ГЕНЕТИКА, 2021, том 57, № 9, с. 995–1010

ОБЗОРНЫЕ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 575.11:577.21

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ МИОМЫ МАТКИ

© 2021 г. С. В. Штыкалова[1, 2], А. А. Егорова[1], М. А. Маретина[1], С. А. Фрейнд[2], В. С. Баранов[1, 2], А. В. Киселев[1, *]

[1]*Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, 199034 Россия*

[2]*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия*

**e-mail: ankiselev@yahoo.co.uk*

Поступила в редакцию 19.10.2020 г.
После доработки 11.02.2021 г.
Принята к публикации 02.03.2021 г.

Миома матки (ММ) – одно из наиболее частых гинекологических заболеваний, которое представляет собой доброкачественную опухоль, развивающуюся в миометрии. Основной причиной развития ММ является гормональный дисбаланс, однако значительная роль в ее патогенезе принадлежит генетическим факторам, влияющим на проявление и тяжесть заболевания. В настоящее время хирургический подход является наиболее распространенным методом лечения ММ, что часто приводит к снижению фертильности. Новым подходом к лечению ММ может быть генная терапия, основанная на доставке генетических конструкций в миоматозные узлы. В обзоре суммированы данные о молекулярно-генетических механизмах патогенеза ММ и разрабатываемых генотерапевтических подходах к ее лечению.

Ключевые слова: миома матки, генная терапия, MED12, HMGA2, тимидин-киназа, DNER, доставка ДНК.

DOI: 10.31857/S0016675821090113

Миома матки – распространенная доброкачественная опухоль миометрия (мышечного слоя матки). Несмотря на доброкачественное течение заболевания, миома матки может быть причиной различных гинекологических нарушений у женщин репродуктивного возраста, может вызывать маточные кровотечения, тазовые боли, осложнения беременности и бесплодие, а также является наиболее распространенной причиной удаления матки (гистерэктомии) [1–4]. В дополнение к гистерэктомии были разработаны различные операции с минимальной инвазией, такие как лапароскопия и минимально инвазивная миомэктомия, однако существенной проблемой такого лечения остается повторное формирование новых опухолей [5, 6]. Следует отметить, что только у 15% больных есть показания для обязательного хирургического лечения, вследствие обильных и длительных менструальных кровотечений, хронических тазовых болей; нарушений функций соседних органов; большого размера и/или быстрого роста опухоли, ее неблагоприятного расположения [7]. Таким образом, актуальна разработка новых методов лечения данного заболевания. Отсутствие метастазов, четкая локализованность миоматозных узлов, выявляемая с помощью ультразвука, и доступность для различных эндоскопических методик делают ММ идеальной мишенью для генной терапии *in situ*.

Генная терапия основана на доставке в организм экспрессионных векторов либо искусственных конструкций на основе нуклеиновых кислот, способных направленно вмешиваться в работу генов. Преодоление клеточных барьеров на пути нуклеиновых кислот является важной проблемой генной терапии. В настоящее время разрабатываются различные подходы для доставки терапевтических генетических конструкций в клетки. Широко распространенными являются векторы на основе вирусов, однако их применение *in vivo* ограничено повышенной иммуногенностью и опасностью инсерционного мутагенеза. Для решения проблем доставки используются различные модификации, которые позволяют снизить терапевтические концентрации вирусных векторов и уменьшить их иммуногенность, а также повысить специфичность проникновения в определенные ткани и клетки без потери эффективности [8]. Другим подходом к решению проблемы доставки является разработка невирусных систем на основе липосом и поликатионов, которые по своей

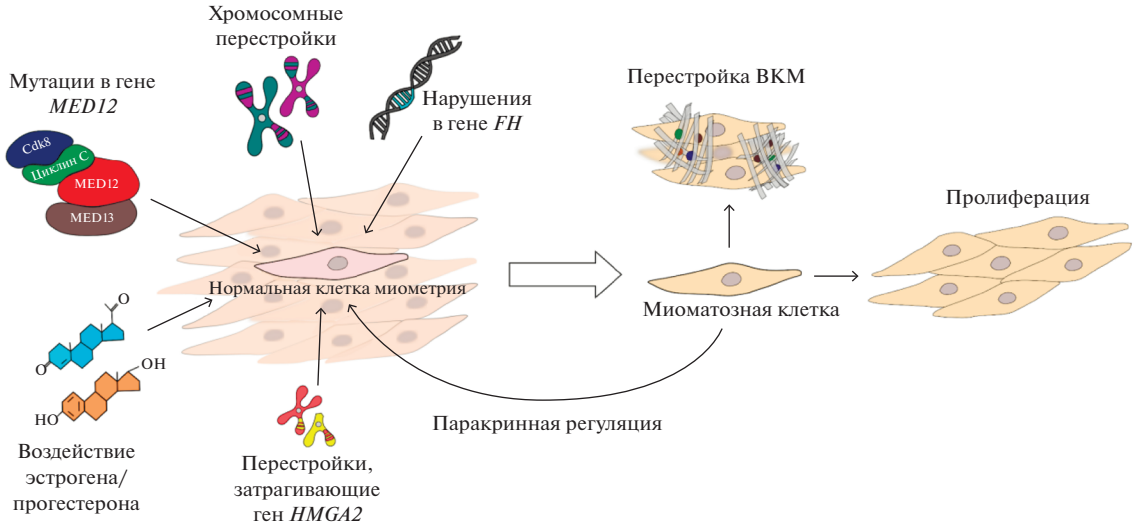

Рис. 1. Основные нарушения, приводящие к образованию миоматозной клетки.

трансфекционной эффективности *in vivo* могут приближаться к вирусным векторам.

1. МИОМА МАТКИ – МНОГОФАКТОРНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ

Миома матки (**ММ**) встречается в среднем у 50% женщин репродуктивного возраста [9]. Несмотря на широкую распространенность заболевания, патогенетические механизмы ММ до конца не изучены.

