

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

## ВЛИЯНИЕ РЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ (АТРА) НА МИОМАТОЗНЫЙ УЗЕЛ

**Воскресенская Дарья Леонидовна**

аспирант лаборатории клинической иммунологии  
ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства  
им В.Н.Городкова» МЗ РФ,  
Россия, г. Иваново

**Воронин Дмитрий Николаевич**

К.б.н.,  
старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии  
ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства  
им В.Н.Городкова» МЗ РФ,  
Россия, г. Иваново

**Мальшикина Анна Ивановна**

Д.м.н., профессор, директор  
ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства  
им В.Н.Городкова» МЗ РФ,  
Россия, г. Иваново

**Сотникова Наталья Юрьевна**

Д.м.н., профессор,  
аведующая лабораторией клинической иммунологии  
ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства  
им В.Н.Городкова» МЗ РФ,  
Россия, г. Иваново

## THE EFFECT OF RETINOIC ACID (ATRA) ON THE MYOMATOUS NODE

**Voskresenskaya Daria Leonidovna**

graduate student of the laboratory of clinical immunology,  
Federal State Institution "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood  
named V.N. Gorodkova" the Ministry of Health of the Russian Federation,  
Ivanovo

**Voronin Dmitry Nicolaevich**

candidate of biological sciences,  
senior researcher of the laboratory of clinical immunology  
Federal State Institution "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood  
named V.N. Gorodkova" the Ministry of Health of the Russian Federation,  
Ivanovo

**Malyshekina Anna Ivanovna**

doctor of medical sciences, Professor, Director  
Federal State Institution "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood  
named V.N. Gorodkova" the Ministry of Health of the Russian Federation,  
Ivanovo

**Sotnikova Natalia Yurevna**

doctor of medical sciences,  
Professor, head of the laboratory of clinical immunology  
Federal State Institution "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood  
named V.N. Gorodkova" the Ministry of Health of the Russian Federation,  
Ivanovo

### Аннотация

В статье рассматривается влияние ретиноевой кислоты (АТРА) на миоматозный узел. Целью работы было оценить влияние различных концентраций АТРА на синтез активина А и коллагена в культуре лейомиоцитов. Установлено, что АТРА  $3 \cdot 10^{-6}$  мг/мл подавляет синтез активина А и коллагена в культуре клеток миоматозного узла. Также было выявлено стимулирующее воздействие АТРА  $3 \cdot 10^{-8}$  мг/мл и АТРА  $3 \cdot 10^{-7}$  мг/мл на синтез коллагена в культуре лейомиоцитов.

### Abstract

The article discusses the effect of retinoic acid (ATRA) on the myomatous node. The aim of the work was to evaluate the effect of various concentrations of ATRA on the synthesis of activin A and collagen in the culture of leiomyocytes. It was found that ATRA  $3 \cdot 10^{-6}$  mg / ml inhibits the synthesis of activin A and collagen in the cell

culture of the myomatous node. The stimulating effect of ATRA  $3 \cdot 10^{-8}$  mg / ml and ATRA  $3 \cdot 10^{-7}$  mg / ml on collagen synthesis in the culture of leiomyocytes was also revealed.

**Ключевые слова:** лейомиома матки, коллаген, активин А, ретиноевая кислота.

**Key words:** leiomyoma, collagen, activin A, retinoic acid.

Лейомиома матки самая распространенная доброкачественная опухоль женских половых органов [7]. В современных условиях отмечается тенденция к увеличению встречаемости этого заболевания у женщин репродуктивного возраста, планирующих беременность. Быстрый рост миоматозного узла, ведущий к появлению симптомов, ухудшающих качество жизни женщины, и упущенное время ведут к хирургическому вмешательству в объеме гистерэктомии. Поскольку радикальное оперативное вмешательство исключает возможность дальнейшего деторождения, необходимо искать новые методы консервативного лечения миомы матки. Согласно последним рекомендациям, одними из наиболее часто применяющихся классов препаратов, используемых в лечении миомы матки и чаще всего в качестве предоперационной подготовки, являются агонисты гонадотропин-рилизинг гормонов и селективные модуляторы рецепторов прогестерона [1]. Наличие побочных эффектов, а, в некоторых случаях, регресс лечебного эффекта после отмены препарата [12], приводит к поиску новых перспективных медикаментозных препаратов для терапии лейомиомы матки. Данную опухоль рассматривают как моноклональный гормоночувствительный пролиферат, состоящий преимущественно из фенотипически измененных гладкомышечных клеток и большого количества внеклеточного матрикса. Известны два механизма роста миоматозного узла: за счет усиленной клеточной пролиферации и за счет процессов фиброобразования. Одним из вариантов дегенеративных изменений, который сопровождается ростом узла, является накопление компонентов ЭЦМ. Активин А, член семейства трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGFB), принимает непосредственное участие в регуляции фиброза в тканях [14]. По данным ряда исследований он принимает участие в пролиферации фибробластов, а также в синтезе компонентов ЭЦМ [3, 13]. Одним из новых негормональных препаратов, обладающих противоопухолевым действием, является ретиноевая кислота (ATRA) – метаболит витамина А, которая регулирует экспрессию различных генов в тканях [11]. Экспериментально установлено антипролиферативное действие ретиноевой кислоты на опухолевые клетки, в частности клетки лейомиомы [8]. Однако рост миоматозного узла связан не только с пролиферацией клеток, но и с активной продукцией компонентов ЭЦМ, поэтому представляет особый интерес изучение влияния ретиноевой кислоты на процессы фиброобразования.

