндометрия. $\alpha 3$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR, напротив, показали умеренную прямую корреляционную взаимосвязь у больных раком эндометрия (Таблица 7).

Таблица 6 - Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых рецепторов с возрастом пациенток

Рецептор	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
$\alpha 1$	-0,06	0,821	0,50	0,084	0,82	0,001
$\alpha 3$	0,06	0,828	0,50	0,081	0,68	0,011
$\alpha 4$	-0,27	0,336	0,29	0,344	нд	нд
$\alpha 5$	-0,13	0,649	0,16	0,599	нд	нд
$\alpha 6$	-0,07	0,798	0,04	0,907	0,58	0,023
$\alpha 7$	-0,16	0,569	0,49	0,086	нд	нд
$\alpha 9$	-0,07	0,795	0,38	0,234	нд	нд
$\beta 1$	0,40	0,139	0,40	0,184	нд	нд
$\beta 2$	-0,03	0,928	-0,17	0,568	нд	нд

Примечание: нд – нет данных в связи с отсутствием экспрессии в группе

Таблица 7 - Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых рецепторов с индексом массы тела пациенток

Рецептор	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
$\alpha 1$	-0,42	0,094	-0,07	0,805	0,37	0,084
$\alpha 3$	-0,19	0,468	0,450	0,095	0,42	0,046
$\alpha 4$	-0,12	0,691	-0,58	0,024	нд	нд
$\alpha 5$	0,21	0,425	-0,14	0,622	нд	нд
$\alpha 6$	-0,17	0,514	-0,29	0,301	0,5	0,016
$\alpha 7$	0,14	0,602	0,08	0,785	нд	нд
$\alpha 9$	0,13	0,621	-0,51	0,051	нд	нд
$\beta 1$	0,12	0,644	0,14	0,629	нд	нд
$\beta 2$	-0,05	0,841	-0,16	0,561	нд	нд

Примечание: нд – нет данных в связи с отсутствием экспрессии в группе

Наибольшее количество значимых корреляционных зависимостей уровней экспрессии никотин-ацетилхолиновых рецепторов установлено с количеством выкуриваемых сигарет (Таблица 8). Если для $\beta 1$ -nAChR и $\beta 2$ -nAChR показана умеренная отрицательная зависимость у женщин с нормальным эндометрием, то при гиперплазии эндометрия установлена прямая взаимосвязь уровней экспрессии $\alpha 5$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR с количеством выкуриваемых сигарет в сутки. У женщин с гиперплазией и раком эндометрия выявлена обратна умеренная корреляционная взаимосвязь с количеством выкуриваемых сигарет и уровнем экспрессии $\alpha 1$ -nAChR и $\alpha 3$ -nAChR.

Таблица 8 - Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых рецепторов с количеством выкуриваемых сигарет

Рецептор	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
$\alpha 1$	0,32	0,211	-0,42	0,039	-0,44	0,036
$\alpha 3$	0,12	0,708	-0,45	0,036	-0,58	0,004
$\alpha 4$	0,45	0,068	0,21	0,452	нд	нд
$\alpha 5$	-0,09	0,736	0,85	0,002	нд	нд
$\alpha 6$	0,36	0,153	0,79	0,002	-0,37	0,078
$\alpha 7$	0,48	0,053	-0,17	0,539	нд	нд
$\alpha 9$	0,14	0,601	0,11	0,698	нд	нд
$\beta 1$	-0,72	0,001	0,03	0,929	нд	нд
$\beta 2$	-0,78	0,001	-0,16	0,561	нд	нд

Примечание: нд – нет данных в связи с отсутствием экспрессии в группе

С количеством беременностей умеренную отрицательную зависимость показал $\alpha 6$ -nAChR у больных раком эндометрия (таблица 9). Не выявлено значимых корреляционных взаимосвязей уровней экспрессии никотин-ацетилхолиновых рецепторов с количеством аборт (Таблица 10) и родов (Таблица 11).

Таблица 9 - Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых с количеством беременностей

Рецептор	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
$\alpha 1$	-0,39	0,149	0,57	0,051	0,13	0,668
$\alpha 3$	0,13	0,648	0,55	0,062	-0,15	0,629
$\alpha 4$	-0,35	0,196	0,38	0,218	нд	нд
$\alpha 5$	-0,33	0,223	0,33	0,31	нд	нд
$\alpha 6$	-0,06	0,84	0,49	0,102	-0,56	0,049
$\alpha 7$	-0,09	0,737	-0,23	0,472	нд	нд
$\alpha 9$	-0,16	0,563	-0,27	0,403	нд	нд
$\beta 1$	-0,15	0,594	-0,38	0,217	нд	нд
$\beta 2$	-0,22	0,483	-0,48	0,116	нд	нд

Примечание: нд – нет данных в связи с отсутствием экспрессии в группе

Таблица 10 - Результаты корреляционного анализа значений уровня экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых с количеством аборт

Рецептор	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
$\alpha 1$	0,34	0,176	0,08	0,773	0,08	0,74
$\alpha 3$	-0,04	0,877	-0,18	0,517	0,17	0,455
$\alpha 4$	-0,07	0,794	0,07	0,812	нд	нд
$\alpha 5$	-0,29	0,261	0,35	0,198	нд	нд
$\alpha 6$	-0,02	0,934	0,35	0,207	0,22	0,315
$\alpha 7$	0,09	0,719	0,03	0,907	нд	нд
$\alpha 9$	-0,43	0,083	-0,33	0,223	нд	нд
$\beta 1$	0,48	0,053	-0,17	0,539	нд	нд
$\beta 2$	0,14	0,602	0,08	0,785	нд	нд

Примечание: нд – нет данных в связи с отсутствием экспрессии в группе

Таблица 11 - Результаты корреляционного анализа значений уровня экспрессии генов никотин-ацетилхолиновых с количеством родов

Рецептор	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R		Spearman R	p
$\alpha 1$	0,08	0,747	0,33	0,226	0,45	0,067
$\alpha 3$	0,19	0,453	-0,36	0,188	-0,10	0,689
$\alpha 4$	-0,07	0,794	0,41	0,136	нд	нд
$\alpha 5$	0,33	0,193	0,41	0,142	нд	нд
$\alpha 6$	-0,29	0,261	0,35	0,198	0,21	0,424
$\alpha 7$	0,28	0,271	-0,16	0,562	нд	нд
$\alpha 9$	0,02	0,996	-0,02	0,939	нд	нд
$\beta 1$	-0,09	0,736	-0,37	0,170	нд	нд
$\beta 2$	0,21	0,425	-0,14	0,622	нд	нд

3.3. Значение экспрессии lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 в нормальном эндометрии, при гиперплазии и раке эндометрия

3.3.1. Оценка уровней относительной экспрессии lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 в нормальном эндометрии, при гиперплазии и раке эндометрия

На рисунках 18 и 19 представлены уровни относительной экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 в образцах клеток у женщин с нормальным и гиперплазированным эндометрием, а также при раке тела матки. При гиперплазии эндометрия экспрессия lncRNA-MALAT1 была на 223% ($p=0,008$) выше по сравнению с нормальным эндометрием (Рисунок 18). А при раке тела матки зарегистрировано еще более значимое повышение экспрессии данного биомаркера на 2152% ($p<0,001$) по сравнению с гиперплазией эндометрия.

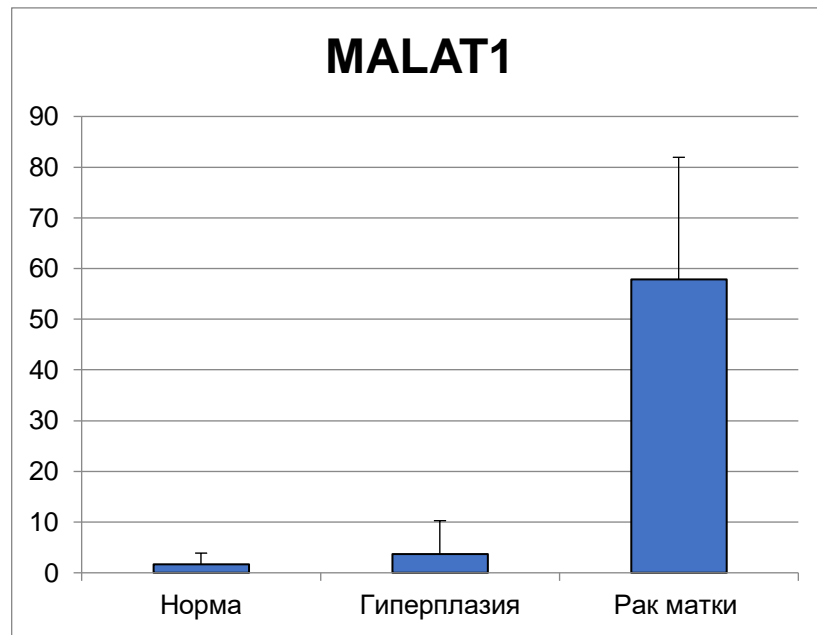


Рисунок 18 - Относительная экспрессия lncRNA-MALAT1 в исследованных группах

Для lncROR-1 характерна другая закономерность уровня экспрессии (Рисунок 19). При гиперплазии эндометрия отмечается значительное повышение уровня экспрессии маркера на 182% ($p=0,001$) по сравнению с нормальным эндометрием. При раке эндометрия экспрессия lncROR-1 не регистрировалась.

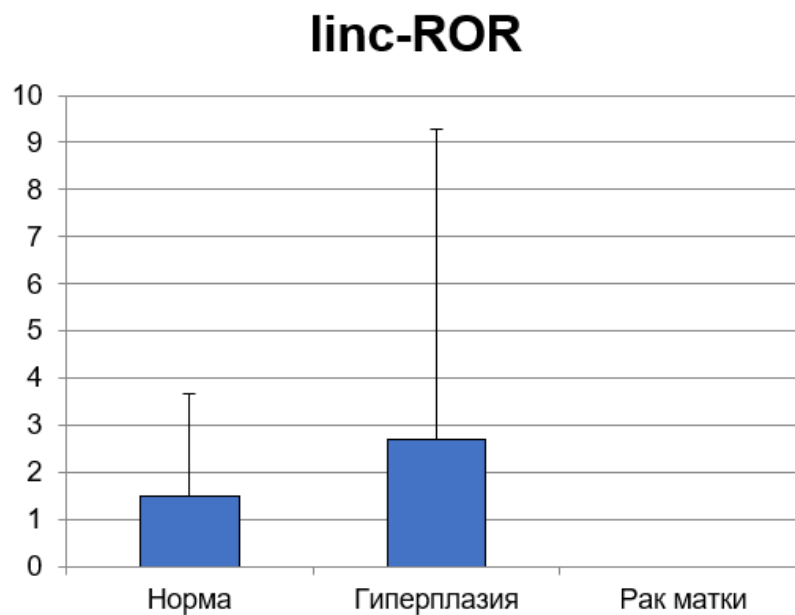


Рисунок 19 - Относительная экспрессия ROR-1 в исследованных группах

3.3.2. Диагностическая значимость относительной экспрессии lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 при дифференцировании нормального эндометрия, гиперплазии и рака эндометрия

Диагностическая значимость уровней экспрессии lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 как маркеров, с помощью которых можно дифференцировать нормальный эндометрий от его гиперплазии с использованием ROC-анализа (Таблица 12, Рисунок 20), показала, что показатель lncRNA-MALAT1 превосходит по своей диагностической значимости показатель lncROR-1. Уровень экспрессии lncRNA-MALAT1 позволяет с наибольшей вероятностью (чувствительность – 81%, специфичность – 60%, AUC=75%; 95%ДИ=65-85; p=0,021) диагностировать гиперплазию эндометрия (Рисунок 20). При этом для lncRNA-MALAT1 чувствительность составила 65%, специфичность – 75% (AUC=69%; 95%ДИ=57-81; p=0,03).

Таблица 12 - Диагностические характеристики уровней экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и ROR-1 по данным ROC-анализа и при дифференциальной диагностике нормального эндометрия и гиперплазии эндометрия

Характеристика	MALAT1	ROR-1
Площадь под ROC-кривой, %	75	69
95% доверительный интервал	65-85	57-81
p	0,021	0,03
Отсечка	2,38	2,22
Чувствительность, %	81	65
Специфичность, %	60	75

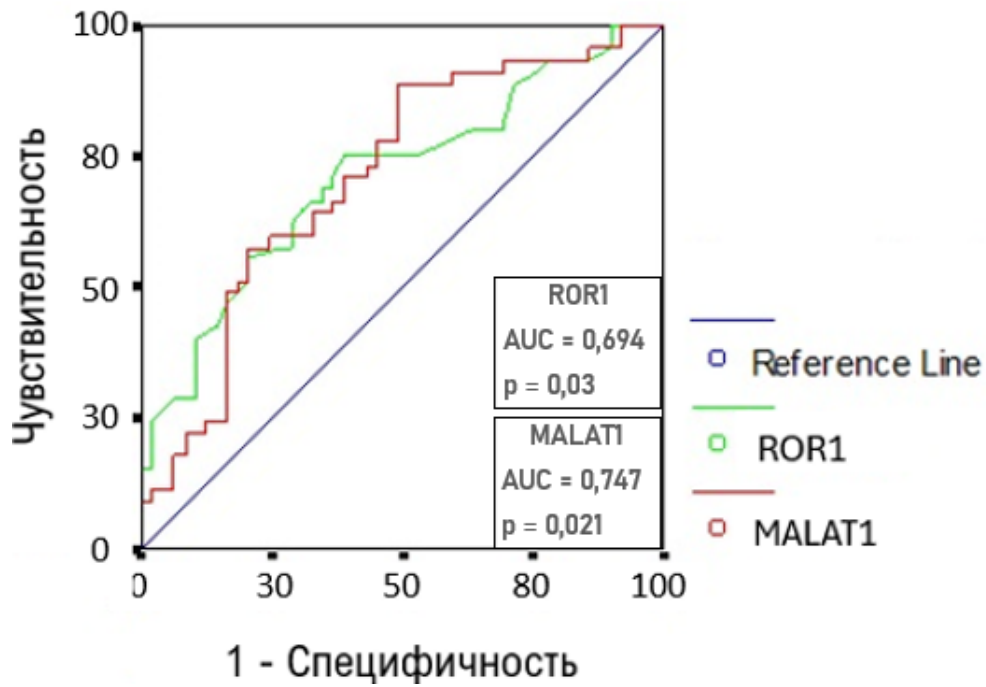


Рисунок 20 - ROC-анализ и диагностические характеристики уровня экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и ROR-1 при дифференцировании нормального эндометрия и гиперплазии эндометрия

Для диагностики рака эндометрия по сравнению с гиперплазией эндометрия уровень относительной экспрессии lncRNA-MALAT1 продемонстрировал диагностическую значимость (чувствительность – 96%, специфичность – 91%, AUC=94; 95%ДИ=90-98; $p=0,001$) (Таблица 13, Рисунок 21). Экспрессия ROR-1 не регистрировалась у больных раком эндометрия, поэтому отсутствие экспрессии данного маркера можно считать диагностическим критерием, позволяющим дифференцировать рак эндометрия от нормального и гиперплазированного эндометрия.