Ранее было показано, что развитие ММ начинается с одной клетки. Доказательства моноклонального происхождения ММ были получены при исследовании женщин, гетерозиготных по изоферментным формам Х-связанного гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (*G6PD*) [10]. Дальнейший цитогенетический анализ, а также исследования инактивации Х-хромосомы и потери гетерозиготности подтверждают теорию моноклонального происхождения ММ [11]. Однако в некоторых более поздних работах признается возможность биклонального и олигоклонального происхождения заболевания [12].

Традиционно образование ММ принято ассоциировать с повышенным уровнем эстрогена и наличием соответствующих рецепторов в клетках [13]. В 1995 г. было доказано, что прогестерон наравне с эстрогеном играет важную роль в развитии ММ [14]. В настоящее время развитие заболевания связывают как с влиянием эстрогена и прогестерона, так и с мутациями и хромосомными перестройками, ведущими к нарушению работы ряда генов, молекулярно-клеточных каскадов, а также определенных регуляторных РНК (рис. 1). Так, установлена взаимосвязь между мутацией в гене фумаразы (*FH*) и наследственным лейомиоматозом [15]. Также была отмечена роль глюкокортикоидов в регуляции экспрессии генов и пролиферации клеток ММ [16]. Поиск генов, мутации в которых предопределяют развитие ММ, ведется уже более 40 лет, и к настоящему моменту описано множество соматических мутаций в клетках ММ, из которых ключевыми являются мутации в генах *MED12* и *HMGA2*. Также описан ряд наследственных синдромов, клиническая картина которых включает развитие миоматозных узлов (табл. 1) [17]. Основным наследственным синдромом, для которого характерно развитие ММ, является синдром Рида (называемый также синдромом наследственного лейомиоматоза и карциномы почки) [15]. В клинической картине синдромов Коудена и Протеуса образование ММ имеет второстепенное значение [17].

Несмотря на сообщения о наличии наследственных синдромов, для которых специфично развитие ММ, их вклад в общую заболеваемость составляет не более 10% [18]. Большинство доброкачественных новообразований характеризуются наличием соматических мутаций, предположительно возникших в стволовых клетках миометрия [19].

По данным экзомного секвенирования, мутации в гене *MED12* являются наиболее частым наследственным дефектом. Мутация во втором экзоне гена *MED12* (c.131G>A) может способствовать развитию ММ без дополнительных генетических нарушений [20, 21]. Вторым по частоте мутирования в ММ является ген *HMGA2*, кодирующий негистоновый хромосомный белок [22]. Наблюдается повышение экспрессии данного гена в клетках ММ по сравнению с нормальным миометрием.

В формировании миоматозного фенотипа и в патогенезе заболевания особую роль отводят кле-

Таблица 1. Наследственные синдромы, ассоциированные с развитием ММ

Наследственный синдром	Ключевые мутантные гены	Продукты генов	Функция продуктов мутантных генов
Синдром Рида	*FH*	Фумаратгидратаза	Осуществление реакции гидратации фумарата в цикле трикарбоновых кислот
Синдром Альпорта	*COL4A5, COL4A6*	Цепи коллагена IV типа: α5, α6	Входит в состав базальных мембран
Синдром Коудена/синдром Протеуса	*PTEN/AKT1*	Фосфатаза PTEN; серин-треониновая протеинкиназа Akt1	PTEN – опухолевый супрессор, регулятор клеточного деления; Akt1 – компонент путей сигнальной трансдукции, регулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток

точному окружению. Важным паракринным фактором роста ММ является внеклеточный матрикс, который может быть резервуаром для факторов роста, цитокинов, хемокинов и факторов ангиогенеза [23–25]. Нарушение паракринной сигнализации в результате генетических дефектов в клетках опухоли или накопление их в межклеточном матриксе может служить основной причиной прогрессирования ММ [26]. Исследования показали, что в миомах содержится на 50% больше коллагена, преимущественно аномально упакованого коллагена I типа [27]. Подобная структура внеклеточного матрикса объясняется гиперэкспрессией генов *COL4A1* и *NAV2* [2].

Проводили изучение экспрессии генов *PTEN* и *LKB1*, а также изменений, затрагивающих ключевые сигнальные пути PI3K/Akt/mTOR в клетках ММ и нормального миометрия. Существенных различий в экспрессии генов *Akt1* и *Akt2*, а также уровне mTOR между клетками ММ и нормальным миометрием обнаружено не было, при этом экспрессия генов *PTEN* и *LKB1* значительно выше в клетках ММ по сравнению с клетками нормального миометрия. Повышенные уровни экспрессии генов *PTEN* и *LKB1* на фоне отсутствия гиперпродукции Akt и mTOR предполагают нарушение регуляции путей PI3K/Akt/mTOR в ММ, что приводит к развитию доброкачественного новообразования [28].

В настоящее время ведется поиск генов, вовлеченных в патогенез ММ, с использованием биоинформатических подходов. Растет число работ, посвященных полногеномному поиску ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS), – исследованию взаимосвязи между геномными вариантами и развитием ММ [29]. Полногеномный поиск позволил выявить локусы *GREB1*, *OBFC1*, *TERT*, *WNT4*, *CDC42* и *TP53*, которые могут быть вовлечены в патогенез ММ [30–32]. В работе 2019 г. было показано, что статистически значимые геномные варианты различаются у представителей разных этнических групп. Так, вариант G>A в однонуклеотидном полиморфном сайте, локализованном между генами *CDC42* и *Wnt4*, положительно ассоциирован с ММ у представителей европейской популяции, однако не имеет статистически значимой ассоциации с ММ у представителей африканской этнической группы [30]. Взаимосвязь между однонуклеотидной заменой в 3'-нетранслируемой области гена *TP53* и развитием ММ представляет интерес, поскольку данный генетический вариант ведет к нарушению полиаденилирования и уменьшению количества мРНК, что в свою очередь приводит к нарушениям в работе систем репарации и контроля пролиферативной активности клеток [31]. Повышенная экспрессия *HEATR3* также ассоциирована с развитием ММ [30].