Цель – оценить влияние различных концентраций ATRA над синтез активина А и коллагена в культуре клеток миоматозного узла.

Материалом исследования служили биоптаты миоматозных узлов от 11 пациенток репродуктивного возраста, которые подверглись оперативному вмешательству в объеме консервативной миомэктомии. Из биоптатов миоматозного узла ферментативным методом получали первичную культуру лейомиоцитов. Клетки инкубировали 24 часа в DMEM с 20% FBS при  $37^{\circ}\text{C}$  в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе. В последующем была проведена серия экспериментов, в которых культура лейомиоцитов обрабатывалась различными концентрациями ретиноевой кислоты: ATRA  $3 \cdot 10^{-8}$  мг/мл, ATRA  $3 \cdot 10^{-7}$  мг/мл и ATRA  $3 \cdot 10^{-6}$  мг/мл. В качестве контрольного образца использовалась культура клеток, не обработанная ретиноевой кислотой. Из образцов культуры клеток выделяли тотальную РНК фенолхлороформным методом, переводили ее в кДНК с помощью коммерческого набора ферментов производства ООО «Фрактал Био» (Россия, г. Санкт-Петербург). Затем проводили количественную оценку уровня экспрессии мРНК COL1A1 и  $\beta$ -актина («гена домашнего хозяйства») методом обратнотранскрипционной количественной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени на амплификаторе iCycler IQ (BIO-RAD, USA). В работе использовались наборы ферментов, праймеров и зондов производства ООО «Фрактал Био» (Россия, г. Санкт-Петербург). Все результаты по экспрессии изучаемых генов представлены как нормализованное относительно уровня экспрессии мРНК гена домашнего хозяйства ( $\beta$ -актина) количество копий пар специфического гена  $\cdot 10^3$ /мкл. При статистической обработке результатов была проведена оценка нормальности распределения данных в выборках с использованием критерия Колмогорова-Смирнова и Лиллифорса. Было установлено, что распределение в выборках отличалось от нормального, поэтому при расчете достоверности различий в группах использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, Вилкоксона. Все полученные данные представлены в виде медианы, 25% и 75% перцентилей. Различия в группах оценивались как статистически достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Все пациентки находились в репродуктивном возрасте, который соответствовал 32 [27-39] годам. Основными жалобами являлись синдром хронических тазовых болей и аномальные маточные кровотечения по типу обильных маточных кровотечений. Пациенткам было выполнено УЗИ органов малого таза, во всех случаях диагностирована интрамурально-субсерозная лейомиома матки. Средний объем миоматозного узла составил 156,8 [85-214,3]  $\text{cm}^3$ . При изучении влияния ATRA на синтез активина А в ткани миоматозного узла был выявлен

дозозависимый эффект: установлено, что АТРА  $3 \cdot 10^{-6}$  мг/мл максимально снижала синтез активина А по сравнению с контролем ( $p=0,046$ ). Воздействие АТРА  $3 \cdot 10^{-8}$  мг/мл и АТРА  $3 \cdot 10^{-7}$  мг/мл на клетки миоматозного узла не только снижало синтез активина А, но и приводило к увеличению синтеза коллагена в ткани узла в отличии от концентрации АТРА  $3 \cdot 10^{-6}$  мг/мл ( $p_1=0,03$  и  $p_2=0,02$ ). Проведенный анализ изучения

влияния АТРА на синтез коллагена показал, что действие препарата на уровень экспрессии мРНК COL1A1 зависит от концентрации ретиноевой кислоты: АТРА в малых концентрациях стимулирует синтез коллагена, тогда как под действием больших концентраций ретиноевой кислоты мы видим подавление уровня экспрессии мРНК COL1A1 (таблица).