Таблица 13 - Диагностические характеристики уровней экспрессии гена lncRNA-MALAT1 по данным ROC-анализа и при дифференциальной диагностике гиперплазии эндометрия и рака тела матки

Характеристика	MALAT1
Площадь под ROC-кривой, %	94
95% доверительный интервал	90-98
p	0,001
Отсечка	11,3
Чувствительность, %	96
Специфичность, %	91

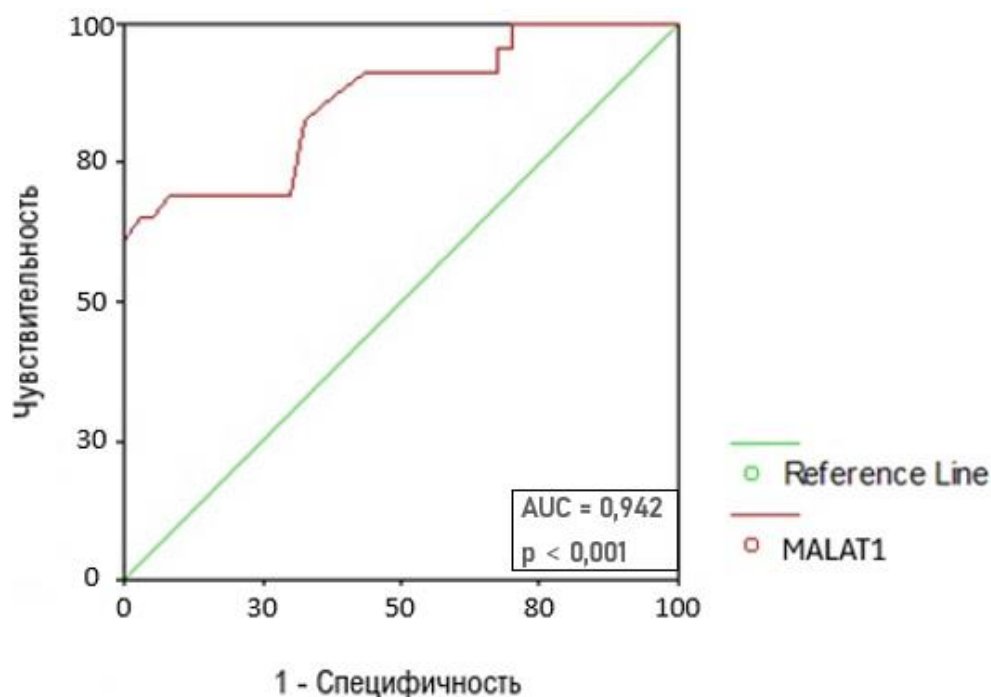


Рисунок 21 - ROC-анализ и диагностические характеристики уровня экспрессии гена lncRNA-MALAT1 при дифференцировании гиперплазии и рака эндометрия

3.3.3. Корреляция уровней экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 с факторами риска развития гиперплазии и рака эндометрия

Результаты корреляционного анализа уровней экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 с возрастом женщин, индексом массы тела, количеством выкуриваемых сигарет, количеством беременностей, аборт и родов представлены в Таблицах 14-19.

По результатам проведенного анализа выявлено, что уровень экспрессии lncRNA-MALAT1 имеет умеренную прямую корреляционную взаимосвязь с возрастом женщин (Таблица 14) при гиперплазии и раке эндометрия. Уровень экспрессии lncROR-1 также показал сильную прямую зависимость с возрастом женщин.

Таблица 14 - Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и ROR-1 с возрастом пациенток

Маркер	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
MALAT1	-0,27	0,487	0,57	0,025	0,65	0,008
ROR-1	0,28	0,472	0,80	0,001	нд	нд

С индексом массы тела обратно умеренно коррелировал только уровень экспрессии lncRNA-MALAT1 (Таблица 15).

Таблица 15 - Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и ROR-1 с индексом массы тела пациенток

Маркер	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
MALAT1	-0,39	0,216	-0,46	0,029	0,27	0,484
ROR-1	0,15	0,645	-0,27	0,225	нд	нд

С количеством выкуриваемых сигарет значимо умеренно прямо коррелировал уровень экспрессии lncRNA-MALAT1 у больных раком эндометрия, а у пациенток с гиперплазией эндометрия умеренно прямо коррелировали уровни экспрессии как lncRNA-MALAT1, так и lncROR-1 (Таблица 16).

Таблица 16 - Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и ROR-1 с количеством выкуриваемых сигарет

Маркер	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
MALAT1	0,08	0,746	0,63	0,027	0,72	0,001
ROR-1	0,04	0,865	0,66	0,004	нд	нд

Не выявлено значимых корреляционных взаимосвязей уровней экспрессии lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 с количеством беременностей (Таблица 17), аборт (Таблица 18) и родов (Таблица 19).

Таблица 17 - Результаты корреляционного анализа экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и ROR-1 с количеством беременностей

Маркер	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
MALAT1	0,21	0,336	-0,16	0,62	-0,01	0,979
ROR-1	0,23	0,293	0,14	0,664	нд	нд

Таблица 18 - Результаты корреляционного анализа значений экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и ROR-1 с количеством абортов

Маркер	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
MALAT1	0,13	0,547	-0,02	0,956	-0,21	0,353
ROR-1	0,20	0,37	-0,41	0,182	нд	нд

Таблица 19 - Результаты корреляционного анализа значений уровня экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и ROR-1 с количеством родов

Маркер	Норма эндометрия (n=48)		Гиперплазия эндометрия (n=58)		Рак эндометрия (n=14)	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
MALAT1	0,25	0,257	-0,12	0,718	-0,17	0,451
ROR-1	-0,03	0,901	0,04	0,904	нд	нд

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гиперплазия эндометрия чрезвычайно распространена с различной скоростью прогрессирования в инвазивный рак эндометрия, и быстрое распознавание факторов риска, а также симптомов и признаков является обязательным условием для ранней диагностики и эффективного лечения. Вероятность развития гиперплазии эндометрия трудно определить для населения в целом, но вероятность развития рака тела матки увеличивается с возрастом [2, 70]. Несмотря на то, что развитие гиперплазии эндометрия и прогрессирование рака эндометрия тесно связаны как с избытком эстрогенов, так и с ожирением, множество других факторов также могут играть роль, включая генетическую предрасположенность, репродуктивные факторы и воздействие окружающей среды [4].

Репродуктивные факторы могут увеличивать риск гиперплазии эндометрия независимо от ожирения, включая отсутствие родов в анамнезе, нерегулярные менструации, синдром поликистозных яичников (влечет за собой трехкратное увеличение риска), хроническую ановуляцию, пожилой возраст при первых родах и поздний возраст при менопаузе. Дополнительные механизмы, которые могут играть определенную роль, включают подавление регуляции генов, регулируемых прогестероном, гиперандрогению, гиперсекрецию лютеинизирующего гормона, повышение уровня глюкозы, гиперинсулинемию, резистентность к инсулину, увеличение инсулиноподобного фактора роста и воспалительные реакции, которые могут привести к активации нескольких связанных путей, ускоряющих рост опухоли [82, 84, 85]. Защитные факторы включают курение и использование комбинированных оральных контрацептивов [79, 85].

Учитывая возможные взаимосвязи с развитием гиперплазии и рака эндометрия таких факторов риска, как возраст, вес, курение, отсутствие родов в анамнезе, нерегулярные менструации, более старший возраст при первых родах, использование комбинированных оральных контрацептивов, нами было проведено сравнение исследованных групп в отношении данных факторов риска.

По результатам исследования медиана возраста пациенток с нормальным и гиперплазированным эндометрием была сопоставима, однако у больных раком эндометрия регистрировался более старший возраст по сравнению с женщинами с нормальным эндометрием.

Во всех группах наблюдения медиана индекса масса тела не отличалась, как и количество женщин с избыточной массой тела. Однако в группе пациенток с гиперплазией эндометрия значимо чаще регистрировалось ожирение 1 степени по сравнению с женщинами с нормальным эндометрием (25% и 37,9%, соответственно, $p=0,018$), что соотносится с данными большинства исследователей [82, 84, 85].

По возрасту наступления менархе, количеству беременностей, родов и абортов исследованные группы не различались. Также не выявлено существенных различий по количеству женщин с отсутствием родов в анамнезе и бесплодием. При этом в группе женщин с гиперплазией эндометрия регистрировался более старший возраст первых родов по сравнению с нормальным эндометрием и раком эндометрия (28 [25; 31] лет против 25 [22; 29] лет и 26 [23; 29] лет, соответственно, $p<0,05$).

Проведенный нами анализ субъединиц nAChR в эпителии матки показывает, что экспрессия $\alpha 3$ -nAChR, $\alpha 4$ -nAChR, $\alpha 5$ -nAChR, $\alpha 6$ -nAChR, $\alpha 7$ -nAChR, $\beta 1$ -nAChR и $\beta 2$ -nAChR влияет на эпителий матки во время нормальной дифференцировки и при гиперплазии эндометрия. Мы представили доказательства гиперэкспрессии трех ($\alpha 1$ -nAChR, $\alpha 3$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR) из 9 исследованных субъединиц nAChR при раке эндометрия. Комбинации этих субъединиц образуют большое количество гомо- и гетеропентамерных рецепторов с различными структурными, функциональными и фармакологическими свойствами. Это разнообразие открывает сложную область исследований для понимания биологии матки в здоровых и опухолевых тканях с потенциальными мишенями для терапии, основанной на обширной литературе об ингибиторах холинергической сигнализации.

Резистентность к лечению является одной из самых больших проблем в терапии рака, поскольку она ограничивает эффективность противоопухолевой терапии и замедляет выздоровление пациента [158]. Воздействие табачного дыма и никотина было связано с повышенной резистентностью к химиотерапии [159]. Недавно было обобщено nAChR-зависимое влияние на химиотерапевтические препараты [158]. Фактические данные свидетельствуют о том, что терапия на основе антагонистов nAChR в сочетании с традиционной химиотерапией является лучшим подходом, делая опухоли более восприимчивыми к более низким дозам химиотерапевтических агентов и избегая их токсичности. Такой подход может быть особенно полезен для лечения опухолей с гиперэкспрессией nAChR [158].

Было проведено несколько исследований специфических блокаторов, подавляющие экспрессию nAChR в опухолевых клетках, в качестве новых стратегий лечения злокачественных новообразований. Так, специфическое ингибирование экспрессии $\alpha 9$ nAChR оказывало подавление роста опухолевых клеток у мышей на фоне тяжелого комбинированного иммунодефицита [212]. Гиперэкспрессия $\alpha 5$ -субъединицы при немелкоклеточном раке легкого ассоциирована с пролиферацией, миграцией и инвазией опухолевых клеток через сигнальные пути ERK1/2 и PI3K/Akt, а подавление этой субъединицы может ингибировать прогрессирование никотин-ассоциированного рака легкого [213]. В исследовании Zhang C. et al. опухолевые клетки обрабатывали специфическими блокаторами различных подтипов nAChR α -конотоксинами для определения роли высокоэкспрессируемых nAChR при раке легкого и потенциального терапевтического эффекта α -конотоксинов в соответствии с экспрессией nAChR. Показано, что селективный антагонист $\alpha 7$ nAChR может рассматриваться как потенциальное противоопухолевое средство за счет способности ингибировать пролиферацию, ангиогенез и метастазирование опухолевых клеток [214].

Терапевтический потенциал специфических блокаторов, нацеленных на nAChR, выражается в их способности избирательно воздействовать на определенные nAChR. Предыдущие исследования показали что α О-конотоксин GeXIVA может эффективно блокировать $\alpha 9\alpha 10$ nAChR, в то время как влияние на

другие подтипы nAChR было незначительным или отсутствовало вовсе [180]. В другом исследовании было показано, что α -конотоксин T α ID является мощным антагонистом α 3 β 4 nAChR, который в 60 раз активнее, чем другой антагонист α -конотоксин AuIB, который также нацелен на α 3 β 4 nAChR [215]. Таким образом, применение GeXIVA или T α ID для оценки их ингибирующих эффектов может способствовать дальнейшему объяснению роли высокоэкспрессированных α 9 и α 10 субъединиц nAChR при раке тела матки и указывает на предполагаемое лечение α -конотоксинами данного злокачественного новообразования из-за их высокой селективности к α 9 α 10 nAChR. Несмотря на то, что GeXIVA или T α ID также подавляли нормальные клетки, эффект был значительно ниже, чем на опухолевые клетки [180, 215]. Учитывая эти данные, α 9 α 10 nAChR могут быть терапевтическими мишенями при раке эндометрия. Кроме того, α -конотоксины морских конусных улиток, которые ингибируют α 9 α 10 или α 3 β nAChR, могут дать новые ключи к таргетной терапии рака эндометрия.

Количество курящих женщин в нашем исследовании было значимо больше в группе с раком эндометрия по сравнению с нормальным и гиперплазированным эндометрием (28,6% против 16,7% и 17,2%, соответственно, $p < 0,05$), что отличается от данных некоторых исследователей, которые обнаружили обратную связь между курением и риском развития рака эндометрия [7, 85]. Данный феномен можно объяснить, во-первых, дозозависимым эффектом: в нашем исследовании, несмотря на то, что количество курящих женщин, имеющих рак эндометрия, было существенно выше по сравнению с нормальным и гиперплазированным эндометрием, количество выкуриваемых сигарет, напротив было значимо больше у больных раком эндометрия по сравнению с женщинами, у которых не было выявлено морфологических изменений в эндометрии. Во-вторых, по данным нашего исследования количество выкуриваемых сигарет коррелирует с уровнями экспрессии генов никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, lncRNA-MALAT1 и lncROR-1.

Возможные биологические механизмы, лежащие в основе ассоциации курения с развитием гиперпластических процессов, неизвестны. Было высказано

предположение, что курение может снизить риск за счет его потенциальных антиэстрогенных эффектов [216], хотя объединенный анализ 13 исследований показал, что женщины, которые выкуривали 15 сигарет в день, на самом деле имели более высокий уровень циркулирующего эстрадиола по сравнению с некурящими [8]. Также было высказано предположение, что курение сигарет может повлиять на риск из-за полиароматических углеводородов из сигаретного дыма, которые повышают уровень антиканцерогенных метаболитов эстрадиола и подавляют функцию рецепторов эстрогена [217], хотя для подтверждения этой гипотезы необходимы дополнительные экспериментальные исследования. Курение ассоциируется с более ранним возрастом менопаузы (41 год) и, таким образом, может снизить риск развития рака эндометрия из-за снижения воздействия эндогенных циркулирующих уровней эстрогенов яичников, которые характеризуют менопаузу [218]. В наше исследование включались женщины до наступления менопаузы, возможно с этим связано то, что рак эндометрия чаще регистрировался у курящих пациенток. Возможно, курение, изменяя уровень экспрессии никотин-ацетилхолиновых рецепторов, влияет на риски развития гиперплазии и рака эндометрия. В нашем исследовании показана умеренная отрицательная зависимость экспрессии $\beta 1$ -nAChR и $\beta 2$ -nAChR у женщин с нормальным эндометрием, а при гиперплазии эндометрия установлена прямая взаимосвязь уровней экспрессии $\alpha 5$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR с количеством выкуриваемых сигарет в сутки. У женщин с гиперплазией и раком эндометрия выявлена обратная умеренная корреляционная взаимосвязь количества выкуриваемых сигарет с уровнем экспрессии $\alpha 1$ -nAChR и $\alpha 3$ -nAChR. Эти данные подтверждают, что никотин оказывает влияние на экспрессию никотин-ацетилхолиновых рецепторов, играя важную роль в патогенезе различных злокачественных новообразований. В нашем исследовании впервые была продемонстрирована подобная взаимосвязь при гиперплазии и раке эндометрия.

Мы начали это исследование, чтобы, в том числе, прояснить молекулярные основы эпидемиологических наблюдений о том, что активное курение табака и

пассивное курение являются одними из наиболее важных факторов риска развития многих злокачественных новообразований, в том числе, рака шейки матки [219], но при этом является протективным фактором в отношении риска развития рака тела матки. Поскольку компоненты табачного дыма, такие как никотин и нитрозамины, встречаются в цервикальной слизи курильщиков в концентрациях, сходных с теми, которые обнаруживаются в дыхательных путях и легких, шейка матки, по-видимому, подвержена канцерогенным механизмам, которые напоминают те, которые приводят к карциномам полости рта, бронхов и легких [219]. Компоненты табачного дыма функционируют как мутагены (например, нитрозамины) или как рецепторные лиганды (никотин), и именно эту последнюю функцию мы и исследовали в нашей работе. Никотин является мощным агонистом, который может заменить естественный трансмиттер ацетилхолин никотиновых рецепторов, которые запускают холинергическую сигнализацию. nAChR представляют собой группу ионных каналов, которые обеспечивают приток ионов кальция и натрия и отток ионов калия, а также взаимодействуют с нижестоящими сигнальными каскадными реакциями.