1.1 ММ – гормонозависимая опухоль

Действие половых стероидов опосредовано многочисленными пострецепторными механизмами, включающими активацию транскрипционных факторов, киназных белков и ингибиторов апоптоза в клетках миометрия. Результаты воздействия стероидных гормонов – повышенный рост ММ, выживание клеток и продукция внеклеточного матрикса [33]. Главными физиологическими регуляторами патогенеза ММ являются эстроген и прогестерон. В ряде исследований была продемонстрирована повышенная экспрессия генов рецепторов эстрогена и прогестерона в клетках ММ по сравнению с клетками нормального миометрия [34]. Было показано, что белок Bcl-2, который является фактором подавления апоптоза, гиперпродуцирован в ММ по сравнению с нормальными клетками миометрия, при этом его гиперпродукция стимулирована прогестероном и эстрогеном [34, 35].

К настоящему моменту доказана ведущая роль прогестерона в патогенезе ММ, который в норме регулирует развитие эндометрия и участвует в поддержании беременности [36, 37]. Действие прогестерона на ткани матки осуществляется за счет сигналов от двух изоформ рецепторов проге-

стерона (progesterone receptors, PR) – PR-A и PR-B, которые после активации лигандом функционируют как транскрипционные факторы. Прогестерон путем активации рецепторов и неклассической сигнализации усиливает рост миом, а также патологические процессы и пролиферацию клеток ММ. В то же время эстроген оказывает сопутствующее влияние, повышая чувствительность тканей к прогестерону за счет увеличения доступности его рецепторов [33, 35, 36]. В экспериментах по обработке клеток эстрогеном наблюдали увеличение количества рецепторов эпидермального фактора роста по сравнению с необработанными клетками. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что действие эстрогена опосредованно эпидермальным фактором роста и играет решающую роль в регуляции роста ММ [34]. Также была установлена достоверная ассоциация варианта T>C в позиции –13950 гена рецептора эстрогена с предрасположенностью к ММ. Кроме того, высокие уровни эстрогена у пациентов на фоне увеличенного индекса массы тела, по сравнению с контрольной группой, на разных стадиях менструального цикла усиливают рост миом, что позволяет говорить о повышенном уровне эстрогена и ожирении как о факторах, потенцирующих развитие заболевания [38]. Отмечается также вклад в патогенез ММ метилирования генов рецепторов эстрогена и прогестерона, однако эпигенетический статус клеток ММ подлежит дальнейшему изучению и уточнению [39].

1.2 Хромосомные перестройки

Значительную роль в патогенезе ММ играют цитогенетические нарушения. Наиболее частыми нарушениями при ММ являются делеции хромосом 1, 7, 16, 19 и 22. Гомозиготные делеции были обнаружены в локусе 1q43, высокий уровень делеций обнаружен в Х-хромосоме (q22.3, p11.3–p11.23) [40]. Также стоит отметить часто встречающиеся аберрации, такие как транслокация t(12;14)(q14–q15; q23–q24) и перестройки короткого плеча 6-й хромосомы (6p21 (инделы, инверсии)), затрагивающие гены *HMGA2* и *HGMA1* соответственно [41]. Трисомия 12 была обнаружена в некоторых опухолях, иногда в сочетании с другими аберрациями, за исключением делеции длинного плеча 7-й хромосомы и транслокации 12–14 [42]. Перестройки в длинных плечах хромосом 12 и 8 затрагивали гены *HMGA2* и *PLAG1* соответственно. При наличии перестройки в локусе 12q наблюдается повышенная экспрессия как *HMGA2*, так и протоонкогена *PLAG1*, в то время как в опухолях с перестройкой в локусе 8q наблюдали повышение экспрессии только гена *PLAG1*. В ММ без аберраций одновременно в 12q и 8q экспрессия *HMGA2* была очень низкой, а экспрессия гена *PLAG1* наблюдалась только в случае делеции участка длинного плеча 7-й хромосомы del(7)(q22) [43].

Были проведены исследования хромосомных перестроек в миомах, различающихся по наличию мутаций в гене *MED12*. В *MED12*-негативных опухолях наиболее распространенными являются делеции 1q31–q44, 1p34–p36, 2p23–p25 и 22q. Примечательно, что были обнаружены гетерозиготные делеции 1q43, затрагивающие ген *FH*. Было показано, что драйверные мутации, в частности в *MED12* и *FH*, являются взаимоисключающими [22]. Геномные изменения в *MED12*-положительных миомах очень отличаются от наблюдаемых в *MED12*-негативных опухолях. Подавляющее большинство изменений находилось в 7q21–q31. Также было отмечено, что геномные изменения в *MED12*-положительных миомах не влияют на регионы, кодирующие другие субъединицы медиаторного комплекса [44].

Несмотря на разнообразие хромосомных перестроек, необходимо отметить, что данный тип нарушений встречается не более чем в 30–40% миоматозных узлов [45, 46].

1.3 Генетическая и эпигенетическая регуляция в патогенезе ММ

Несмотря на сообщения о дерегуляции различных генов, ключевые генетические изменения, ведущие к развитию ММ, остаются неизвестными. Ведутся исследования, направленные на выявление нарушений в конкретных генах, приводящих к развитию ММ. Иммуногистохимический анализ показал наличие изменений в гене *TP53* в 26% лейомиосарком, но не выявил мутаций в данном гене при ММ [47]. При этом наблюдали как гиперэкспрессию гена *TP53*, так и повышение уровня продукции соответствующего белка в клетках ММ по сравнению с нормальным миометрием. Белок p53 вовлечен в процессы репарации повреждений в ДНК, а также в регуляцию клеточного цикла и опосредованно индуцирует апоптоз. Повышенное содержание данного белка ограничивает злокачественную трансформацию и дедифференцировку клеток [48].