Таблица

**Влияние различных концентраций АТРА на синтез активина А и коллагена в культуре клеток миоматозного узла**

Показатель, копий пар*10 <sup>3</sup> Ме (С25-С75)	Контроль	АТРА $3 \cdot 10^{-8}$ мг/мл	АТРА $3 \cdot 10^{-7}$ мг/мл	АТРА $3 \cdot 10^{-6}$ мг/мл
Активин А	16923,1 (0-173033,7)	7610,26 (2,3-54016,4)	5771,14 (226,5-38840,6)	0,54 (0-10403,2) $p=0,046$
COL1A1	2,6 (0,0-21775,15)	10,2 (1,4-31826,1)	204,0 (0-32649,0)	0,0 (0-2,3) $p_1=0,03$ $p_2=0,02$

Примечание:  $p$  – различия статистически значимы между эффектом воздействия АТРА  $3 \cdot 10^{-6}$  мг/мл и контролем,  $p_1$  – различия статистически значимы между эффектом воздействия АТРА  $3 \cdot 10^{-8}$  мг/мл и АТРА  $3 \cdot 10^{-6}$  мг/мл,  $p_2$  – различия статистически значимы между эффектом воздействия АТРА  $3 \cdot 10^{-7}$  мг/мл и АТРА  $3 \cdot 10^{-6}$  мг/мл.

Ретиноиды принимают участие в регулировании процессов роста и дифференцировки различных клеток организма. Известно, что ретиноевая кислота оказывает свое действие, связываясь с ядерными рецепторами ретиноевой кислоты, так называемыми RARs [9]. Механизмы влияния на регуляцию синтеза компонентов ЭЦМ под влиянием АТРА обсуждаются до сих пор. Ранее, экспериментально было установлено, что в культуре клеток под действием АТРА снижался синтез коллагена I типа [6]. Позднее, группой авторов было показано, что в гладкомышечных клетках под действием АТРА происходит реорганизация компонентов ЭЦМ, а синтез коллагена снижался при действии АТРА в больших концентрациях. Полученный эффект они связывали с токсичностью ретиноевой кислоты и, как следствие, гибелью клеток [5]. Возможно, разнонаправленный эффект воздействия различных концентраций АТРА на синтез коллагена в ткани миоматозного узла обусловлен активацией MAPK сигнального пути, с последующим подавлением пролиферативной активности клеток и одновременным усилением синтеза коллагена [4, 2].

#### Список литературы

Миома матки: диагностика, лечение и реабилитация. Клинические рекомендации по ведению больных / под ред. Л. В. Адамян [и др.]. – М.: Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова, 2015. – 100 с.

Activation of Rac1 and p38 Mitogen-activated protein kinase pathway in response to all-trans-retinoic acid / Alasyed Y., Uddin S., Mahmud N., Lekmine F., Kalvakolanu D. V., Minucci S. [et al.] // Journal of

Biological Chemistry. – 2001. – Vol. 276. – P. 4012–4019.

Activin A is a potent activator of renal interstitial fibroblasts / S. Yamashita, A. Maeshima, I. Kojima, Y. Nojima // J. Am. Soc. Nephrol. – 2004. – Vol. 15. – P. 91–101.

All-trans retinoic acid prevents radiation- or bleomycin-induced pulmonary fibrosis / Tabata C., Kadokawa Y., Tabata R., Takashi M., Okoshi K., Sakai Y. [et al.] // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2006. – Vol. 174. – P. 1352–1360.

All-trans retinoic acid regulates proliferation, migration, differentiation, and extracellular matrix turnover of human arterial smooth muscle cells / Axel D. I., Frigge A., Dittman J., Runge H., Spyridopoulos I., Riessen R. [et al.] // Cardiovascular Research. – 2001. – Vol. 49. – P. 851–862.

Boettger-Tong H., Shipley G., Hsu C. J., Stancel G. M. Cultured human uterine smooth muscle cells are retinoid responsive // Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. – 1997. – Vol. 215. – P. 59–65.

Duhan N. Current and emerging treatments for uterine myoma – an update / Int J Womens Health. – 2011. – Vol. 3. – P. 231–241.

Malik M., Webb J., Catherino W. H. Retinoic acid treatment of human leiomyoma cells transformed the cell phenotype to one strongly resembling myometrial cells / Clin Endocrinol (Oxf). – 2008. – Vol. 69, № 3. – P. 462–470.