В передача сигналов никотина через рецепторы нейронов и мышц, была обнаружена в различных тканях человека, включая эпителий слизистой оболочки. Многие из исследований были сосредоточены на влиянии холинергической сигнализации на эпителий дыхательных путей в ответ на необходимость понимания канцерогенеза, связанного с курением табака. Холинергическая сигнализация выявлена в плоском и простом эпителии рта, носа, трахеи, бронхов и легких. Было обнаружено, что никотин модулирует широкий спектр эпителиальных функций в нормальной биологии и при заболеваниях, такие как прогрессия клеточного цикла, дифференцировка, подвижность и адгезия [70]. Сходство этих процессов с теми, которые происходят в эпителии матки, такими как гиперплазия и опухолевая прогрессия, заставило нас задаться вопросом, могут ли нормальная ткань матки, эндометрий в состоянии гиперплазии и рак эндометрия находиться под влиянием холинергической сигнализации. Наши данные подтверждают наличие такой взаимосвязи, и этот результат станет основой для функциональных исследований,

которые будут изучать, как холинергическая сигнализация влияет на эпителий женских половых путей для поддержания гомеостаза и при канцерогенезе.

Несмотря на высокий уровень смертности от онкозаболеваний и растущее количество доказательств участия никотина в прогрессировании рака, потребление никотина остается высоким и даже увеличивается благодаря новым изобретениям, таким как электронные сигареты (е-сигареты) [115]. Хотя использование никотина в альтернативных устройствах для курения часто считается более безопасным способом по сравнению с курением табака, он может способствовать канцерогенезу несколькими способами: стимулируя пролиферацию клеток, рост опухоли, метастазирование и устойчивость к химиотерапевтическим препаратам, а также создавая микроокружение, поддерживающее опухоль, например, способствуя ангиогенезу. Кроме того, никотин может повреждать геном, увеличивать экспрессию онкогенов и инактивировать гены-супрессоры опухолей [115].

Никотин связывается с nAChR с более высоким сродством, чем физиологический лиганд. Кроме того, что никотиновые нитрозамины, находящиеся в табачном дыме, обладают даже более высоким сродством к никотиновым рецепторам, чем никотин [114]. Кроме того, отмечен эффект повышения экспрессии nAChR никотином, что запускает порочный круг усиления собственных эффектов [220]. Например, активация $\alpha 7$ nAChR приводит к активации транскрипционного фактора E2F1, который стимулирует транскрипцию гена $\alpha 7$, образуя петлю амплификации [135]. Поэтому базальные клеточные функции, регулируемые этими рецепторами, нарушаются под действием никотина и его производных. Кроме того, несколько исследований показали, что опухолевые клетки способны синтезировать ацетилхолин и, таким образом, запускать опухолегенез через автономную холинергическую петлю даже в отсутствие никотина или других агонистов nAChR [221].

Никотин и его нитрозамины могут ингибировать апоптоз, индуцированный опиоидами, этопозидами, цисплатином и УФ-излучением в клетках рака легкого [222]. Негативное влияние никотина на индуцированный химиотерапией апоптоз связывают с модуляцией функционального транспорта электронов в митохондриях

[127]. Недавно было показано, что никотин также ингибирует индуцированное химиотерапией повреждение ДНК при мелкоклеточном раке легкого [203]. Кроме того, никотин и его производные индуцируют экспрессию фактора эмбриональных стволовых клеток Sox2 через сигнальный путь $\alpha 7$ nAChR/ Yap1, повышая способность опухолевых стволовых клеток к самообновлению [223]. Это согласуется с выводом о том, что стволовые клетки экспрессируют nAChR, что было связано с регуляцией пролиферации и дифференцировки данных клеток [9, 224, 225]. Участие nAChR в функционировании стволовых клеток было недавно обобщено Alqahtani et al. [226], показавших, что необходимы дальнейшие исследования для определения роли nAChR в развитии рака.

Ангиогенез, развитие новых кровеносных сосудов, происходит также при патологических состояниях, таких как рак, сердечно-сосудистая и церебральная ишемия, различные неврологические заболевания, дегенерация желтого пятна и атеросклероз [227]. Воспалительные цитокины, гипоксия и другие ангиогенные стимулы способствуют экспрессии и высвобождению факторов роста (т.е. фактора роста эндотелия сосудов и фактора роста фибробластов) и, таким образом, пролиферации и миграции эндотелиальных клеток [228]. Было показано, что концентрации никотина в тканях и плазме индуцируют ангиогенез у умеренных курильщиков таким же образом, как и ангиогенные факторы роста [11]. В дальнейшем было продемонстрировано, что этот проангиогенный эффект ассоциирован с nAChR, поскольку он блокируется антагонистами nAChR - α -бунгаротоксином и мекамиламином [11].

Высказано предположение, что этот стимулирующий ангиогенез эффект никотина может быть, по крайней мере, частично ответственен за его пролиферативный эффект на опухоли. Было продемонстрировано *in vitro*, что никотин не увеличивает пролиферацию клеток рака легких Льюиса, у которых отсутствуют функциональные nAChR. Однако, когда эти клетки вводили мышам, системное введение никотина ускоряло рост опухоли. Это, в свою очередь, было связано с увеличением плотности капилляров в опухолевых узлах и миграцией эндотелиальных клеток-предшественников в ишемизированные участки у мышей.

Таким образом, никотин индуцировал ангиогенез *in vivo* и способствовал росту опухоли [11].

С другой стороны, было показано, что хроническое воздействие никотина устраняет проангиогенные эффекты [229]. Противоположное действие активации $\alpha 7$ nAChR на ангиогенез наблюдали при изучении процесса заживления закрытых и открытых ран. Li J.-Y. et al. предположили, что хроническая активация $\alpha 7$ nAChR при воспалении оказывает противовоспалительный эффект, что может привести к обратному развитию проангиогенных эффектов данного никотинового рецептора [230].

Никотиновые рецепторы были широко исследованы в отношении их электрофизиологических функций в нервно-мышечных соединениях, а также в центральной и периферической нервной системе. Однако, ткани без электрофизиологической функции, такие как эпителий, экспрессируют некоторые из тех же nAChR [9, 10].

В нашей работе установлено, что при гиперплазии эндометрия по сравнению с нормальным эндометрием повышена экспрессия генов $\alpha 4$ -nAChR, $\beta 1$ -nAChR и $\beta 2$ -nAChR [231]. Тогда как в нормальной эндометрии выявлена гиперэкспрессия генов $\alpha 3$ -nAChR, $\alpha 5$ -nAChR, $\alpha 6$ -nAChR и $\alpha 7$ -nAChR по сравнению с гиперплазированным. Это говорит о том, что экспрессия субъединиц nAChR регулируется и даже различается на разных стадиях трансформации клеток эндометрия. Субъединицы $\alpha 3$ -nAChR, $\alpha 5$ -nAChR, $\alpha 6$ -nAChR и $\alpha 7$ -nAChR, по-видимому, повышены в нормальных клетках по сравнению с гиперплазированными, что позволяет предположить, что они подавлена при гиперплазии могут быть вовлечены в защитные механизмы, направленные против трансформации клеток эпителия матки. Поэтому при разработке препаратов на основе nAChR следует обращать внимание на субъединицы рецепторов, экспрессия которых повышается в нормальных клетках, чтобы свести к минимуму побочные эффекты.

Несмотря на то, что рак эндометрия обычно возникает после менопаузы, до 14% диагнозов приходится на женщин в пременопаузе [42], при этом более 5%

случаев рака диагностируются в возрасте от 35 до 44 лет и 2% - в возрасте от 20 до 24 лет [43]. В многоцентровом исследовании с участием 477 женщин, сравнивавших критерии гиперплазии эндометрия Всемирной организации здравоохранения 1994 и 2014 годов, прогрессировало в рак 13% атипичной гиперплазии и 2,3% неатипичной гиперплазии по классификации 1994 года. Согласно обновленной классификации 19% случаев атипичной гиперплазии прогрессировали в рак эндометрия и в 0,6% случаев неатипичной гиперплазии трансформировались в опухолевый процесс [41].

Рак эндометрия в основном диагностируется на ранней стадии, когда опухоль ограничена маткой, так как женщины обращаются за медицинской помощью при ранних симптомах, таких как аномальное вагинальное кровотечение. Несмотря на то, что хирургическое вмешательство само по себе является высокоэффективным при раке эндометрия 1-2 стадии, с общей выживаемостью более 95% [51], тотальная гистерэктомия подразумевает бесплодие в тех случаях, когда РЭ диагностирован у женщин в пременопаузе.

Фертильносберегающие подходы у молодых пациенток с диагнозом рак эндометрия рекомендованы международными сообществами [51]. Однако консервативное лечение гинекологических заболеваний, таких как рак эндометрия и атипичная гиперплазия эндометрия, сопряжено с риском рецидива [53]. Таким образом, первостепенное значение имеет разработка стандартизированного и научно обоснованного ведения с четким определением критериев ранней диагностики, лечения первичного поражения и метода последующего наблюдения.

Даже для групп высокого риска с синдромом Линча или крайней стадией ожирения не существует строгих или научно обоснованных рекомендаций по скринингу бессимптомных пациенток с помощью биопсии эндометрия или УЗИ [232]. Большинство экспертов подчеркивают необходимость повышения знаний о заболевании женщинами и быстрой оценки симптомов (например, нерегулярных кровотечений, обильных кровотечений). Не существует руководящих принципов, одобряющих скрининг в общей популяции пациентов [4].

При подозрении на гиперплазию или рак эндометрия необходимо провести биопсию, дилатация и кюретаж эндометрия или дилатация и кюретаж эндометрия с гистероскопией, что может эффективно поставить диагноз. Если биопсия показывает рак, дальнейший гистологический анализ не показан, и пациентка должна быть направлена к гинекологу-онкологу для лечения. Если биопсия показывает гиперплазию эндометрия или внутриэпителиальную неоплазию эндометрия, остаются некоторые разногласия относительно необходимости дополнительной гистероскопии или дилатации с кюретажем для исключения рака перед тем, как приступить к окончательной терапии. Даже при предоперационном исследовании дилатация и кюретаж, показывающих только гиперплазию, в 27% случаев рак эндометрия будет обнаружен во время гистерэктомии (по сравнению с 46% случаев при биопсии только перед гистерэктомией), поэтому добавление дополнительной процедуры все равно не гарантирует отсутствие рака [233, 234, 235].

УЗИ стали неотъемлемой частью гинекологического обследования благодаря легкой доступности, удобству для большинства практикующих акушеров-гинекологов, простоте и приемлемости использования и отсутствию облучения, а также их эффективности. Ультразвуковое исследование часто является предпочтительным методом визуализации для оценки аномального кровотечения или наличия других патологий органов малого таза, включая опухоли придатков или матки [236].

Компьютерная томография пока ограниченно применяется при первичной оценке наличия и характера патологии эндометрия и не должна использоваться вне стадийных целей, если это необходимо при подтвержденном раке эндометрия. Если на компьютерной томографии, выполненной по другим причинам, случайно обнаруживаются отклонения, почти всегда рекомендуется ультразвуковое исследование или магнитно-резонансная томография для лучшей характеристики патологии эндометрия [236]. Поэтому является актуальным поиск биомаркеров, позволяющих дифференцировать нормальный и гиперплазированный эндометрий, а также рак эндометрия. Соответственно, нами было проведено исследование

диагностической значимости экспрессии никотин-ацетилхолиновых рецепторов при дифференциации данных процессов.

Из всех исследованных нами никотиновых ацетилхолиновых рецепторов только уровень относительной экспрессии $\alpha 4$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR позволяет дифференцировать нормальный и гиперплазированный эндометрий, из которых уровень $\alpha 4$ -nAChR более 8,31 с наибольшей вероятностью (чувствительность – 81%, специфичность – 70%, AUC=0,86; 95%ДИ=0,78-0,94; $p < 0,0001$) диагностировать гиперплазию эндометрия.

Рак эндометрия от нормального эндометрия позволяют дифференцировать $\alpha 1$ -nAChR, $\alpha 3$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR. При этом наибольшей диагностической значимостью обладал $\alpha 3$ -nAChR, который при относительном уровне экспрессии более 7,82 позволяет с наибольшей вероятностью (чувствительность – 96%, специфичность – 85%, AUC=0,94; 95%ДИ=0,86-0,98; $p = 0,001$) диагностировать рак эндометрия.

В качестве маркеров, на которые практическому врачу можно ориентироваться при определении тактики ведения женщин гиперплазией или раком эндометрия, помимо никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, потенциально могут выступать длинные некодирующие РНК, которые принимают участие в регуляции клеток [25, 237], что позволяет им выполнять различные биологические функции в организме.

Роль lncRNA при злокачественных новообразованиях заключается в нескольких механизмах. Во-первых, lncRNA могут регулировать передачу сигнала в клетках, что проявляется неконтролируемой активацией или, напротив, подавлением пролиферации опухолевых клеток. Во-вторых, lncRNA влияют на апоптоз опухолевых клеток, тем самым регулируя их рост и возможность к метастазированию. В-третьих, lncRNA могут регулировать и модифицировать экспрессию нескольких микроРНК, что приводит к изменению различных сигнальных путей, проявляющихся на эпигенетическом уровне [237].

lncRNA необходимы для дифференцировки клеток, осуществления органогенеза и поддержания тканевого гомеостаза. С одной стороны, lncRNA

через регуляцию экспрессии генов, изменяют активность метаболических процессов, что позволяет клеткам и организму адаптироваться к изменениям во внешней среде. Т.е., LncRNA выполняют саногенетическую роль. С другой стороны, LncRNA регулируют различные патологические процессы в клетках, в том числе и в опухолевых, такие как пролиферация, апоптоз, диффузия и метастазирование [25, 237].

Опухоли женской репродуктивной системы представляет значительную угрозу для здоровья женщины. LncRNA-MALAT1 является потенциальным биомаркером для диагностики и прогноза заболевания, а также геном-мишенью для разработки новых терапевтических подходов при лечении гинекологических опухолей. LncRNA-MALAT1 играет значимую роль в патогенезе развития и прогрессирования злокачественных новообразований [207]. Разработка таргетных препаратов, нацеленных на lncRNA-MALAT1, и понимание механизмов их действия является перспективным направлением для лечения онкологических заболеваний.

Yang et al. показали, что при раке шейки матки уровень экспрессии LncRNA-MALAT1 коррелирует с клинико-патологическими особенностями заболевания. Также показана взаимосвязь экспрессии LncRNA-MALAT1 с пролиферацией и миграцией клеток, способностью к инвазивному росту и метастазированию [238]. Подавление экспрессии LncRNA-MALAT1 может уменьшить миграцию и инвазию опухолевых клеток и повысить активность их апоптоза. Lu et al. показали, что в клеточных линиях рака шейки матки ингибирование экспрессии LncRNA-MALAT1 может уменьшить образование опухолевых клонов, заставляя большое количество клеток останавливаться в фазе G2 клеточного цикла и увеличивать апоптоз.

По результатам проведенного анализа выявлено, что уровень экспрессии lncRNA-MALAT1 имеет умеренную прямую корреляционную взаимосвязь с возрастом женщин при гиперплазии и раке эндометрия. Уровень экспрессии lncROR-1 также показал сильную прямую зависимость с возрастом женщин. При этом рак эндометрия регистрировался у женщин более старшего возраста.

С количеством выкуриваемых сигарет значимо умеренно прямо коррелировал уровень экспрессии lncRNA-MALAT1 у больных раком эндометрия, а у пациенток с гиперплазией эндометрия умеренно прямо коррелировали уровни экспрессии как lncRNA-MALAT1, так и lncROR-1 [239]. Следовательно, можно предположить, что, несмотря на то что по данным других исследователей [7, 85] факт курения ассоциируется с меньшим риском развития рака эндометрия, данный феномен зависит от количества выкуриваемых сигарет, как ранее было показано на примере никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, влияя на экспрессию lncRNA-MALAT1 и lncROR-1, повышая или понижая риск развития гиперпластических процессов в эндометрии. Для понимания механизмов данной взаимосвязи необходимо проведение дополнительных экспериментальных работ при данной патологии.

В нашем исследовании показан значимо повышенный уровень экспрессии lncRNA-MALAT1 при раке эндометрия по сравнению нормальным и гиперплазированным эндометрием, что может быть перспективным в качестве дифференциально-диагностического критерия, а также открывает возможности для дальнейших исследований по оценке эффективности терапии на основании динамики экспрессии данного биомаркера.