Многочисленные исследования, направленные на поиск генов, гиперэкспрессия которых характерна для ММ, позволили выделить ряд генов с нарушенной регуляцией по сравнению с клетками нормального миометрия. Проведено исследование дифференциальной экспрессии генов, в котором сравнивали профили экспрессии генов в трех группах: ткани после биопсии, культивируемые клетки ММ и нормальный миометрий в качестве контроля. В результате работы было обнаружено повышение активности генов *NAV2*, *KIF5C*, *DCX*, *CAPN6* и *COL4A2* и снижение экспрессии генов *ALDH1A1* и *DPT* в клетках и тканях

по сравнению с контролем. Можно предположить, что нарушение регуляции этих генов связано с патогенезом заболевания [2]. Также были обнаружены гены-драйверы, мутации в которых приводят к возникновению ММ: мутации во втором экзоне гена *MED12*, гиперэкспрессия гена *HMGA2*, кодирующего негистоновый хромосомный белок, и в редких случаях диаллельная инактивация гена *FH*, кодирующего фермент фумаразу, принимающую участие в цикле трикарбоновых кислот [22, 49]. Данные гены могут стать генами-кандидатами в качестве мишеней для генной терапии ММ.

MED12. По данным экзомного секвенирования установлено, что мутации в гене *MED12* являются наиболее часто встречаемым дефектом и играют решающую роль в патогенезе ММ [20]. Так как все обнаруженные мутации находились во втором экзоне, было выдвинуто предположение, что нарушения именно в этой области приводят к развитию новообразований [20]. Большая часть идентифицированных мутаций второго экзона гена *MED12* затрагивали 44-й кодон. Мутации содержали как однонуклеотидные замены, так и небольшие делеции или инсерции (рис. 2) [50]. Анализ кДНК из опухоли с мутациями в гене *MED12* подтвердил преимущественную экспрессию мутантного аллеля. Секвенирование гена *MED12* в различных опухолях, включая рак яичников, рак молочной железы, рак толстой кишки, лейомиосаркому и опухоли гладких мышц с неопределенным злокачественным потенциалом, указывает на то, что мутации гена *MED12* являются высокоспецифичными для лейомиом и встречаются только в небольшой части лейомиосарком и гладкомышечных опухолей с неопределенным злокачественным потенциалом [17].

Ген *MED12* состоит из 45 экзонов, расположен в локусе Xq13 и кодирует 12-ю субъединицу 26-субъединичного медиаторного комплекса, необходимую для активации киназы CDK8, которая играет важную роль в регуляции транскрипции [51, 52]. Медиаторный комплекс является эволюционно консервативным мультипротеиновым комплексом, осуществляющим взаимодействие между транскрипционными факторами и РНК-полимеразой II. Он состоит из четырех частей: трех основных доменов (голова, середина, хвост) и киназного домена (субдомен CDK8). MED12 является одной из четырех субъединиц субдомена CDK8, наряду с MED13, CDK8 и циклином C [53]. MED12 связывается с циклином C и активирует комплекс циклин C–CDK8. Было установлено, что мутации в первом и во втором экзонах гена *MED12* ведут к нарушению взаимодействия белка с циклином C, что приводит к ингибированию киназной активности CDK8 [54, 55]. Примечательно, что в ММ с интактным геном *MED12* не было обнаружено мутаций в генах других субъединиц киназного комплекса (CDK8, MED13, CCNC) [56].

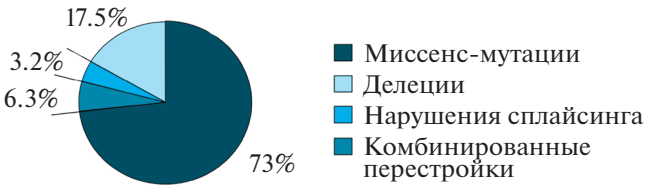

Рис. 2. Распределение мутаций во втором экзоне гена *MED12* [4].

Ген *MED12* включается на ранних стадиях эмбриогенеза и является важным звеном ряда сигнальных путей, его нокаутирование несовместимо с нормальным эмбриогенезом [57]. Тем не менее у моделей животных с условным нокаутом гена *MED12* с помощью Amhr2-Cre рекомбиназы не происходит развития ММ. В то время как повышенная экспрессия гена *MED12* с мутацией c.131G>A у условно нокаутированных мышей по гену *MED12*-KO, наоборот, приводила к более раннему началу развития ММ, которые также были больше по размеру [21]. Поскольку большинство мутаций гена *MED12,* ассоциированных с развитием ММ у человека, обнаруживались в экзоне 2, можно предположить, что нарушение активности этой области *MED12* способствует онкогенезу.

В 2018 г. было изучено взаимодействие между MED12 и рецептором прогестерона (PR). Мутации в гене *MED12* ведут к усилению взаимодействия между белком и PR, что приводит к повышению экспрессии гена лиганда рецептора активатора экспрессии NF-kB (RANKL, TNFSF11) в клетках ММ [58]. Показано, что RANKL активируется системой прогестерон/PR и играет важную роль в росте миом.

В клетках ММ, содержащих мутацию в гене *MED12*, наблюдали повышенный уровень продукции β-катенина, что было связано со снижением уровня продукции ингибитора β-катенина GSK-3β (гликогенсинтаза-киназа-3β). Повышение уровня β-катенина и активация Wnt4/β-катенин сигнального пути снижает уровень аутофагии и способствует делению клеток, приводя к быстрому опухолеобразованию [59]. Ранее было установлено, что нокдаун *MED12* приводил к снижению уровня продукции белков Wnt4 и β-катенина [60]. Считается, что одной из причин высокой мутабельности экзона 2 является наличие специфического сайта высокого риска (rs5937008), расположенного в относительной близости от гена *MED12* [61]. Было предположено, что происходит отбор клеток миомы без мутации *MED12*, несущих аллель “высокого риска” по данному полиморфному сайту, вследствие того что клетки с мутацией в гене *MED12* из-за сверхэкспрессии гена

SFRP1, ингибитора пути Wnt, получают дополнительные преимущества для выживания. Однако точный молекулярный механизм отбора клеток с мутацией гена *MED12* остается неизвестным [29].