Retinoic acid receptors: from molecular mechanisms to cancer therapy / di Masi A., Leboffe L., De Marinis E., Pagano F., Cicconi L., Rochette-Egly C. // Mol Aspects Med. – 2015. – Vol. 41. – P. 1–115.

Retinoic Acid Signaling Pathways in Development and Diseases / Bhaskar C. D., Thapa P.,

Karki R., Das S., Mahapatra S., Liu T. C. [ et al.] // Bioorg Med Chem. – 2014. – Vol. 22, № 2. – P. 673–683.

Siddikuzzaman G., Guruvayoorappan C., Berlin Grace V. M. All trans retinoic acid and cancer // Immunopharmacol Immunotoxicol. – 2011. – Vol. 33, № 2. – P. 241–249.

The place of selective progesterone receptor modulators in myoma therapy / Donnez J., Donnez O., Courtoy G. E., Dolmans M. M. // Minerva Ginecol. – 2016. – Vol. 68. – P. 313–320.

Transcriptional regulation of plasminogen activator inhibitor-1 by transforming growth factor-beta, activin A and microphthalmia-associated transcription factor / Murakami M., Ikeda T., Saito T., Ogawa K., Nishino Y., Nakaya K., Funaba M. // Cell. Signal. – 2006. – Vol.18. – P. 256–265.

Walton K. L., Johnson K. E., Harrison C. A. Targeting TGF- $\beta$  Mediated SMAD Signaling for the Prevention of Fibrosis // Front Pharmacol. – 2017. – № 8. – P. 461.

## ПОРАЖЕНИЕ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ, ВЫЗВАННОЕ ГРИППОМ А, У КИСЛОРОДОЗАВИСИМОГО РЕБЕНКА С БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ

**Зюкина Зоя Викторовна**

*студентка*

*Российский университет дружбы народов  
г. Москва*

**Кршеминская Ирина Владимировна**

*ассистент кафедры педиатрии*

*Российский университет дружбы народов  
г. Москва*

**Гитинов Шамиль Абдулвахидович**

*ассистент кафедры педиатрии*

*Российский университет дружбы народов  
г. Москва*

DOI: [10.31618/nas.2413-5291.2020.3.52.150](https://doi.org/10.31618/nas.2413-5291.2020.3.52.150)

## LOWER RESPIRATORY TRACT LESION CAUSED BY INFLUENZA A IN AN OXYGEN-DEPENDENT CHILD WITH BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA

**Zyukina Zoya Viktorovna**

*Student*

*People's Friendship University of Russia  
Russia, Moscow*

**Krsheminskaya Irina Vladimirovna**

*assistant of the Department of Pediatrics*

*People's Friendship University of Russia  
Russia, Moscow*

**Gitinov Shamil Abdulgamidovich**

*assistant of the Department of Pediatrics*

*People's Friendship University of Russia  
Russia, Moscow*

### Аннотация

Актуальность исследования обусловлена тем, что бронхолегочная дисплазия (далее БЛД) – самое частое хроническое заболевание легких у детей до 3-х лет. Частота БЛД у детей с очень низкой массой тела при рождении – 18 - 76%. Младенцы с БЛД чаще регоспитализируются в течение первого года жизни, особенно в связи с респираторными инфекциями, которые занимают 1-е место в структуре заболеваемости у детей до 14 лет. Основная причина повторных госпитализаций детей с БЛД – респираторные инфекции, обусловленные респираторно-синцитиальным вирусом и вирусом гриппа. 63% детей с БЛД повторно госпитализируются в связи с респираторными заболеваниями, одним из факторов риска повторных госпитализаций является домашняя кислородотерапия (частота госпитализации в связи с респираторными инфекциями в этой группе детей – 58%, у детей, кому не требуется домашняя кислородотерапия – 18%).

### Abstract

The relevance of the study is due to the fact that bronchopulmonary dysplasia (bpd) is the most common chronic lung disease in children under 3 years of age. The frequency of BPD in children with very low birth weight is 18-76%. Infants with BPD are more likely to be rehospitalized during the first year of life, especially in connection with respiratory infections, which occupy the 1st place in the structure of morbidity in children under 14 years of age. The main reason for repeated hospitalizations of children with BPD is respiratory infections caused by the respiratory syncytial virus and the flu virus. 63% of children with BPD are re-admitted due to respiratory diseases, one of the risk factors for re-hospitalizations is home oxygen therapy (the frequency of hospitalization