Злокачественные новообразования характеризуется высокой заболеваемостью и смертностью. Поэтому необходимо провести дальнейшие исследования для выяснения роли lncRNA-MALAT1 патогенезе рака эндометрия, оценить благоприятные и неблагоприятные эффекты связанных с данной длинной некодирующей РНК сигнальных путей, что разработать оптимальный метод блокирования пролиферации и миграции опухолевых клеток. Кроме того, в необходимо оценить взаимосвязь полиморфизмов lncRNA-MALAT1 с трансляционным механизмом и уровнем ее экспрессии в опухолевых клетках для более полного понимания роли данной молекулы в канцерогенезе. Таким образом, lncRNA-MALAT1 можно рассматривать в качестве потенциального биомаркера рака эндометрия и потенциальной терапевтической мишени для ограничения роста.

Другой исследованный нами маркер lncROR-1 продемонстрировал другую закономерность. Самый высокий уровень его экспрессии зарегистрирован у женщин с гиперплазией эндометрия, тогда как при раке тела матки экспрессия данного биомаркера не регистрировалась. Соответственно, повышенный уровень экспрессии lncROR-1 можно рассматривать в качестве потенциального биомаркера гиперплазии эндометрия, а отсутствие его экспрессии – в качестве дифференциально-диагностического критерия отсутствия рака эндометрия.

Исследования на животных и клеточные модели показывают, что ингибирование lncROR-1 может существенно замедлить прогрессию опухолей и уменьшить размеры опухолевых очагов. Более того, некоторые клинические исследования показывают, что высокий уровень экспрессии ROR-1 связан с плохим прогнозом и низкими выживаемостью у пациентов с различными видами рака [240]. В связи с этим, lncROR-1 становится потенциальной мишенью для разработки новых лекарственных препаратов и терапевтических подходов в борьбе со злокачественными новообразованиями [241].

Наши данные отличаются от результатов некоторых других исследователей [27, 240], которые показали, что повышенный уровень экспрессии lncROR-1 ассоциируется с развитием онкопроцесса и прогнозом. Но эти данные были получены при других злокачественных новообразованиях, тогда как наше исследование явилось первым, в котором исследовалась сравнительная экспрессия lncROR-1 при гиперплазии и раке эндометрия. Наши данные представляет особый интерес в связи с тем, что не понятен молекулярный механизм отсутствия экспрессии lncROR-1 в клетках при раке эндометрия и его роль в развитии гиперплазии эндометрия. Соответственно, в этом направлении необходимы дальнейшие, в том числе и экспериментальные исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наряду с давно исследованной ролью никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в нейротрансмиссии, в настоящее время большое внимание уделяется изучению их роли в других процессах клеточной жизнедеятельности, включая выживаемость и пролиферацию, поддержание окислительно-восстановительного баланса. Экспериментальные и клинические исследования показали, что активация nAChR активирует развитие окислительного стресса и усиливает пролиферацию клеток. С одной стороны, это играет важную роль в канцерогенезе, способствует как образованию, прогрессированию и метастазированию опухолей. С другой стороны, при нейродегенеративных и других заболеваниях усиление репаративных процессов может иметь саногенетический эффект. Поэтому понимание патогенетической или защитной роли определенных типов nAChR имеет важное значение для прогнозирования развития патологических процессов и разработки препаратов таргетной терапии, направленных на блокирование или активацию экспрессии определенных субтипов рецепторов.

При этом результаты многих исследований пока не дают однозначного ответа об эффективности активации или блокады nAChR. Выраженность и направленность эффектов активации или блокады nAChR при злокачественных новообразованиях могут зависеть от многих факторов: 1) специфичность агонистов или блокаторов по отношению к определенным субтипам рецепторов; 2) длительность воздействия агонистов или блокаторов; 3) гистологический тип и степень злокачественности опухолевых клеток; 4) полипрагмазия, связанная с применением комбинированного противоопухолевого лечения. Полученные нами данные о роли определенных типов nAChR при развитии гиперплазии и рака эндометрия позволяют использовать их в качестве основы для дальнейших исследований физиологических процессов в эндометрии во взаимосвязи с факторами риска клеточной трансформации и для разработки методов направленного воздействия на патологические состояния, в частности, на гиперпластические процессы эндометрия.

В представленном исследовании была изучена дифференциальная экспрессия субтипов nAChR, lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 в нормальном эндометрии, при его гиперплазии и раке, чтобы позволило выявить, какие субъединицы nAChR, а также lncRNA играют ключевую роль в патогенезе гиперплазии и рака эндометрия и могут быть потенциальными мишенями для создания таргетных лекарственных препаратов.

Нами установлено, что при гиперплазии эндометрия по сравнению с нормальным эндометрием повышена экспрессия генов $\alpha 4$ -nAChR, $\beta 1$ -nAChR и $\beta 2$ -nAChR и, напротив, понижена экспрессия генов $\alpha 3$ -nAChR, $\alpha 5$ -nAChR, $\alpha 6$ -nAChR и $\alpha 7$ -nAChR. Тогда как при раке эндометрия гиперэкспрессируются только $\alpha 1$ -nAChR, $\alpha 3$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR по сравнению с нормальным и гиперплазированным эндометрием. Полученные результаты особенностей экспрессии генов nAChR в эпителиальной ткани матки женщин репродуктивного возраста позволяют рассматривать гиперэкспрессию $\alpha 1$ -nAChR, $\alpha 3$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR в качестве потенциального предиктора развития рака эндометрия, а также показывают перспективность разработки специфических блокаторов, нацеленных на гиперэкспрессию nAChR в опухолевых клетках для повышения эффективности и безопасности противоопухолевой терапии.

При гиперплазии эндометрия по сравнению с нормальным эндометрием и опухолевыми клетками при раке эндометрия повышена экспрессия lncROR-1, тогда как при раке тела матки гиперэкспрессируется только lncRNA-MALAT1. Полученные результаты особенностей экспрессии генов lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 в эпителиальной ткани матки женщин репродуктивного возраста позволяют рассматривать данные биомаркеры как потенциальные дифференциально-диагностические предикторы развития гиперплазии эндометрия и рака тела матки.

ВЫВОДЫ

1. Развитие гиперпластических процессов и малигнизация эндометрия ассоциировано с комплексом клиничко-анамнестических факторов риска. При гиперплазии эндометрия у женщин репродуктивного возраста значимо чаще регистрируется ожирение 1 степени ($p=0,018$), а также более старший возраст первых родов. К основным факторам риска развития рака эндометрия относятся курение и более старший возраст женщин. При этом, количество выкуриваемых сигарет в сутки у пациенток с раком тела матки значимо меньше по сравнению с женщинами с морфологически неизменённым эндометрием ($p=0,037$).

2. При эндометриальной интраэпителиальной неоплазии наблюдается повышенная экспрессия генов $\alpha 3$ -nAChR на 276% ($p<0,001$), $\alpha 5$ -nAChR на 227% ($p<0,001$), $\alpha 6$ -nAChR на 263% ($p<0,001$) и гена $\alpha 7$ -nAChR на 158% ($p=0,014$). Полученные данные указывают, что повышенный уровень экспрессии данных субъединиц влияет на дифференцировку неизменного эндометрия с потенциальным развитием гиперплазии эндометрия. При раке эндометрия выявлена гиперэкспрессия $\alpha 1$ -nAChR, $\alpha 3$ -nAChR и $\alpha 6$ -nAChR субъединицы. Наибольшей диагностической значимостью обладает $\alpha 3$ -nAChR ($AUC=0,94$; $95\%ДИ=0,86-0,98$; $p=0,001$) и может рассматриваться в качестве предиктора неотрансформации при гиперплазии эндометрия.

3. При эндометриальной интраэпителиальной неоплазии выявлена повышенная экспрессия lncROR-1 на 182% ($p=0,001$), тогда как при раке эндометрия регистрируется гиперэкспрессия lncRNA-MALAT1 на 2152% ($p<0,001$) выше по сравнению с гиперплазией эндометрия.

4. Уровни экспрессии субъединиц nAChR зависят от факторов риска развития гиперплазии и рака эндометрия. Выявлена прямая взаимосвязь экспрессии $\alpha 1$ -nAChR ($r=0,82$, $p=0,001$), $\alpha 3$ -nAChR ($r=0,68$, $p=0,011$) и $\alpha 6$ -nAChR ($r=0,58$, $p=0,023$) с возрастом женщин при эндометриоидной аденокарциномы. У женщин с эндометриальной интраэпителиальной неоплазией наблюдается обратная умеренная корреляция $\alpha 4$ -nAChR ($r=-0,58$, $p=0,024$) с индексом массы тела, а так же

установлена прямая взаимосвязь уровней экспрессии $\alpha 5$ -nAChR ($r=0,85$, $p=0,002$) и $\alpha 6$ -nAChR ($r=0,79$, $p=0,002$) с количеством выкуриваемых сигарет.

5. Уровни экспрессии lncRNA-MALAT1 и lncROR-1 зависят от факторов риска развития гиперплазии эндометрия. У пациенток с гиперплазией эндометрия выявлена умеренная прямая корреляционная взаимосвязь уровней экспрессии lncRNA-MALAT1] ($r=0,57$, $p=0,025$) и lncROR-1 ($r=0,80$, $p=0,001$) с возрастом женщин. Регистрируется обратно умеренная корреляционная взаимосвязь индексом массы тела lncRNA-MALAT1 при гиперплазии эндометрия. С количеством выкуриваемых сигарет умеренно прямо коррелирует ($r=0,72$, $p=0,001$) уровень экспрессии lncRNA-MALAT1 у больных раком эндометрия, а у пациенток с гиперплазией эндометрия умеренно прямо коррелируют уровни экспрессии lncRNA-MALAT1 ($r=0,63$, $p=0,027$) и lncROR-1 ($r=0,66$, $p=0,004$)

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для повышения точности дифференциальной диагностики эндометриальной интраэпителиальной неоплазии и рака эндометрия у женщин репродуктивного возраста после диагностического выскабливания слизистой матки наряду с последующим морфологическим исследованием полученного материала рекомендуется определять уровни экспрессии следующих генов в эндометрии: а) для дифференциации гиперплазированного и нормального эндометрия – $\alpha 4$ -nAChR и lncRNA-MALAT1; б) для дифференциальной диагностики рака и гиперплазии эндометрия - $\alpha 3$ -nAChR и lncRNA-MALAT1; в) для дифференциации рака эндометрия от нормального и эндометриальной интраэпителиальной неоплазии - lncROR-1. При отсутствии экспрессии lncROR-1 и, напротив, при повышенном уровне экспрессии $\alpha 3$ -nAChR и lncRNA-MALAT1 - высокая вероятность рака эндометрия; при повышенном уровне $\alpha 4$ -nAChR – высокая вероятность гиперплазии эндометрия.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВПЧ - вирус папилломы человека

ДИ – доверительный интервал

ИМТ – индекс массы тела

Me – медиана

nAХР - никотиновые ацетилхолиновые рецепторы

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СПКЯ - синдром поликистозных яичников

lncRNA - длинная некодирующая РНК

LncRNA-MALAT1 - длинная некодирующая РНК MALAT1 (ассоциированная с метастазированием аденокарциномы легких)

MCF-7 - инвазивная аденокарцинома протоков молочной железы

MDSC - миелоидные клетки-супрессоры

mPTP - пора митохондриальной проницаемости

nAChR - никотин-ацетилхолиновый рецептор

PTEN - гомолог фосфатазы и тензина

ROR-1 - receptor tyrosine kinase like orphan receptor-1

SNP - однонуклеотидный полиморфизм

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каприн, А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. – 2022. – С. 239.
2. Cancer statistics, 2022 / R. L. Siegel, K. D. Miller, H. E. Fuchs, A. Jemal // CA Cancer J. Clin. – 2022. – Vol. 72. - № 1. – P. 7-33. DOI: 10.3322/caac.21708.
3. Serum estrogens and estrogen metabolites and endometrial cancer risk among postmenopausal women / L. A. Brinton, B. Trabert, G. L. Anderson [et al.] // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2016. – Vol. 25. - № 7. – P. 1081-1089. DOI: 10.1158/1055-9965.
4. Оразов, М.Р. Рецидивирующая эндометриальная гиперплазия без атипии в репродуктивном возрасте. Прогнозирование и ранняя диагностика / М. Р. Оразов, Л. М. Михалёва, И. А. Муллина // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2023. - № 3 – С. 30–33.
5. Age at menopause and risk of developing endometrial cancer: a meta-analysis / Y. Wu, W. Sun, H. Liu, D. Zhang // Biomed Res Int. – 2019. – Vol. 2019. – P. 8584130. DOI: 10.1155/2019/8584130.
6. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer: a meta-analysis / B. Zhou, L. Yang, Q. Sun [et al.] // Am J Med. – 2008. – Vol. 121. - № 6. – P. 501-508.e3. DOI: 10.1016/j.amjmed.2008.01.044.
7. Risk factors for endometrial cancer: An umbrella review of the literature / O. Raglan, I. Kalliala, G. Markozannes [et al.] // Int J Cancer. – 2019. – Vol. 145. - № 7. – P. 1719-1730. DOI: 10.1002/ijc.31961.
8. Circulating sex hormones and breast cancer risk factors in postmenopausal women: reanalysis of 13 studies / Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group, T. J. Key, P. N. Appleby, G. K. Reeves [et al.] // Br J Cancer. – 2011. – Vol. 105. - № 5 – P. 709-22. DOI: 10.1038/bjc.2011.254.

9. Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы человека. Часть II: не-нейрональная холинергическая система / М. А. Шулепко, М. Л. Бычков, Д. С. Кульбацкий, Е.Н. Люкманова // *Биоорганическая химия*. – 2019. - № 3. – С. 227-237.
10. Nicotine: Specific role in angiogenesis, proliferation and apoptosis / A. Cardinale, C. Nastrucci, A. Cesario, P. Russo // *Crit Rev Toxicol*. – 2012. – Vol. 42. - № 1. – P. 68-89. DOI: 10.3109/10408444.2011.623150.
11. Bele, T. Nicotinic acetylcholine receptors in cancer: Limitations and prospects / T. Bele, N. Turk, I. Krizaj // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. – 2024. – Vol. 1870. - № 1. – P. 166875. DOI: 10.1016/j.bbadis.2023.166875.
12. Long non-coding RNAs: From disease code to drug role / Y. Chen, Z. Li, X. Chen, S. Zhang // *Acta Pharm Sin B*. – 2021. – Vol. 11. - № 2. – P. 340-354. DOI: 10.1016/j.apsb.2020.10.001.
13. Nicotine Induces Tumor Growth and Chemoresistance through Activation of the PI3K/Akt/mTOR Pathway in Bladder Cancer / K. Yuge, E. Kikuchi, M. Hagiwara [et al.] // *Mol Cancer Ther*. – 2015. – Vol. 14. - № 9. – P. 2112-20. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0140.
14. Tobacco-specific carcinogen enhances colon cancer cell migration through alpha7-nicotinic acetylcholine receptor / P. L. Wei, Y. J. Chang, Y. S. Ho [et al.] // *Ann Surg*. – 2009. – Vol. 249. - № 6. – P. 978-985. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181a6ce7e.
15. The dual role of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor in inflammation-associated gastrointestinal cancers / K. Hajiasgharzadeh, M. H. Somi, S. Sadigh-Eteghad [et al] // *Heliyon*. – 2020. – Vol. 6. - № 3. – P. e03611. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03611.
16. Regulation of tumor progression via the Snail-RKIP signaling pathway by nicotine exposure in head and neck squamous cell carcinoma / S. Nieh, S. W. Jao, C. Y. Yang [et al.] // *Head Neck*. – 2015. – Vol. 37. - № 12. – P. 1712-1721. DOI: 10.1002/hed.23820.
17. Jin, T. Nicotine induces aberrant hypermethylation of tumor suppressor genes in pancreatic epithelial ductal cells / T. Jin, J. Hao, D. Fan // *Biochem Biophys*

Res Commun. – 2018. – Vol. 499. - № 4. – P. 934-940. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.04.022.

18. Role of nicotinic acetylcholine receptors in cell proliferation and tumour invasion in broncho-pulmonary carcinomas / K. Medjber, M. L. Freidja, S. Grelet [et al.] // Lung Cancer. – 2015. – Vol. 87. - № 3. – P. 258-64. DOI: 10.1016/j.lungcan.2015.01.001.