HMGA2. Продукт гена *HMGA2* является членом семейства белков группы высокой мобильности А, связывающихся с малой бороздкой АТ-богатых сайтов в ДНК и функционирующих как регуляторы транскрипции. Белки HMGA изменяют структуру хроматина и таким образом регулируют транскрипционную активность нескольких генов [62]. Увеличение экспрессии гена *HMGA2* по сравнению с нормальным миометрием наблюдается более чем в 50% ММ, что делает данный ген кандидатом на роль основного генетического фактора, приводящего к развитию ММ [63, 64]. Чаще всего нарушения в экспрессии данного гена ассоциированы с хромосомными перестройками, затрагивающими участок 12q14–15, в частности происходит транслокация t(12;14)(q14–15;q23–24) [65]. Частым партнером при транслокациях гена *HMGA2* является ген *RAD51B*, кодирующий белок репарации двухцепочечных разрывов ДНК. Сверхэкспрессия мутантного гена может приводить к аномальному росту соматических стволовых клеток миометрия с образованием фиброидоподобных тканей [66]. В редких случаях происходит слияние *HMGA2* с несколькими другими генами, включая *ALDH2*, *COX6C* и *CALB1* [17]. Гиперэкспрессию гена *HMGA2* наблюдали также в клетках ММ, не содержащих транслокацию t(12;14) [64]. Экспрессия *HMGA2* может регулироваться с помощью микроРНК let-7 и связана с ингибированием старения фиброидных клеток [67]. Основным цис-элементом, регулирующим экспрессию *HMGA2*, является динуклеотидный повтор TCTCT(TC)$_n$, расположенный на 500 пн выше стартового кодона ATG [68]. Обнаружена корреляция между повышенным уровнем экспрессии данного гена и длиной повтора TC [29].

FH. Ген *FH* кодирует фермент фумаратгидратазу (фумаразу), участвующий в цикле трикарбоновых кислот. Данный фермент участвует в присоединении молекулы воды к фумарату с образованием малата. В отсутствие активности фумаразы в тканях матки и других органах накапливается фумарат, который ингибирует пролилгидроксилазу, что приводит к повышению уровня индуцируемого гипоксией фактора (HIF) в цитоплазме и изменению клеточного метаболизма [36]. Несмотря на то что нарушения в гене *FH* ассоциированы с развитием онкологических заболеваний, механизм развития патологий до конца не изучен. Гетерозиготная мутация в гене фумаратгидратазы (*FH*) является причиной развития синдрома Рида – редкого аутосомно-доминантного заболевания, характеризующегося множественными кожными лейомиомами, развитием карциномы почки и миомы матки у женщин [69]. Потеря активности фумаразы в опухолевой ткани, ассоциированная с мутациями в гене *FH*, обнаружена у 60% больных наследственным лейомиоматозом и карциномой почки [15]. Данный генетический дефект обнаруживается приблизительно в 1% всех случаев ММ [70, 71]. При наличии мутации в гене *FH* заболевание развивалось в более раннем возрасте [70].

Эпигенетическая регуляция. Особая роль в патогенезе заболевания отводится эпигенетической регуляции: метилированию ДНК, микроРНК и модификации гистоновых белков [29, 72, 73].

Выявлен ряд генов, метилирование которых значимо различалось в клетках ММ и нормальном миометрии, а также коррелировало с изменением количества соответствующих транскриптов. Гипометилированными и транскрипционно более активными оказались гены семейства коллагенов (*COL4A1*, *COL4A2*, *COL6A3*) и гены, вовлеченные в развитие различных онкологических заболеваний (*CYP1B1*, *RAD51B*, *IRS1*, *GSTM5*). Среди генов, экспрессия которых была подавлена повышенным уровнем метилирования, были выявлены поддерживающие стабильность клетки и активацию апоптоза (*DAPK1*, *NUAK1*) [74]. Нарушение статуса метилирования 12 генов, представленных в большинстве исследованных образцов миом, а также гиперметилирование генов *SATB2* и *NGR1* приводили к активации сигнального пути Wnt/β-катенин [75, 76].

Наряду с метилированием ДНК важным механизмом эпигенетической регуляции являются модификации гистоновых белков. Показано, что внешний эстроген стимулирует эпигенетический модификатор EZH2, приводя к снижению количества гистоновых меток H3K27me3 и последующей активации генов онкогенеза в клетках миометрия [77]. Отмечена корреляция низкого уровня экспрессии гена *KLF11*, кодирующего транскрипционный фактор, осуществляющий регуляцию опосредованно через деацетилазу гистонов, с развитием ММ [78, 79]. Низкая экспрессия *KLF11* может быть связана с повышенным метилированием промотора данного гена в клетках ММ [80].

Другим эпигенетическим механизмом, нарушение которого приводит к образованию ММ, является изменение регуляции экспрессии генов некодирующими РНК. Так, подавление активности микроРНК 106b, 93, let-7a, 26a и 26b, участвующих в регуляции экспрессии гена *HMGA2*, отрицательно коррелирует с уровнем экспрессии данного гена, что предполагает дополнительный молекулярный механизм активации *HMGA2* и развития ММ [81]. Снижение количества микроРНК miR-150 в клетках ММ влияет на регуляцию клеточного цикла через сигнальный путь Akt/p27Kip1 [82]. Отмечают также вклад микроРНК miR-21 в регуляцию генов, ответственных за образование внекле-

Таблица 2. Животные модели, использующиеся в изучении патогенеза миом матки и подходов к генной терапии

Модель	Описание модели	Источник
Морские свинки	У около 8% морских свинок спонтанно развивается ММ. После овариэктомии и воздействия эстрогена ~100% животных развивают ММ	[89, 90]
Домашняя курица	Спонтанное развитие ММ, связанное с повышенной экспрессией генов рецепторов эстрогена и прогестерона, а также гена *Bcl2*	[91]
Миниатюрные свиньи	Спонтанное развитие ММ, связанное с повышенной экспрессией гена рецептора прогестерона	[92]
Крысы Экера	Содержат мутацию зародышевой линии в гене *Tsc2*. Заболевание развивается в 65% случаев	[88, 93]
Мыши	Иммунодефицитные (SCID) мыши после инъекций гормонов (эстрогена и прогестерона) и подкожной трансплантации клеток ММ	[94–96]
	Генетически модифицированные мыши с условным нокаутом гена *Tsc2*	[97]
	Генетически модифицированные мыши с гиперэкспрессией гена *GPR10*	[98]
	Генетически модифицированные мыши с повышенной экспрессией гена β-катенина	[99]
	Генетически модифицированные мыши с мутацией в гене *MED12* (c.131G>A)	[21]

точного матрикса, в частности генов коллагена I типа и матриксных металлопротеиназ [83].

2. ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Генная терапия – введение с терапевтическими целями в клетки и ткани организма нуклеиновых кислот, их синтетических аналогов или геном-редактирующих систем, для направленного изменения уровня экспрессии или исправления дефекта определенного гена [84]. Результатом данного подхода может являться восполнение либо подавление работы поврежденных генов, изменение последовательности ДНК или внесение новых функций в клетку [85].

Главной проблемой генной терапии остается отсутствие эффективных и одновременно безопасных способов доставки терапевтических генетических конструкций в клетки-мишени. Для эффективной генной терапии вектор должен обладать такими свойствами, как биодеградируемость, неиммуногенность, способность включать последовательность ДНК больших размеров, а также направленно доставлять терапевтические генетические конструкции к определенным органам и тканям. С целью повышения специфичности векторов и эффективности в преодолении вне- и внутриклеточных барьеров транспорта активно разрабатывают различные носители нуклеиновых кислот вирусной и невирусной природы [86]. В качестве вирусных векторов используют аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы и другие [87]. Невирусные способы включают доставку нуклеиновых кислот с помощью липосом и полимеров, а также физические методы доставки.

2.1 Клеточные и животные модели ММ

Важным условием успешного проведения генной терапии является выбор модельного объекта. В качестве модельных объектов в генной терапии ММ выступают иммортализованные клеточные линии, такие как HuLM, первичные клеточные линии ММ, полученные от пациентов после миомэктомии, а также лабораторные животные (крысы, мыши и др.) (табл. 2) [88]. Основные требования, предъявляемые к модельным объектам генной терапии, обычно включают фенотипическое и генетическое сходство с заболеванием, удобство в использовании и поддержании клеточных культур, а также в содержании лабораторных животных.

2.2 Системы доставки генетических конструкций в ММ

Наиболее часто используемой системой доставки терапевтических генетических конструкций в клетки ММ является аденовирусный вектор (Ad). Результаты ряда исследований с применением данного вектора показали высокую эффективность доставки терапевтических генов в клетки ММ [100].

Для увеличения эффективности и специфичности проникновения конструкций в клетки ММ проводят изучение различных модификаций Ad-вектора. В ряде работ наблюдали повышение уровня трансдукции клеток ММ в экспериментах

in vitro и *in vivo* при модификации Ad-вектора лигандом RGD (аргинилглициласпарагиновая кислота) [8, 101, 102]. Псевдотипирование вектора Ad собачьим аденовирусом серотипа 2 (CAV2) также приводило к повышению специфичности проникновения конструкций в клетки ММ [8]. Кроме того, магнитные наночастицы в составе комплексов с Ad-векторами способны повышать эффективность трансдукции клеток после воздействия магнитным полем. Этот подход позволяет уменьшать дозу векторов, тем самым снижая иммуногенность лекарства, не изменяя при этом эффективности специфической доставки [103]. Таким образом, дальнейшие исследования, направленные на снижение концентраций используемых носителей на основе вирусов при сохранении высокого уровня эффективности, смогут позволить сделать возможным применение данных векторов в клинической генной терапии ММ. Альтернативой вирусам являются невирусные носители. Они не обладают иммуногенностью и не имеют ограничения на размер доставляемой терапевтической конструкции, однако сегодня они уступают вирусным носителям по эффективности доставки *in viv*o. Необходимы дальнейшие усилия по совершенствованию невирусных систем доставки с целью создания эффективных и безопасных молекулярных комплексов, которых могли бы имитировать вирусные векторы [104, 105].

2.3 Подавление активности эстрогеновых рецепторов

Роль стероидных гормонов яичников в патогенезе ММ подтверждается эпидемиологическими, клиническими и экспериментальными данными [33, 38]. Одной из мишеней для генной терапии ММ могут служить рецепторы эстрогена. Нарушение связывания эстрогена с рецепторами и подавление их активности ведет к снижению уровня пролиферации клеток ММ. С целью подавления пролиферативной активности клеток ММ используют ген доминантного негативного рецептора эстрогена (*DNER*), представляющий собой форму рецепторов эстрогена (ER), которая не способна запускать транскрипцию. Также молекулы DNER образуют димеры с нативными ER и подавляют их активность [106]. Доставка гена *DNER* в клетки ММ с помощью Ad-вектора приводила к снижению уровня пролиферации трансдуцированных клеток. Кроме того, DNER влияет на экспрессию нескольких регулируемых эстрогеном генов, которые контролируют апоптоз, пролиферацию и образование внеклеточного матрикса. В частности, в инфицированных Ad-DNER клетках ММ регистрировали низкое содержание белка Bcl-2, повышенное содержание белка BAX, а также высокий уровень каспазы 3 [107]. Сообщается также о снижении продукции белка VEGF клетками ММ после введения Ad-DNER, однако существенного вклада VEGF в патогенез миомы выявлено не было [108–110].

Внутриопухолевое введение Ad-DNER бестимусным мышам с ММ приводило к снижению пролиферации и запуску апоптоза в клетках ММ [100]. Внутриопухолевые инъекции Ad-DNER крысам Экера также приводили к клеточной гибели путем запуска как внутреннего пути апоптоза за счет увеличения продукции белков Bax и p53, так и внешнего пути за счет повышения экспрессии генов *FasL* и *Daxx* [107].