19. Overexpression and activation of the $\alpha 9$ -nicotinic receptor during tumorigenesis in human breast epithelial cells / C. H. Lee, C. S. Huang, C. S. Chen [et al.] // J Natl Cancer Inst. – 2010. – Vol. 102. - № 17. – P. 1322-35. DOI: 10.1093/jnci/djq300.

20. Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits nicotine- and estrogen-induced $\alpha 9$ -nicotinic acetylcholine receptor upregulation in human breast cancer cells / S. H. Tu, C. Y. Ku, C. T. Ho [et al.] // Mol Nutr Food Res. – 2011. – Vol. 55. - № 3. – P. 455-66. DOI: 10.1002/mnfr.201000254.

21. Stimulation of $\alpha 7$ -nAChRs coordinates autophagy and apoptosis signaling in experimental knee osteoarthritis / Y. Liu, S. Xu, H. Zhang [et al.] // Cell Death Dis. – 2021. – Vol. 12. – P. 448. DOI: 10.1038/s41419-021-03726-4.

22. Гиперплазии эндометрия: без атипии и с атипией / М. А. Сабанцев, С. В. Шрамко, В. Г. Левченко [и др.] // Гинекология. – 2021. - № 1. – С. 18-24.

23. Recent Advances in Predicting Protein-lncRNA Interactions Using Machine Learning Methods / H. Yu, Z. A. Shen, Y. K. Zhou, P. F. Du // Cur Gene Ther. – 2022. – Vol. 22. – P. 228–244. DOI: 10.2174/1566523221666210712190718.

24. Chowdhary, A. Long Non-coding RNAs: Mechanisms, Experimental, and Computational Approaches in Identification, Characterization, and Their Biomarker Potential in Cancer / A. Chowdhary, V. Satagopam, R. Schneider // Front Genet. – 2021. – Vol. 12. – P. 649619. DOI: 10.3389/fgene.2021.649619.

25. Бейлерли, О.А. Роль длинных некодирующих РНК в биологии опухолей / О. А. Бейлерли, И. Ф. Гареев // Бюллетень сибирской медицины. - 2020. - № 1. – С. 125–133.

26. High-level ROR1 associates with accelerated disease progression in chronic lymphocytic leukemia / B. Cui, E. M. Ghia, L. Chen [et al.] // *Blood*. – 2016. – Vol. 128. - № 25. – P. 2931–40. DOI: 10.1182/blood-2016-04-712562.

27. Inhibition of tumor growth by mouse ROR1 specific antibody in a syngeneic mouse tumor model / H. Hassannia, M. M. Amiri, F. Jadidi-Niaragh [et al.] // *Immunol Lett*. – 2018. – Vol. 193. – P. 35-41. DOI: 10.1016/j.imlet.2017.11.010.

28. Серозная карцинома эндометрия с метастатическим поражением сердца (случай из практики) / М. В. Завьялова, С. В. Вторушин, Н.С. Телегина Н [и др.] // *Опухоли женской репродуктивной системы*. - 2023. - № 2. – С. 127–32.

29. Endometrial hyperplasia as a risk factor of endometrial cancer / L. K. Nees, S. Heublein, S. Steinmacher [et al.] // *Arch Gynecol Obstet*. – 2022. – Vol. 306. - № 2. – P. 407–421. DOI: 10.1007/s00404-021-06380-5.

30. Ring, K.L. Endometrial hyperplasia / K. L. Ring, A. M. Mills, S. C. Modesitt // *Obstet Gynecol*. – 2022. – Vol. 140. - № 6. – P. 1061–1075. DOI: 10.1097/AOG.0000000000004989.

31. Оразов, М.Р. Гиперплазия эндометрия: современный взгляд на проблему / М. Р. Оразов, Л. М. Михалёва, И. А. Мулина // *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение*. – 2022. – № 3 – С. 62–67.

32. Wilson, P.C. Progression of endometrial hyperplasia: a revisit under the 2014 WHO classifications / P. C. Wilson, N. Buza, P. Hu // *Int J Clin Exp Pathol*. - 2015. – Vol. 9. – P. 1617–1625.

33. Revising the WHO classification: female genital tract tumours / I. A. Cree, V. A. White, B. I. Indave, D. Lokuhetty // *Histopathology*. – 2020. – Vol. 76. - № 1. – P. 151-156. DOI: 10.1111/his.13977.

34. Органосохраняющее лечение атипической гиперплазии и рака эндометрия: современные тенденции / А. А. Петрожицкая, Р. К. Танделов, Н. А. Зайцев, К. Ю. Морхов // *Злокачественные опухоли*. – 2023. -№ 2. – С. 5.

35. Incidence rates of endometrial hyperplasia, endometrial cancer and hysterectomy from 1980 to 2003 within a large prepaid health plan / J. V. Jr Lacey, V.

M. Chia, B. B. Rush [et al.] // *Int J Cancer*. – 2012. – Vol. 131. – P. 1921–1929. DOI: 10.1002/ijc.27457.

36. Bilir, E. The role of hysteroscopy in fertility preservation in endometrial cancer and atypical endometrial hyperplasia: a semi-systematic literature review / E. Bilir, I. Kahramanoğlu // *Arch Gynecol Obstet*. – 2023. – Vol. 308. - № 4. – P. 1113-1126. DOI: 10.1007/s00404-023-06960-7.

37. Prediction of complete regression in fertility-sparing patients with endometrial cancer and apical hyperplasia: the GLOBAL model in a large Chinese cohort / X. Li, Y. Wang, J. Wang [et al.] // *J Transl Med*. – 2024. – Vol. 22. - № 1. – P. 127. DOI: 10.1186/s12967-023-04671-w.

38. Utility of a PAX2, PTEN, and β -catenin Panel in the Diagnosis of Atypical Hyperplasia/Endometrioid Intraepithelial Neoplasia in Endometrial Polyps / E. Lucas, S. Niu, M. Aguilar [et al.] // *Am J Surg Pathol*. – 2023. – Vol. 47. - № 9. – P. 1019-1026. DOI: 10.1097/PAS.0000000000002076.

39. Li, J.J.X. Endometrial Cancer: An Update on Prognostic Pathologic Features and Clinically Relevant Biomarkers / J. J. X. Li, P. P. C. Ip // *Surg Pathol Clin*. – 2022. – Vol. 15. - № 2. – P. 277-299. DOI: 10.1016/j.path.2022.02.006.

40. Kurman, R.J. The behavior of endometrial hyperplasia. A long-term study of "untreated" hyperplasia in 170 patients / R. J. Kurman, P. F. Kaminski, H. J. Norris // *Cancer*. – 1985. – Vol. 56. – P. 403–12. DOI:10.17749/2313-7347.2016.10.2.005-010.

41. Reproducibility of current classifications of endometrial endometrioid glandular proliferations: further evidence supporting a simplified classification / J. Ordi, C. Bergeron, D. Hardisson [et al.] // *Histopathology*. – 2014. – Vol. 64. – P. 284–292. DOI: 10.1111/his.12249.

42. Passarello, K. Endometrial Cancer: An Overview of Pathophysiology, Management, and Care / K. Passarello, S. Kurian, V. Villanueva // *Semin Oncol Nurs*. – 2019. – Vol. 35. – P. 157–165. DOI: 10.1016/j.soncn.2019.02.002.

43. Controversies of the Hormonal Conservative Treatment of Endometrial Cancer / L. Minig, D. Franchi, J. Valero de Bernabé, M. Sideri // *Gynecol Obstet Investig* - 2013. – Vol. 75. – P. 145–151. DOI: 10.1155/2010/638165.

44. Современный взгляд на тактику ведения пациенток с патологическими процессами эндометрия в пери- и постменопаузе / Т. Ю. Пестрикова, Е. А. Юрасова, Т. Д. Ковалева [и др.] // *Гинекология*. – 2020. - № 4. - С. 49-54.

45. Fertility-Sparing Approach in Women Affected by Stage I and Low-Grade Endometrial Carcinoma: An Updated Overview / G. Gullo, A. Etrusco, G. Cucinella [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22. – Vol. 11825. DOI: 10.3390/ijms222111825.

46. Fertility-Sparing Approaches in Atypical Endometrial Hyperplasia and Endometrial Cancer Patients: Current Evidence and Future Directions / N. -A. Contreras, J. Sabadell, P. Verdaguer [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2022.- Vol. 23. – P. 2531.

47. Updates on conservative management of endometrial cancer in patients younger than 45 years / S. M. Lucchini, A. Esteban, M. A. Nigra [et al.] // *Gynecol Oncol*. – 2021. – Vol. 161. – P. 802–809. DOI: 10.1016/j.ygyno.2021.04.017.

48. Sentinel lymph node for endometrial cancer treatment: Review of the literature / P. C. Zorzato, M. Bosco, M. P. Franchi [et al.] // *Minerva Med*. – 2021. – Vol. 112. – P. 70–80. DOI: 10.23736/S0026-4806.20.07117-7.

49. Adjuvant chemotherapy in early-stage endometrioid endometrial cancer with >50% myometrial invasion and negative lymph nodes / F. Multinu, S. Garzon, A. L. Weaver [et al.] // *Int J Gynecol Cancer*. – 2021. – Vol. 31. – P. 537–544. DOI: doi: 10.1136/ijgc-2020-002094.

50. Reyes-Baez, F.E. Lumping and splitting: The need for precision medicine and “personomics” in endometrial cancer / F. E. Reyes-Baez, S. Garzon, A. Mariani // *J Gynecol Oncol*. – 2021. – Vol. 32. – P. e38. DOI: 10.3802/jgo.2021.32.e38.

51. Fertility-Sparing management for endometrial cancer: Review of the literature / S. Garzon, S. Uccella, P. C. Zorzato [et al.] // *Minerva Med*. – 2021. – Vol. 112. – P. 55–69. DOI: 10.23736/S0026-4806.20.07072-X.

52. Fertility-Sparing management of gynecological cancers / M. Fastrez, C. Houba, J. Vandromme, S. Rozenberg // *Maturitas*. – 2015. – Vol. 82. – P. 141–145. DOI: 10.1016/j.maturitas.2015.06.031.

53. Fertility preservation in women affected by gynaecological cancer: The importance of an integrated gynaecological and psychological approach / V. L. La Rosa, S. Garzon, G. Gullo [et al.] // *Ecancermedicalscience*. – 2020. – Vol. 14. – P. 1035. DOI: 10.3332/ecancer.2020.1035.

54. Outcomes of women treated with progestin and metformin for atypical endometrial hyperplasia and early endometrial cancer: A systematic review and meta-analysis / J. Chae-Kim, G. Garg, L. Gavrilova-Jordan [et al.] // *Int J Gynecol Cancer*. – 2021. – Vol. 31. – P. 1499–1505. DOI: 10.1136/ijgc-2021-002699.

55. The addition of metformin to progestin therapy in the fertility-sparing treatment of women with atypical hyperplasia/endometrial intraepithelial neoplasia or endometrial cancer: Little impact on response and low live-birth rates / S. Acosta-Torres, T. Murdock, R. Matsuno [et al.] // *Gynecol Oncol*. – 2020. – Vol. 157. - №2. - P. 348–356. – DOI: 10.1016/j.ygyno.2020.02.008.

56. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma / N. Concin, X. Matias-Guiu, I. Vergote [et al.] // *Int J Gynecol Cancer*. – 2021. – Vol. 31. – P. 12–39. DOI: 10.1136/ijgc-2020-002230.

57. Survival in clinical stage I endometrial cancer with single vs. multiple positive pelvic nodes: Results of a multi-institutional Italian study / S. Uccella, F. Falcone, S. Greggi [et al.] // *J Gynecol Oncol*. – 2018. – Vol. 29. – P. e100. DOI: 10.3802/jgo.2018.29.e100.

58. Primary brain metastases of endometrial cancer: A report of 18 cases and review of the literature / S. Uccella, J. M. Morris, F. Multinu [et al.] // *Gynecol Oncol*. – 2016. – Vol. 142. – P. 70–75. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.04.013.

59. Aberrant Telomere Length in Circulating Cell-Free DNA as Possible Blood Biomarker with High Diagnostic Performance in Endometrial Cancer / M. Benati, M. Montagnana, E. Danese [et al.] // *Pathol Oncol Res*. – 2020. – Vol. 26. – P. 2281–2289. DOI: 10.1007/s12253-020-00819-x.

60. Молекулярно-генетические особенности рака эндометрия и их взаимосвязь с клинико-морфологическими характеристиками / Е. И. Королёва, А. А. Мусаелян, В. Д. Назаров, С. В. Лапин // Молекулярная медицина. – 2022. - № 3. – С. 34–40.

61. Contreras, N.A. Fertility-Sparing Approaches in Atypical Endometrial Hyperplasia and Endometrial Cancer Patients: Current Evidence and Future Directions / N. A. Contreras, J. Sabadell, P. Verdaguer // Int J Mol Sci. - 2022. – Vol. 23. - № 5. – P. 2531. DOI: 10.3390/ijms23052531.

62. Пономаренко, И.В. Гиперпластические процессы эндометрия: этиопатогенез, факторы риска, полиморфизм генов – кандидатов / И. В. Пономаренко, А. В. Полоников, М. И. Чурносков // Акушерство и гинекология. – 2019. -№ 1. – С. 13-18.

63. Biomolecular and Genetic Prognostic Factors That Can Facilitate Fertility-Sparing Treatment (FST) Decision Making in Early Stage Endometrial Cancer (ES-EC): A Systematic Review / P. Tanos, S. Dimitriou, G. Gullo, V. Tanos // Int J Mol Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 2653. DOI: 10.3390/ijms23052653.

64. Перспективные предикторы трансформации гиперплазии эндометрия / С.А. Леваков, Т. А. Громова, Н. А. Шешукова, В. В. Золотарева // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. - 2023. - №4. – С. 53–59.

65. Диагностика синдрома Линча у онкологических пациентов: позиция Межрегиональной организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии / А. С. Цуканов, И. А. Демидова, Г. А. Цаур [и др.] // Вопросы онкологии. – 2023& - № 1. – С. 7-14.

66. Society of Gynecologic Oncology statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions / J. M. Lancaster, C. B. Powell, L. – M. Chen, D. L. Richardson // Gynecol Oncol. - 2015. – Vol. 136. – P. 3–7. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.09.009.

67. Prevalence and Prognosis of Lynch Syndrome and Sporadic Mismatch Repair Deficiency in Endometrial Cancer / C. C. B. Post, E. Stelloo, V. T. H. B. M.

Smit [et al.] // JNCI J Natl Cancer Inst. – 2021. – Vol. 113. – P. 1212–1220. DOI: 10.1093/jnci/djab029.

68. Hampel, H. How do we approach the goal of identifying everybody with Lynch syndrome? / H. Hampel, A. de la Chapelle // Fam Cancer. – 2013. – Vol. 12. – P. 313–317. DOI: 10.1007/s10689-013-9611-5.

69. Underkofler, K.A. Updates in gynecologic care for individuals with lynch syndrome / K. A. Underkofler, K. L. Ring // Front Oncol. – 2023. – Vol. 13. – P. 1127683. DOI: 10.3389/fonc.2023.1127683.

70. Современное представление о проблеме гиперплазии эндометрия. Научное обозрение / Л. Г. Ерофеева, А. Г. Сидоркина, Г. Н. Новопашина, Б. Б. Ерофеев // Медицинские науки. – 2022. - №6. – С.82-88.

71. Endometrial intraepithelial carcinoma in association with polyp: review of eight cases / M. Yasuda, T. Katoh, S. Hori [et al.] // Diagn Pathol. – 2013. – Vol. 8. – P. 25. DOI: 10.1186/1746-1596-8-25.

72. Оразов, М.Р. Прогнозирование рецидивирующей гиперплазии эндометрия / М. Р. Оразов, Л. М. Михалёва, И. А. Муллина // Трудный пациент. - 2021. - № 7 – С. 6–8.

73. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome / V. Bonadona, B. Bonaiti, S. Olschwang [et al.] // JAMA. – 2011. – Vol. 305. – P. 2304–2310. DOI: 10.1001/jama.2011.743.

74. Association of mismatch repair mutation with age at cancer onset in Lynch syndrome: implications for stratified surveillance strategies / N. A. J. Ryan, J. Morris, K. Green [et al.] // JAMA Oncol. – 2017. – Vol. 3. – P. 1702–1706. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.0619.

75. Cancer risk and survival in path_MMR carriers by gene and gender up to 75 years of age: a report from the Prospective Lynch Syndrome Database / P. Moller, T. T. Seppala, I. Bernstein [et al.] // Gut. – 2018. – Vol. 67. – P. 1306–1316. DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314057.

76. Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations / M. – H. Tan, J. L. Mester, J. Ngeow [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2012. – Vol. 18. – P. 400–407. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2283.

77. The patients with Peutz-Jeghers syndrome have a high risk of developing cancer / C. Tavusbay, T. Acar, H. Kar [et al.] // *Turk J Surg.* – 2018. – Vol. 34. - № 2. – P. 162-164. DOI: 10.5152/turkjsurg.2017.3241.

78. Body-mass index and risk of 22 specific cancers: a population-based cohort study of 5\$24 million UK adults / K. Bhaskaran, I. Douglas, H. Forbes [et al.] // *Lancet.* – 2014. – Vol. 384. – P. 755–765.

79. Body mass index trumps age in decision for endometrial biopsy: cohort study of symptomatic premenopausal women / M. R. Wise, P. Gill, S. Lensen [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2016. – Vol. 215. – P. 598.e1–8. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.06.006.

80. Risk of complex and atypical endometrial hyperplasia in relation to anthropometric measures and reproductive history / M. Epplein, S. D. Reed, L. F. Voigt [et al.] // *Am J Epidemiol.* – 2008. – Vol. 168. - P. 563–570. DOI: 10.1093/aje/kwn168.

81. Women at extreme risk for obesityrelated carcinogenesis: baseline endometrial pathology and impact of bariatric surgery on weight, metabolic profiles and quality of life / S. C. Modesitt, P. T. Hallowell, J. K. Slack-Davis [et al.] // *Gynecol Oncol.* – 2015. – Vol. 138. – P. 238–245. DOI: 10.1016/j.ygyno.2015.05.015.

82. Life-style and metformin for the prevention of endometrial pathology in postmenopausal women / C. Campagnoli, C. Abbà, S. Ambroggio [et al.] // *Gynecol Endocrinol.* – 2013. – Vol. 29. - № 2. -P. 119-124. DOI: 10.3109/09513590.2012.706671.

83. Dumesic, D.A. Cancer risk and PCOS / D. A. Dumesic, R. A. Lobo // *Steroids.* – 2013. – Vol. 78. – P. 782–785. DOI: 10.1016/j.steroids.2013.04.004.

84. Hyperinsulinemia is associated with endometrial hyperplasia and disordered proliferative endometrium: a prospective crosssectional study / W. Shan, C.

Ning, X. Luo [et al.] // *Gynecol Oncol.* – 2014. – Vol. 132. – P. 606–610. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.01.004.

85. Cigarette Smoking and Endometrial Cancer Risk: Observational and Mendelian Randomization Analyses / N. Dimou, W. Omiyale, C. Biessy [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2022. – Vol. 31. - № 9. – P. 1839-1848. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-21-1176.

86. Risk of Endometrial Polyps, Hyperplasia, Carcinoma, and Uterine Cancer After Tamoxifen Treatment in Premenopausal Women With Breast Cancer / K. J. Ryu, M. S. Kim, J. Y. Lee [et al.] / *JAMA Netw Open.* – 2022. – Vol. 5. - № 11. – P. e2243951. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2022.43951.

87. Executive summary of the uterine cancer evidence review conference / D. Chelmow, R. Brooks, A. Cavens [et al.] // *Obstet Gynecol.* – 2022. – Vol. 139. – P. 626–643. DOI: 10.1097/AOG.0000000000004711.

88. Капитанова, О.В. Гиперплазия эндометрия в пери- и постменопаузе / О. В. Капитанова, М. А. Чечнева // *Российский вестник акушера-гинеколога.* – 2020. - № 3. – С. 35-40.

89. Fertility-Preserving Treatment in Young Women with Grade 1 Presumed Stage IA Endometrial Adenocarcinoma: A Meta-Analysis / Z. Fan, H. Li, R. Hu [et al.] // *Int J Gynecol Cancer.* – 2018. – Vol. 28. – P. 385–393. DOI: 10.1097/IGC.0000000000001164.

90. Prognostic factors of oncologic and reproductive outcomes in fertility-sparing management of endometrial atypical hyperplasia and adenocarcinoma: Systematic review and meta-analysis / M. Koskas, J. Uzan, D. Luton [et al.] // *Fertil Steril.* – 2014. – Vol. 101. – P. 785–794. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.11.028.

91. Live births and maintenance with levonorgestrel IUD improve disease-free survival after fertility-sparing treatment of atypical hyperplasia and early endometrial cancer / O. V. Novikova, V. B. Nosov, V. A. Panov [et al.] / *Gynecol Oncol.* – 2021. – Vol. 161. – P. 152–159. DOI: 10.1016/j.ygyno.2021.01.001.

92. Oncologic and obstetrical outcomes after fertility-preserving retreatment in patients with recurrent atypical endometrial hyperplasia and endometrial cancer / Y.

He, Y. Wang, R. Zhou, J. Wang // *Int J Gynecol Cancer*. – 2020. – Vol. 30. – P. 1902–1907. DOI: 10.1136/ijgc-2020-001570.

93. Analysis of pregnancy-associated factors after fertility-sparing therapy in young women with early stage endometrial cancer or atypical endometrial hyperplasia / Y. Fan, X. Li, J. Wang [et al.] // *Reprod Biol Endocrinol*. – 2021. – Vol. 19. – P. 118. DOI: 10.1186/s12958-021-00808-y.

94. Is repeated high-dose medroxyprogesterone acetate (MPA) therapy permissible for patients with early stage endometrial cancer or atypical endometrial hyperplasia who desire preserving fertility? / W. Yamagami, N. Susumu, T. Makabe [et al.] // *J Gynecol Oncol*. – 2018. – Vol. 29. – P. e21. DOI: 10.3802/jgo.2018.29.e21.

95. Schuller, H.M. Is cancer triggered by altered signalling of nicotinic acetylcholine receptors? / H. M. Schuller // *Nat Rev Cancer*. – 2009. – Vol. 9. – P. 195–205. DOI: 10.1038/nrc2590.

96. Skok, M. Mitochondrial nicotinic acetylcholine receptors: Mechanisms of functioning and biological significance / M. Skok // *Int J Biochem Cell Biol*. -2022. – Vol. 143 – P. 106138. DOI: 10.1016/j.biocel.2021.106138.

97. Кульбацкий, Д.С. Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы человека. Часть I: строение, функция и роль в нейромышечной передаче и работе ЦНС / Д. С. Кульбацкий, М. Л. Бычков, Е. Н. Люкманова // *Биоорганическая химия*. - 2018. № 6 – С. 595-607.

98. Chrestia, J.F. Cannabidiol as a modulator of $\alpha 7$ nicotinic receptors / J. F. Chrestia, M. D. C. Esandi, C. Bouzat // *Cell Mol Life Sci CMLS*. – 2022. – Vol. 79. – P. 564. DOI: 10.1007/s00018-022-04600-y.

99. Structure and gating mechanism of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor / C. M. Noviello, A. Gharpure, N. Mukhtasimova [et al.] // *Cell*. – 2021. – Vol. 184. - № 8. – P. 2121-2134.e13. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.049.

100. Леваков, С.А. Потенциальное влияние нервной систем рамках рассмотрения онкологических процессов эндометрия и гиперплазии эндометрия как одного из факторов риска неотрансформации / С. А. Леваков, Т. А. Громова,

Е. Н. Гвазава // *Акушерство и гинекология*. - 2024. - № 10. – С. 27-33. – DOI: 10.18565/aig.2024.126.

101. Papke, R.L. Nicotinic acetylcholine receptors: Conventional and unconventional ligands and signaling / R. L. Papke, J. M. Lindstrom // *Neuropharmacology*. – 2020. – Vol. 168. – P. 108021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108021>.

102. Gharpure, A. Progress in nicotinic receptor structural biology / A. Gharpure, C. M. Noviello, R. E. Hibbs // *Neuropharmacology*. – 2020. – Vol. 171. – P. 108086. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2020.108086.

103. Hone, A.J. Alkaloid ligands enable function of homomeric human $\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors / A. J. Hone, J. M. McIntosh // *Front Pharmacol*. – 2022. -Vol. 13. – P. 981760. DOI: 10.3389/fphar.2022.981760.

104. Changeux, J.-P. The nicotinic acetylcholine receptor: the founding father of the pentameric ligand-gated ion channel superfamily / J. – P. Changeux // *J Biol Chem*. – 2012. – Vol. 287. – P. 40207–40215. DOI: 10.1074/jbc.R112.407668.

105. Hurst, R. Nicotinic acetylcholine receptors: from basic science to therapeutics / R. Hurst, H. Rollema, D. Bertrand // *Pharmacol Ther*. – 2013. – Vol. 137. – P. 22–54. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.08.012.

106. Fucile, S. Ca^{2+} permeability through rat cloned $\alpha 9$ - containing nicotinic acetylcholine receptors / S. Fucile, A. Sucapane, F. Eusebi // *Cell Calcium*. – 2006. – Vol. 39. – P. 349–355. DOI: 10.1016/j.ceca.2005.12.002.

107. Arachidonoylcholine and other unsaturated long-chain acylcholines are endogenous modulators of the acetylcholine signaling system / M. G. Akimov, D. S. Kudryavtsev, E. V. Kryukova [et al.] // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10. – P. 283. – DOI: 10.3390/biom10020283.

108. Prostate stem cell antigen is an endogenous lynx1-like prototoxin that antagonizes $\alpha 7$ -containing nicotinic receptors and prevents programmed cell death of parasympathetic neurons / M. Hruska, J. Keefe, D. Wert [et al.] // *J Neurosci*. -2009. – Vol. 29. – P. 14847–14854. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2271-09.2009.

109. PATE gene clusters code for multiple, secreted TFP/Ly-6/uPAR proteins that are expressed in reproductive and neuron-rich tissues and possess neuromodulatory activity / F. Levitin, M. Weiss, Y. Hahn [et al.] // *J Biol Chem.* – 2008. – Vol. 283. – P. 16928–16939. DOI: 10.1074/jbc.M801454200.

110. Tsetlin, V.I. Three-finger snake neurotoxins and Ly6 proteins targeting nicotinic acetylcholine receptors: pharmacological tools and endogenous modulators / V. I. Tsetlin // *Trends Pharmacol Sci.* – 2015. – Vol. 36. – P. 109–123. DOI: 10.1016/j.tips.2014.11.003.

111. Conotoxins targeting nicotinic acetylcholine receptors: an overview / E. K. M. Lebbe, S. Peigneur, I. Wijesekara, J. Tytgat // *Mar Drugs.* – 2014. – Vol. 12. – P. 2970–3004. DOI: 10.3390/md12052970.

112. APS8 delays tumor growth in mice by inducing apoptosis of lung adenocarcinoma cells expressing high number of $\alpha 7$ nicotinic receptors / S. Berne, M. Cemazar, R. Frangez [et al.] // *Mar Drugs.* – 2018.- Vol. 16. - № 10. – P. 367. DOI: 10.3390/md16100367.

113. Action of carvacrol on *Parascaris* sp. and antagonistic effect on nicotinic acetylcholine receptors / S. M. Trailovic, M. Rajkovic, D. S. Marjanovic [et al.] // *Pharm Basel Switz.* – 2021. – Vol. 14. – P. 505. DOI: 10.3390/ph14060505.

114. Nicotine and opioid co-dependence: Findings from bench research to clinical trials / L. Custodio, S. Malone, M. T. Bardo [et al.] // *Neurosci Biobehav Rev.* – 2022. – Vol. 134. – P. 104507. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.12.030.

115. Grando, S.A. Connections of nicotine to cancer / S. A. Grando // *Nat Rev Cancer.* – 2014. – Vol. 14. – P. 419–429. DOI: 10.1038/nrc3725.

116. Cancer statistics for the year 2020: an overview / J. Ferlay, M. Colombet, I. Soerjomataram [et al.] // *Int J Cancer.* - 2021. DOI: 10.1002/ijc.33588.

117. The relationship between CHRNA5/A3/B4 gene cluster polymorphisms and lung cancer risk: an updated meta-analysis and systematic review / X. Yi, W. Li, Y. Wang [et al.] // *Medicine.* – 2021. – Vol. 100. - № 6. – P. e24355. DOI: 10.1097/MD.00000000000024355.

118. Smoking related cancers and loci at chromosomes 15q25, 5p15, 6p22.1 and 6p21.33 in the Polish population / E. Jaworowska, J. Trubicka, M. R. Lener [et al.] // *PloS One*. – 2011. – Vol. 6. - № 9. – P. e25057. DOI: 10.1371/journal.pone.0025057.

119. Chr15q25 genetic variant rs16969968 alters cell differentiation in respiratory epithelia / Z. Diabasana, J. – M. Perotin, R. Belgacemi [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22. – P. 6657. DOI: 10.3390/ijms22136657.

120. Physiological functions of the cholinergic system in immune cells / T. Fujii, M. Mashimo, Y. Moriwaki [et al.] // *J Pharmacol Sci*. – 2017. – Vol. 134. – P. 1–21. DOI: 10.1016/j.jphs.2017.05.002.

121. Nouri-Shirazi, M. Evidence for the immunosuppressive role of nicotine on human dendritic cell functions / M. Nouri-Shirazi, E. Guinet // *Immunology*. -2003. – Vol. 109. – P. 365–373. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2003.01655.x.

122. $\alpha 7$ - and $\alpha 9$ -containing nicotinic acetylcholine receptors in the functioning of immune system and in pain / I. Shelukhina, A. Siniavin, I. Kasheverov [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2023. – Vol. 24. – P. 6524. DOI: 10.3390/ijms24076524.

123. Hanahan, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions / D. Hanahan // *Cancer Discov*. – 2022. – Vol. 12. - № 1. – P. 31-46. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.

124. Alpha 5 subunit alters desensitization, pharmacology, Ca⁺⁺ permeability and Ca⁺⁺ modulation of human neuronal alpha 3 nicotinic receptors / V. Gerzanich, F. Wang, A. Kuryatov, J. Lindstrom // *J Pharmacol Exp Ther*. -1998. – Vol. 286. – P. 311–320.

125. Tethered agonist analogues as site-specific probes for domains of the human $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor that differentially regulate activation and desensitization / J. Wang, N. A. Horenstein, C. Stokes, R. L. Papke // *Mol Pharmacol*. – 2010. – Vol. 78. – P. 1012–1025. DOI: 10.1124/mol.110.066662.

126. Nicotine mediates oxidative stress and apoptosis through cross talk between NOX1 and Bcl-2 in lung epithelial cells / F. Zanetti, M. Giacomello, Y. Donati [et al.] // *Free Radic Biol Med*. – 2014. – Vol. 76. – P. 173–184. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.08.002.

127. Skok, M. Universal nature of cholinergic regulation demonstrated with nicotinic acetylcholine receptors / M. Skok // *BBA Adv.* – 2022. – Vol. 2. – P. 100061. DOI: 10.1016/j.bbadv.2022.100061.

128. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ and $\beta 4$ subunits contribute to nicotine-induced apoptosis in periodontal ligament stem cells / S. Y. Kim, K. L. Kang, J. – C. Lee, J. S. Heo // *Mol Cell.* – 2012. – Vol. 33. – P. 343–350. DOI: 10.1007/s10059-012-2172-x.

129. Nicotine exposure induces bronchial epithelial cell apoptosis and senescence via ROS mediated autophagy-impairment / M. Bodas, C. Van Westphal, R. Carpenter-Thompson [et al.] // *Free Radic Biol Med.* – 2016. – Vol. 97. – P. 441–453. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.06.017.

130. Konno, S. Effects of nicotine on cellular proliferation, cell cycle phase distribution, and macromolecular synthesis in human promyelocytic HL-60 leukemia cells / S. Konno, J. W. Chiao, J. M. Wu // *Cancer Lett.* – 1986. – Vol. 33. – P. 91–97. DOI: 10.1016/0304-3835(86)90105-9.

131. Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunit genes in non-small-cell lung cancer reveals differences between smokers and nonsmokers / D. C. – L. Lam, L. Girard, R. Ramirez [et al.] // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67. – P. 4638–4647. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4628.