2.4 Суицидная генная терапия

Одним из популярных подходов в генной терапии опухолей является доставка в клетки-мишени суицидных генов. В большинстве исследований по суицидной генной терапии проводят трансфекцию клеток геном тимидинкиназы вируса простого герпеса (*HSV-TK*) с последующим лечением ганцикловиром (GCV). Ганцикловир, являющийся ациклическим нуклеозидом, фосфорилируется тимидинкиназой вируса герпеса, что делает данное соединение доступным для фосфорилирования клеточными киназами; образующийся в результате тринуклеозид встраивается в реплицирующуюся ДНК, нарушая репликацию и запуская каскады, приводящие к апоптозу [111]. Установлено, что введение в клетки гена *HSV-TK* с последующим воздействием ганцикловиром снижает продукцию белков PCNA и циклина D, ответственных за пролиферацию, и увеличивает продукцию проапоптозного белка Bax [102]. Важное преимущество данного подхода заключается в том, что погибают не только клетки, в которые встроилась терапевтическая генная конструкция, но и часть окружающих их клеток. Данный феномен, который получил название “эффект свидетеля” (bystander effect), можно объяснить возможным переносом фосфорилированного ганцикловира в соседние клетки при их межклеточных взаимодействиях (рис. 3) [112].

Исследование, проводимое на клетках ELT-3 и первичных клетках ММ, по введению гена *HSV-TK* в составе аденовирусного вектора с последующим лечением ганцикловиром показало снижение уровня пролиферации обеих клеточных культур. Снижение пролиферативной активности первичных клеток ММ имело дозозависимый характер и зависело от количества введенных аденовирусных векторов с геном *HSV-TK* [113]. Клетки линии ELT-3, инфицированные аденовирусным вектором, содержащим *HSV-TK*, были затем трансплантированы бестимусным мышам с ММ. Авторы демонстрировали остановку роста опухоли после данной процедуры, а также подтверждали отсутствие токсического эффекта, связанного с попаданием вирусного вектора в незараженные

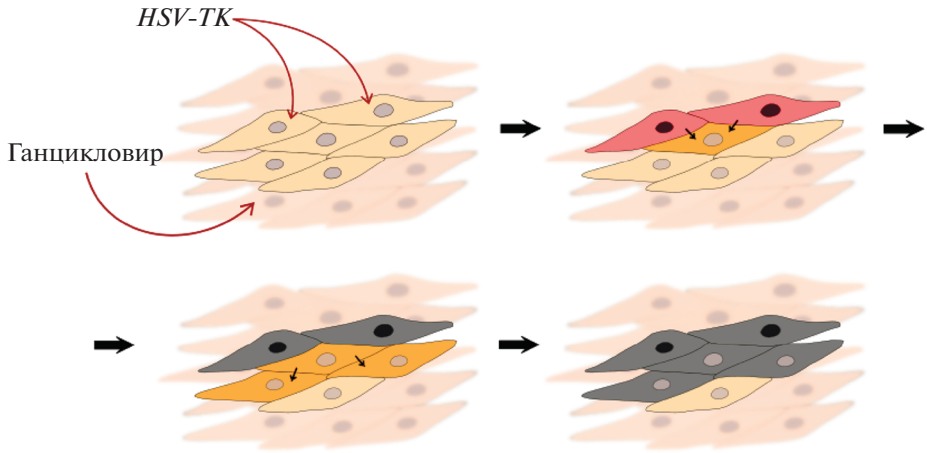

Рис. 3. "Эффект свидетеля" после трансфекции клеток геном тимидинкиназы *HSV-TK* и последующего лечения ганцикловиром. Трижды фосфорилированный ганцикловир попадает в соседние клетки, в которых встраивается в цепь ДНК, терминируя ее репликацию и приводя к апоптозу. Стрелками показаны пути распространения фосфорилированного ганцикловира в соседние клетки. Черным цветом показаны ядра клеток, в которых происходит транскрипция гена *HSV-TK*.

органы и ткани [113]. Эксперименты по внутриопухолевым инъекциям аденовирусного вектора с *HSV-TK* крысам Экера показали значительное уменьшение размеров опухолей [114].

Дальнейшее развитие суицидная генотерапия ММ получила благодаря улучшению вирусных систем доставки с помощью модификации Ad-вектора мотивом RGD и магнитными наночастицами [101–103].

В ряде работ по суицидной генной терапии ММ использовали невирусные способы доставки. В исследовании Ниу и коллег сообщается об эффективной трансфекции клеток ММ и клеток линии ELT-3 плазмидой, содержащей ген *HSV-TK* [115]. Отмечено преимущество использования невирусных векторов, в частности отсутствие иммунного ответа на введение плазмиды. Показано достоверное снижение выживаемости первичных клеток ММ после трансфекции комплексами с *HSV-TK* и цистеин-фланкированными катионными пептидами [116]. При этом модификация пептидных носителей циклическим лигандом iRGD приводила к значительному увеличению эффективности трансфекции. Доставка *HSV-TK* пептидными носителями, модифицированными лигандом iRGD, и последующее лечение GCV снижали пролиферативную активность клеток ММ и приводили к апоптозу [117]. Дальнейшая разработка невирусных систем доставки является перспективным направлением генной терапии ММ.

3. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МИШЕНИ

Наряду с разработкой систем доставки поиск новых мишеней является актуальным направлением в создании эффективных методов лечения ММ. Как отмечалось ранее, основные исследования по генной терапии ММ направлены на подавление рецептора эстрогена в клетках ММ и доставку суицидных генов [118]. С появлением новых данных о молекулярно-генетических особенностях ММ количество потенциальных мишеней для генной терапии увеличилось. Наибольший интерес в качестве потенциальных мишеней представляют гены *MED12* и *HMGA2*, нарушения в которых присутствуют в 80–90% ММ [119]. Так, специфичное подавление экспрессии мутантного гена *MED12* может оказаться эффективной стратегией терапии ММ. Ранее в работе Аль-Хенди и соавт. было продемонстрировано, что подавление экспрессии *MED12* с помощью РНК-интерференции приводит к уменьшению уровня белков Wnt и β-катенина и к снижению уровня пролиферации иммортализованных клеток ММ [60]. Аналогично подавление экспрессии гена *HMGA2*, активно экспрессирующегося еще в эмбриогенезе, может сыграть существенную роль в лечении заболевания [120].