132. Human $\alpha 3\beta 4$ neuronal nicotinic receptors show different stoichiometry if they are expressed in *Xenopus* oocytes or mammalian HEK293 cells / P. Krashia, M. Moroni, S. Broadbent [et al.] // *PloS One.* – 2010. – Vol. 5. – P. e13611. DOI: 10.1371/journal.pone.0013611.

133. Assessing potentiation of the $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$ nicotinic acetylcholine receptor by the allosteric agonist CMPI / F. Deba, K. Munoz, E. Peredia [et al.] // *J Biol Chem.* – 2022. – Vol. 298. – № 1. – P. 101455. DOI: 10.1016/j.jbc.2021.101455.

134. Molecular function of the novel $\alpha 7\beta 2$ nicotinic receptor / B. E. Nielsen, N. Minguez, I. Bermudez, C. Bouzat // *Cell. Mol. Life Sci CMLS.* – 2018. – Vol. 75. – P. 2457–2471. DOI: 10.1007/s00018-017-2741-4.

135. Schaal, C. Nicotine-mediated regulation of nicotinic acetylcholine receptors in non-small cell lung adenocarcinoma by E2F1 and STAT1 transcription factors / C. Schaal, S. Chellappan // *PloS One*. – 2016. – Vol. 11. - № 5. – P. e0156451. DOI: 10.1371/journal.pone.0156451.

136. Oligo-basic amino acids, potential nicotinic acetylcholine receptor inhibitors / B. Zhang, M. Ren, F. Yang [et al.] // *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. – 2022. – Vol. 152. – P. 113215. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113215.

137. Low-dose nicotine activates EGFR signalling via $\alpha 5$ - nAChR and promotes lung adenocarcinoma progression / M. – L. Wang., Y. – F. Hsu, C. – H. Liu [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2020. – Vol. 21. – P. 6829. DOI: 10.3390/ijms21186829.

138. Cholinergic $\alpha 5$ nicotinic receptor is involved in the proliferation and invasion of human prostate cancer cells / J. – C. Qi, W. – Y. Xue, Y. – P. Zhang [et al.] // *Oncol Rep*. – 2020. – P. 43. – P. 159–168. DOI: 10.3892/or.2019.7411.

139. Unorthodox acetylcholine binding sites formed by $\alpha 5$ and $\beta 3$ accessory subunits in $\alpha 4\beta 2^*$ nicotinic acetylcholine receptors / A. Jain, A. Kuryatov, J. Wang [et al.] // *J Biol Chem*. – 2016. – Vol. 291. – P. 23452–23463. DOI: 10.1074/jbc.M116.749150.

140. The role of $\alpha 5$ -nicotinic acetylcholine receptor/NLRP3 signaling pathway in lung adenocarcinoma cell proliferation and migration / J. Ying, Q. Zhang, Z. Liu [et al.] // *Toxicology*. – 2022. – Vol. 469. – P. 153120. DOI: 10.1016/j.tox.2022.153120.

141. Nicotinic acetylcholine receptor subtype alpha-9 mediates triple-negative breast cancers based on a spontaneous pulmonary metastasis mouse model / L. -C. Huang, C. – L. Lin, J. – Z. Qiu [et al] // *Front Cell Neurosci*. – 2017. – Vol. 11. – P. 336. DOI: 10.3389/fncel.2017.00336.

142. Wang, S. $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in lung cancer / S. Wang, Y. Hu // *Oncol Lett*. – 2018. – Vol. 16. – P. 1375–1382. DOI: 10.3892/ol.2018.8841

143. Mechanisms of tumor-promoting activities of nicotine in lung cancer: synergistic effects of cell membrane and mitochondrial nicotinic acetylcholine receptors / A. I. Chernyavsky, I. B. Shchepotin, V. Galitovkiy, S. A. Grandó // *BMC Cancer*. – 2015. – Vol. 15. - P. 152. DOI: 10.1186/s12885-015-1158-4.

144. Low-dose nicotine promotes autophagy of cardiomyocytes by upregulating HO-1 expression / R. Xing, X. Cheng, Y. Qi [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2020. – Vol. 522. – P. 1015–1021. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.11.086.

145. Autophagy plays an important role in anti-inflammatory mechanisms stimulated by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor / B. – Z. Shao, P. Ke, Z. – Q. Xu [et al.] // *Front Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 553. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00553.

146. Extracellular vesicles derived from metastatic melanoma cells transfer α 7-nAChR mRNA, thus increasing the surface expression of the receptor and stimulating the growth of normal keratinocytes / M. L. Bychkov, A. V. Kirichenko, I. N. Mikhaylova [et al.] // *Acta Nat.* – 2022. – Vol. 14. – P. 95–99.

147. When “no-smoking” is not enough: Hypoxia and nicotine acetylcholine receptor signaling may drive lung adenocarcinoma progression in never-smokers / N. Pandey, J. Chongtham, S. Pal [et al.] // *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* – 2023. – Vol. 1870. – P. 119302. DOI: 10.1016/j.bbadis.2023.166875.

148. Luo, Y. The significance of mitochondrial dysfunction in cancer / Y. Luo, J. Ma, W. Lu // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21. – P. E5598. DOI: 10.3390/ijms21165598.

149. Nicotine affects mitochondrial structure and function in human airway smooth muscle cells / N. A. Borkar, M. A. Thompson, C. M. Bartman [et al.] // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* – 2023. – Vol. 325. - № 6. – P. L803-L818. DOI: 10.1152/ajplung.00158.2023.

150. Takano, M. Transport mechanism of nicotine in primary cultured alveolar epithelial cells / Takano M., Nagahiro M., Yumoto R. // *J Pharm Sci.* – 2016. -Vol. 105. – P. 982–988. DOI: 10.1002/jps.24627.

151. Xie, Y.-X. Investigating the receptor-independent neuroprotective mechanisms of nicotine in mitochondria / Y. – X. Xie, E. Bezard, B. – L. Zhao // *J Biol Chem.* -2005. – Vol. 280. – P. 32405–32412. DOI: 10.1074/jbc.M504664200.

152. Significant modulation of mitochondrial electron transport system by nicotine in various rat brain regions / Wang J., Kim J.-M., Donovan D.M. [et al.] // *J Mitochondrion.* – 2009. – Vol. 9. – P. 186–195. DOI: 10.1016/j.mito.2009.01.008.

153. Singh, N.K. Quercetin exhibits $\alpha 7$ nAChR/Nrf2/HO-1-mediated neuroprotection against STZ-induced mitochondrial toxicity and cognitive impairments in experimental rodents / N. K. Singh, D. Garabadu // *Neurotox Res.* – 2021. – Vol. 39. – P. 1859–1879. DOI: 10.1007/s12640-021-00410-5.

154. Mitochondria express several nicotinic acetylcholine receptor subtypes to control various pathways of apoptosis induction / O. Lykhmus, G. Gergalova, L. Koval [et al.] // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2014. – Vol. 53. – P. 246–252. DOI: 10.1016/j.biocel.2014.05.030.

155. Positive allosteric modulators of $\alpha 7^*$ or $\beta 2^*$ nicotinic acetylcholine receptors trigger different kinase pathways in mitochondria / K. Uspenska, O. Lykhmus, H. R. Arias [et al.] // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2018. – Vol. 99. – P. 226–235. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.04.018.

156. $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors control cytochrome c release from isolated mitochondria through kinase-mediated pathways / G. Gergalova, O. Lykhmus, S. Komisarenko, M. Skok // *Int J Biochem Cell Biol.* - 2014. – Vol. 49. – P. 26–31. DOI: 10.1016/j.biocel.2014.01.001.

157. Mitochondrial nicotinic acetylcholine receptors support liver cells viability after partial hepatectomy / K. Uspenska, O. Lykhmus, M. Obolenskaya [et al.] // *Front Pharmacol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 626. DOI: 10.3389/fphar.2018.00626.

158. Nicotinic acetylcholine receptors in chemotherapeutic drugs resistance: An emerging targeting candidate / M. Afrashteh Nour, K. Hajiasgharzadeh, F. Kheradmand [et al.] // *Life Sci.* – 2021. – Vol. 278 – P. 119557. – DOI: 10.1016/j.lfs.2021.119557.

159. Chellappan, S. Smoking Cessation after Cancer Diagnosis and Enhanced Therapy Response: Mechanisms and Significance / S. Chellappan // *Curr Oncol.* – 2022. – Vol. 29. - № 12. – P. 9956-9969. DOI: 10.3390/currenol29120782.

160. Zheng, L. The concept teaching strategy of “epigenetic” in the perspective of deep learning / L. Zheng / *Bio. Teach.* – 2022. – Vol. 47. – P. 19–21.

161. Enhanced BBB and BBTB penetration and improved anti-glioma behavior of Bortezomib through dual- targeting nanostructured lipid carriers / M. Farshbaf, S.

Mojarad-Jabali, S. Hemmati [et al.] // *J Control Release*. – 2022. – Vol. 345. – P. 371-384. DOI: 10.1016/j.jconrel.2022.03.019.

162. Brain-targeting biomimetic nanoparticles for codelivery of celastrol and LY2157299 for reversing glioma immunosuppression / S. Zhu, F. Sun, P. Zhao [et al.] // *Int J Pharm*. – 2022. – Vol. 619. – P. 121709. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.121709.

163. Samson, A.O. Inhibition mechanism of the acetylcholine receptor by alpha-neurotoxins as revealed by normal-mode dynamics / A. O. Samson, M. Levitt // *Biochemistry*. – 2008. – Vol. 47. – P. 4065–4070. DOI: 10.1021/bi702272j.

164. Agonist-induced hump current production in heterologously-expressed human alpha4beta2-nicotinic acetylcholine receptors / Q. Liu, K. Yu, Y. Chang [et al.] // *Acta Pharmacol Sin*. – 2008. – Vol. 29. – P. 305–319. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2008.00760.x.

165. Blockade of nicotinic currents in hippocampal neurons defines methyllycaconitine as a potent and specific receptor antagonist / M. Alkondon, E. F. Pereira, S. Wonnacott, E. X. Albuquerque // *Mol Pharmacol*. – 1992. – Vol. 41. – P. 802–808.

166. Jenkinson, D.H. The antagonism between tubocurarine and substances which depolarize the motor end-plate / D. H. Jenkinson // *J Physiol*. – 1960. – Vol. 152. – P. 309–324.

167. Curare alkaloids: constituents of a matis dart poison / G. R. Malca Garcia, L. Hennig, I. V. Shelukhina [et al.] // *J Nat Prod*. – 2015. – Vol. 78. – P. 2537–2544. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00457.

168. Curare alkaloids from Matis dart poison: Comparison with d-tubocurarine in interactions with nicotinic, 5-HT₃ serotonin and GABA_A receptors / E. N. Spirova, I. A. Ivanov, I. E. Kasheverov [et al.] // *PloS One*. – 2019. – Vol. 14. – P. e0210182. DOI: 10.1371/journal.pone.0210182.

169. Folkers, K. Erythrina alkaloids. VII. Isolation and characterization of the new alkaloids, erythraline and erythratine / K. Folkers, F. Koniuszy // *J Am Chem Soc*. – 1940. – Vol. 62. – P. 436–441.

170. Inhibition of acetylcholine- mediated effects by borneol / T. – J. Park, Y. – S. Park, T. – G. Lee [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 2003. – Vol. 65. – P. 83–90. DOI: 10.1016/s0006-2952(02)01444-2.

171. Alkaloids from *Microcos paniculata* with cytotoxic and nicotinic receptor antagonistic activities / P. C. Still, B. Yi, T. F. Gonzalez-Cestari [et al.] // *J Nat Prod.* – 2013. – Vol. 76. – P. 243–249. DOI: 10.1021/np3007414.

172. Identification and synthesis of novel alkaloids from the root system of *Nicotiana tabacum*: affinity for neuronal nicotinic acetylcholine receptors / X. Wei, S. P. Sumithran, A. G. Deaciuc [et al.] // *Life Sci.* – 2005. – Vol. 78. – P. 495–505. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.09.009.

173. Inhibitory effect of sinomenine on lung cancer cells via negative regulation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor / S. Bai, W. Wen, X. Hou [et al.] // *J Leukoc Biol.* – 2020. – Vol. 109. - № 4. – P. 843–852. – DOI: 10.1002/JLB.6MA0720-344RRR.

174. Dutertre, S. Nicotinic acetylcholine receptor inhibitors derived from snake and snail venoms / S. Dutertre, A. Nicke, V. I. Tsetlin // *Neuropharmacology.* – 2017. – Vol. 127. – P. 196–223. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.06.011.

175. Peptides from the sea anemone *Metridium senile* with modified inhibitor cystine knot (ICK) fold inhibit nicotinic acetylcholine receptors / I. E. Kasheverov, Y. A. Logashina, F. D. Kornilov [et al.] // *Toxins.* – 2022. – Vol. 15. – P. 28. DOI: 10.3390/toxins15010028.

176. Marine origin ligands of nicotinic receptors: low molecular compounds, peptides and proteins for fundamental research and practical applications / I. Kasheverov, D. Kudryavtsev, I. Shelukhina [et al.] // *Biomolecules.* – 2022. -Vol. 12. – P. 189. DOI: 10.3390/biom12020189.

177. Discovery, synthesis, and structure activity of a highly selective $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor antagonist / P. Whiteaker, S. Christensen, D. Yoshikami [et al.] // *Biochemistry.* – 2007. – Vol. 46. – P. 6628–6638. DOI: 10.1021/bi7004202.

178. Dimerization of α -conotoxins as a strategy to enhance the inhibition of the human $\alpha 7$ and $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors / J. Liang, H. – S. Tae, X. Xu

[et al.] // J Med Chem. – 2020. – Vol. 63. – P. 2974–2985. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b01536.

179. Sanchez-Campos, N. Conotoxin patenting trends in academia and industry / N. Sanchez-Campos, J. Bernaldez-Sarabia, A. F. Licea-Navarro // Mar Drugs. – 2022. – Vol. 20. – P. 531. DOI: 10.3390/md20080531.

180. Cloning, synthesis, and characterization of α O-conotoxin GeXIVA, a potent α 9 α 10 nicotinic acetylcholine receptor antagonist / S. Luo, D. Zhangsun, P. J. Harvey [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2015. – Vol. 112. – P. E4026–E4035. DOI: 10.1073/pnas.1503617112.

181. Alpha-conotoxin analogs with additional positive charge show increased selectivity towards *Torpedo californica* and some neuronal subtypes of nicotinic acetylcholine receptors / I. E. Kasheverov, M. N. Zhmak, C. A. Vulfius [et al.] // FEBS J. – 2006. – Vol. 273. – P. 4470–4481. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2006.05453.x.

182. A novel lid-covering peptide inhibitor of nicotinic acetylcholine receptors derived from α D-conotoxin GeXXA / L. Yang, H. – S. Tae, Z. Fan [et al.] // Mar Drugs. – 2017. – Vol. 15. – P. E164. DOI: 10.3390/md15060164.

183. Oligoarginine peptides, a new family of nicotinic acetylcholine receptor inhibitors / D. S. Lebedev, E. V. Kryukova, I. A. Ivanov [et al.] // Mol Pharmacol. – 2019. – Vol. 96. – P. 664–673. DOI: 10.1124/mol.119.117713.

184. Advances in small molecule selective ligands for heteromeric nicotinic acetylcholine receptors / C. Matera, C. Papotto, C. Dallanocce, M. De Amici // Pharmacol Res. – 2023. – Vol. 194. – P. 106813. DOI: 10.1016/j.phrs.2023.106813.

185. High selectivity of an α -conotoxin LvIA analogue for α 3 β 2 nicotinic acetylcholine receptors is mediated by β 2 functionally important residues / X. Zhu, S. Pan, M. Xu [et al.] // J Med Chem. – 2020. – Vol. 63. – P. 13656–13668. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c00975.

186. APS8, a polymeric alkylpyridinium salt blocks α 7 nAChR and induces apoptosis in non-small cell lung carcinoma / A. Zovko, K. Viktorsson, R. Lewensohn [et al.] // Mar Drugs. – 2013. – Vol. 11. – P. 2574–2594. DOI: 10.3390/md11072574.

187. Increase in anticholinergic burden from 1990 to 2015: age-period-cohort analysis in UK biobank / J. Mur, S. R. Cox, R. E. Marioni [et al.] // *Br J Clin Pharmacol*. – 2021. – Vol. 88. - № 3. – P. 983–993. DOI: 10.1111/bcp.15045.

188. SARS-Cov-2 spike protein fragment 674-685 protects mitochondria from releasing cytochrome c in response to apoptogenic influence / O. Kalashnyk, O. Lykhmus, M. Izmailov [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2021. -Vol. 561. – P. 14–18. DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.05.018.

189. Nicotinic acetylcholine receptor redux: discovery of accessories opens therapeutic vistas / J. A. Matta, S. Gu, W. B. Davini, D. S. Bredt // *Science*. -2021. – Vol. 373. – P. eabg6539. DOI: 10.1126/science.abg6539.

190. Cervical Cancer Correlates with the Differential Expression of Nicotinic Acetylcholine Receptors and Reveals Therapeutic Targets / Y. Liu, J. Qian, Z. Sun [et al.] // *Mar Drugs*. – 2019. – Vol. 17. - № 5. – P. 256. DOI: 10.3390/md17050256.

191. Calleja-Macias, I.E. Cholinergic signaling through nicotinic acetylcholine receptors stimulates the proliferation of cervical cancer cells: an explanation for the molecular role of tobacco smoking in cervical carcinogenesis? / I. E. Calleja-Macias, M. Kalantari, H. U. Bernard // *Int J Cancer*. – 2009. - Vol. 124.- № 5. – P. 1090-1096. DOI: 10.1002/ijc.24053.

192. Hao, M. Activation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor retards the development of endometriosis / M. Hao, X. Liu, S. W. Guo // *Reprod Biol Endocrinol*. – 2022. – Vol. 20. - № 1. – P. 85. DOI: 10.1186/s12958-022-00955-w.

193. Goyal, B. Diagnostic, prognostic, and therapeutic significance of long non-coding RNA MALAT1 in cancer / B. Goyal, S. R. M. Yadav, N. Awasthee // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. – 2021. – Vol. 1875. - № 2. – P. 188502. DOI: 10.1016/j.bbcan.2021.188502.

194. Data analysis techniques and applications for identification and prediction of long non coding RNA / Z. Hu, W. Zhu, W. Ming, X. Sun // *Genom Appl Biol*. – 2021. – Vol. 40. – P. 3839–3852. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2271-09.2009.

195. Длинные некодирующие РНК, ассоциированные с канцерогенезом: биологическое значение и перспективы применения в диагностике / О. И. Кит, Е.

Ю. Кириченко, Ю. Г. Кириченко [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. - № 1. – С. 13–16.

196. Cervena, K. MALAT1 in colorectal cancer: Its implication as a diagnostic, prognostic, and predictive biomarker / K. Cervena, S. Vodenkova, V. Vymetalkova // *Gene*. – 2022. – Vol. 843. – P. 146791. DOI: 10.1016/j.gene.2022.146791.

197. Бейлерли, О.А. Длинные некодирующие РНК как новейшие перспективные биомаркеры при раке / О. А. Бейлерли, А. Т. Бейлерли, И. Ф. Гареев // *Инновационная медицина Кубани*. – 2019. - № 2. – С. 76-83.

198. Yan, F. 3D genomic regulation of lncRNA and Xist in X chromosome / F. Yan, X. Wang, Y. Zeng // *Semin Cell Dev Biol*. – 2019. – Vol. 90. – P. 174–180. DOI: 10.1016/j.semcdb.2018.07.013.

199. LncRNA CTD- 3252C9.4 modulates pancreatic cancer cell survival and apoptosis through regulating IFI6 transcription / X. Yin, J. Yang, J. Chen [et al.] // *Cancer Cell Int*. – 2021. – Vol. 21. – P. 433. DOI: 10.1186/s12935-021-02142-0.

200. Association of lncRNA-p53 regulatory network (lincRNA-p21, lincRNA-ROR and MALAT1) and p53 with the clinicopathological features of colorectal primary lesions and tumors / V. Chaleshi, S. Irani, M. Alebouyeh [et al.] // *Oncol Lett*. – 2020.- Vol. 19. - № 6. – P. 3937-3949. DOI: 10.3892/ol.2020.11518.

201. López-Jiménez, E. The Implications of ncRNAs in the Development of Human Diseases / E. López-Jiménez, E. Andrés-León // *Noncoding RNA*. – 2021. – Vol. 7. – P. 17. DOI: 10.3390/ncrna7010017.

202. Sun, X. Effects of long-stranded non-coding RNA MALAT1 on proliferation, invasive migration and apoptosis of NSCLS / X. Sun, F. Zhou, T. Wu // *Chin J Surg Oncol*. – 2020. – Vol. 12. – P. 148–157. DOI: 10.26355/eurrev_202002_20363.

203. Regulatory mechanisms of Wnt/ β -catenin signaling pathway and microRNAs in lung cancer / J. Q. Wang, W. L. Cheng, Wang P., Liu X. // *J Med Res*. – 2022. -Vol. 51. – P. 10–13. DOI: 10.1002/mc.23089

204. MALAT1 inhibits the Wnt/ β -catenin signaling pathway in colon cancer cells and affects cell proliferation and apoptosis / J. Zhang, Q. Li, B. Xue, R. He // *Bosn J Basic Med Sci.* – 2020. – Vol. 20. – P. 357–364. DOI: 10.17305/bjbms.2019.4408.

205. Molecular mechanism of LncRNA ZFAS1 regulates proliferation, invasion and migration of lung cancer cells through target gene miR-432-5p / S. Peng, T. Xiao, K. – L. Peng, B. – R. Xie // *Chin J Gerontol.* – 2021. – Vol. 41. – P. 5688–5693. DOI: <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2022265>.

206. LncRNA MALAT1 Modulates TGF- β 1-Induced EMT in Keratinocyte / L. Zhang, J. Hu, B. I. Meshkat [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22. – P. 11816. DOI: 10.3390/ijms222111816.

207. Functional roles of long noncoding RNA MALAT1 in gynecologic cancers / M. Farzaneh, S. Najafi, M. A. G. Dari [et al.] // *Clin Transl Oncol.* – 2023. – Vol. 25. - № 1. – P. 48-65. DOI: 10.1007/s12094-022-02914-8.

208. MALAT1 promotes angiogenesis of breast cancer / X. J. Huang, Y. Xia, G. F. He [et al.] / *Oncol Rep.* – 2018. – Vol. 40. – P. 2683–2689. DOI: 10.3892/or.2018.6705.

209. Impact of Genetic Variants of Long Noncoding RNA Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1 on Uterine Cervical Cancer / Sun Y.H., Chou Y.H., Tsai H.Y. et al. // *J Cancer.* – 2022. – Vol. 13. – P. 2150–2158. DOI: 10.7150/jca.70730.

210. Jin, H. Rational combinations of targeted cancer therapies: background, advances and challenges / H. Jin, L. Wang, R. Bernards // *Nat Rev Drug Discov.* – 2023. – Vol. 22. - № 3. – P. 213-234. DOI: 10.1038/s41573-022-00615-z.

211. Epigenetic-based therapy: From single- to multi-target approaches / R. Benedetti, M. Conte, C. Iside, L. Altucci // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2015. – Vol. 69. – P. 121–131. DOI: 10.1016/j.biocel.2015.10.016.

212. Combination treatment with luteolin and quercetin enhances antiproliferative effects in nicotine-treated MDA-MB-231 cells by down-regulating nicotinic acetylcholine receptors / Shih Y.L., Liu H.C., Chen C.S. et al. / *J Agric Food Chem.* – 2010. – Vol. 58. - № 1. – P. 235-241. DOI: 10.1021/jf9031684.

213. Sun, H.J. Alpha5 Nicotinic Acetylcholine Receptor Contributes to Nicotine-Induced Lung Cancer Development and Progression / H. J. Sun, Y. F. Jia, X. L. Ma // *Front Pharmacol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 573. DOI: 10.3389/fphar.2017.00573.

214. Role of $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor in nicotine-induced invasion and epithelial-to-mesenchymal transition in human non-small cell lung cancer cells / C. Zhang, X. P. Ding, Q. N. Zhao [et al.] // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7. - № 37. – P. 59199-59208. DOI: 10.18632/oncotarget.10498.

215. Characterization of a Novel α -Conotoxin TxID from *Conus textile* That Potently Blocks Rat $\alpha 3\beta 4$ Nicotinic Acetylcholine Receptors / S. Luo, D. Zhangsun, X. Zhu [et al.] // *J Med Chem.* – 2013. – Vol. 56. - № 23. -P. 9655-9663. DOI: 10.1021/jm401254c.

216. Increased 2-hydroxylation of estradiol as a possible mechanism for the anti-estrogenic effect of cigarette smoking / J. J. Michnovicz, R. J. Hershcopf, H. Naganuma [et al.] // *N Engl J Med.* – 1986. – Vol. 315. - № 21. – P. 1305-9. DOI: 10.1056/NEJM198611203152101.

217. van den Berg M. Mechanistic considerations for reduced endometrial cancer risk by smoking / M. van den Berg, M. B. M. van Duursen // *Curr Opin Toxicol.* – 2019. – P. 52–59. DOI: 10.1016/j.cotox.2019.09.002

218. Risk of endometrial cancer in relationship to cigarette smoking: results from the EPIC study / M. Al-Zoughool, L. Dossus, R. Kaaks [et al.] // *Int J Cancer.* – 2007. – Vol. 121. - № 12. – P. 2741-2747. – DOI: 10.1002/ijc.22990.

219. Kwon, J.Y. Risk Factors and Prognosis of Stroke in Gynecologic Cancer Patients / J. Y. Kwon, K. Park, J. M. Song // *Cancers (Basel).* – 2023. – Vol. 15. -№ 19. – P. 4895. DOI: 10.3390/cancers15194895.

220. Fu, X.W. Nicotine activates and up-regulates nicotinic acetylcholine receptors in bronchial epithelial cells / X. W. Fu, J. Lindstrom, E. R. Spindel // *Am J Respir Cell Mol Biol.* – 2009. – Vol. 41 – P. 93–99. DOI: 10.1165/rcmb.2008-0352OC.

221. Is acetylcholine an autocrine/paracrine growth factor via the nicotinic alpha7-receptor subtype in the human colon cancer cell line HT-29 / A. Pettersson, L.

Nilsson, G. Nylund [et al.] // *Eur J Pharmacol.* – 2009. – Vol. 609. – P. 27–33. DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.03.002.

222. Nicotine inhibits apoptosis induced by chemotherapeutic drugs by up-regulating XIAP and survivin / P. Dasgupta, R. Kinkade, B. Joshi [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2006. -Vol. 103. – P. 6332–6337. DOI: 10.1073/pnas.0509313103.

223. Regulation of Sox2 and stemness by nicotine and electronic-cigarettes in non-small cell lung cancer / C. M. Schaal, N. Bora-Singhal, D. M. Kumar, S. P. Chellappan // *Mol Cancer.* – 2018. – Vol. 17. – P. 149. DOI: 10.1186/s12943-018-0901-2.

224. Nicotine reduces reactive oxygen species and enhances cell proliferation via the $\alpha 4$ nicotinic acetylcholine receptor subunit in human induced pluripotent stem cells / Y. Ohno, D. Taura, K. Okamoto [et al.] // *Stem Cells Dev.* – 2023. – Vol. 32. - № 9–10. – P. 237–245. DOI: 10.1089/scd.2022.0258.

225. Takahashi, T. Upregulated nicotinic ACh receptor signaling contributes to intestinal stem cell function through activation of hippo and notch signaling pathways / T. Takahashi, A. Shiraishi, M. Osawa // *Int Immunopharmacol.* -2020. Vol. 88. – P. 106984. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106984.

226. Acetylcholine receptors in mesenchymal stem cells / S. Alqahtani, M. C. Butcher, G. Ramage [et al.] // *Stem Cells Dev.* – 2023. – Vol. 32. - № 3–4. – P. 47–59. DOI: 10.1089/scd.2022.0201.

227. De Rosa, L. Pro-angiogenic peptides in biomedicine / L. De Rosa, R. Di Stasi, L. D. D'Andrea // *Arch Biochem Biophys.* – 2018. – Vol. 660. – P. 72-86.

228. Carmeliet, P. Angiogenesis in cancer and other diseases / P. Carmeliet, R. K. Jain // *Nature.* – 2000. – Vol. 407. - P. 249–257. DOI: 10.1038/35025220.

229. Chronic nicotine exposure attenuates proangiogenic activity on human umbilical vein endothelial cells / H. S. Park, K. Cho, Y. J. Park, T. Lee // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 2011. – Vol. 57. - P. 287–293. DOI: 10.1097/FJC.0b013e318206b5d9.

230. $\alpha 7$ -nAChR activation has an opposite effect on healing of covered and uncovered wounds / J. - Y. Li, S. – K. Jiang, L. -L. Wang [et al.] // *Inflammation.* -2018. – Vol. 41. – P. 474–484. DOI: 10.1007/s10753-017-0703-5.

231. Оценка уровней экспрессии субъединиц никотиновых ацетилхолиновых рецепторов в целях улучшения диагностических подходов и лечения при гиперплазии и раке эндометрия / С. А. Леваков, Е. Н. Гвазава, Т. А. Громова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2024. - № 12. – С. 108-116. – DOI: 10.18565/aig.2024.50.

232. Thickened endometrium in asymptomatic postmenopausal women – determining an optimum threshold for prediction of atypical hyperplasia and cancer / A. Ghoubara, E. Emovon, S. Sundar, A. Ewies // *J Obstet Gynaecol*. – 2018. Vol. 38. – P. 1146–1149. DOI: 10.1080/01443615.2018.1458081.

233. Aspiration biopsy versus dilatation and curettage for endometrial hyperplasia prior to hysterectomy / W. Y. Hwang, D. H. Suh, K. Kim [et al.] // *Diagn Pathol*. – 2021. – Vol. 16. - № 1. – P. 7. DOI: 10.1186/s13000-020-01065-0.

234. Aldarazi, K. Endometrial hyperplasia in asymptomatic subfertile population / K. Aldarazi, H. Omran, N. M. Jassim // *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. – 2022. Vol. 51. - № 4. – P. 102337. – DOI: 10.1016/j.jogoh.2022.102337.

235. Comparison of prognosis of patients with endometrial cancer after hysteroscopy versus dilatation and curettage: A multicenter retrospective study / S. Liu, L. Zhen, S. Zhang [et al.] // *Front Med (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 9. – P. 1097133. DOI: 10.3389/fmed.2022.1097133.

236. Risk Assessment of Endometrial Hyperplasia or Endometrial Cancer with Simplified Ultrasound-Based Scoring Systems / N. Stachowicz, A. Smoleń, M. Ciebiera [et al.] // *Diagnostics (Basel)*. – 2021. – Vol. 11. - № 3. – P. 442. DOI: 10.3390/diagnostics11030442.

237. Бейлерли, О.А. Длинные некодирующие РНК и их роль в метастазировании / О. А. Бейлерли, И. Ф. Гареев, А. Т. Бейлерли // *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. - 2019. - № 2. – С. 91–97.

238. High MALAT1 expression predicts a poor prognosis of cervical cancer and promotes cancer cell growth and invasion / L. Yang, H. S. Bai, Y. Deng, L. Fan // *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. – 2015. – Vol. 19. - № 17. – P. 3187-3193.

239. Оценка уровней экспрессии длинных некодирующих РНК в рамках поиска перспективных маркеров гиперпластических процессов эндометрия и их возможной неоттрансформации / С. А. Леваков, Е. Н. Гвазава, Т. А. Громова [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2024. – Т. 23. - № 5. – С. 47–53. - DOI: 10.20953/1726-1678-2024-5-47-53.

240. Quezada, M.J. The signaling pathways activated by ROR1 in cancer / M. J. Quezada, P. Lopez-Bergami // Cell Signal. – 2023. – Vol. 104. – P.110588. DOI: 10.1016/j.cellsig.2023.110588.

241. Tyrosine Kinase ROR1 as a Target for Anti-Cancer Therapies / Y. Zhao, D. Zhang, Y. Guo [et al.] // Front Oncol. – 2021. – Vol. 11 – P. 680834. DOI: 10.3389/fonc.2021.680834.