Другой потенциальной стратегией терапии ММ может являться специфическое воздействие на гены, контролирующие образование внеклеточного матрикса (ВКМ). Известно, что ВКМ миомы отличается от ВКМ здоровой ткани миометрия повышенным содержанием коллагена I типа, фибронектинов и протеогликанов, а также дисрегуляцией работы металлопротеиназ [118, 121]. Воздействие на компоненты ВКМ может привести к подавлению роста ММ, к нарушению межклеточной структуры и повышению доступности клеток опухоли для терапевтических препаратов [118]. Комбинированное лечение на основе суицидной генной терапии и разрушения ВКМ может значи-

тельно повысить эффективность лечения миом. Следует отметить, что миоматозные узлы окружены плотной оболочкой – псевдокапсулой, образованной клетками нормального миометрия [122]. Понимание механизмов образования псевдокапсулы может помочь в поиске новых мишеней для терапии ММ.

Перспективным подходом к генной терапии ММ является активация апоптоза внутри опухоли. Показано, что в клетках ММ снижена экспрессия генов, вовлеченных в активацию и регуляцию программируемой клеточной гибели. Введение в клетки ММ апоптоз-индуцирующих факторов, таких как TNF, TRAIL, FasL, Bax, или активированных каспаз усиливает механизмы апоптоза как по внешнему, так и по внутреннему пути клеточной сигнализации [123].

Сообщается также о роли васкуляризации и повышения проницаемости сосудов матки в формировании и развитии ММ [17]. Процессы образования новых кровеносных сосудов тесно ассоциированы с развитием опухолей, они определяют характер роста и клинико-морфологические варианты (простая и пролиферирующая ММ). В связи с этим перспективными для лечения ММ представляются методы, связанные с действием на процессы ангиогенеза [124, 125]. Ранее установлено, что в клетках ММ по сравнению с нормальным миометрием наблюдается повышенная экспрессия гена *VEGF* – основного фактора неоваскуляризации [126, 127]. Известно, что опухоли при ММ слабо васкуляризированы, но аномально развитая сеть сосудов представлена на периферии и в псевдокапсуле [128]. Подавление экспрессии генов, запускающих ангиогенез, таких как *VEGF*, *bFGF* и др., может приводить к снижению интенсивности роста и уменьшению объема ММ. Мишенью при данном подходе являются клетки эндотелия сосудов. Показано, что введение в миоматозные узлы рекомбинантного фактора PEDF снижало количество белка VEGF [129]. Таким образом, ММ оказалась чувствительна к действию анти-ангиогенных белков, несмотря на малое количество сосудов внутри самой опухоли [123]. В качестве ингибиторов процессов ангиогенеза для генной терапии ММ могут выступать антисмысловые олигонуклеотиды либо малые интерферирующие РНК (миРНК), способные специфически связываться с транскриптами гена VEGFA, его рецептора, а также других генов проангиогенных факторов [130, 131].

Следует отметить, что в большинстве случаев генной терапии ММ экспрессия трансгена должна быть ограничена исключительно клетками опухоли. Локализованный характер ММ помогает легко идентифицировать цель для клинического применения векторов генной терапии и, следовательно, позволяет избежать непреднамеренной трансфекции клеток окружающего миометрия. Селективная экспрессия трансгенов в ММ может быть достигнута с помощью промоторов факторов транскрипции, специфичных для ММ, а также эффективных векторов для направленной доставки генетических конструкций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящий момент генная терапия находится на стадии разработки эффективных систем доставки терапевтических конструкций в клетки. Некоторые из них уже находят практическое применение в медицине. Векторы на основе вирусов показывают большую эффективность в доставке терапевтических генетических конструкций, однако их токсичность, связанная с возможностью запуска иммунного ответа, накладывает ограничения на использование их *in vivo*. В качестве альтернативы разрабатываются невирусные векторы на основе липосом и полимеров.

С развитием молекулярных технологий и появлением новых данных о молекулярных аспектах патогенеза ММ увеличивается число методов и препаратов, направленных на подавление роста и развития опухоли. Изучение особенностей патогенеза ММ и выявление новых генов-кандидатов делает возможным разработку перспективных терапевтических генетических конструкций. Четкая визуализация миом и их доступность различным эндоскопическим методам делают данное заболевание удобной мишенью для генной терапии.

В экспериментах на модельных животных продемонстрировано успешное применение подходов генной терапии к лечению ММ. Показано, что подавление активности рецепторов эстрогена с помощью доставки в клетки ММ мутантной формы рецептора эстрогена (DNER) снижает пролиферативную активность клеток, а также индуцирует апоптоз. Суицидная генная терапия с использованием гена тимидинкиназы вируса простого герпеса и последующим лечением ганцикловиром также демонстрирует значительное уменьшение размеров опухоли через индукцию апоптоза как в трансфицированных клетках, так и в соседних опухолевых клетках за счет “эффекта свидетеля”.

Генная терапия ММ на данный момент находится на стадии становления. Для развития данного подхода необходимы дальнейшие фундаментальные исследования патогеномики ММ и клинические испытания. Важным шагом на пути к генной терапии ММ будет создание эффективных и безопасных систем доставки терапевтических конструкций в клетки, а также дальнейший поиск генов-кандидатов и уточнение молекулярных механизмов патогенеза заболевания.

Написание раздела 1 проведено в соответствии с планами научно-исследовательской работы НИИАГиР им. Д.О. Отта (тема № АААА-А19-

119021290033-1). Написание разделов 2 и 3 проведено при поддержке гранта РНФ № 19-15-00108. Марианна Маретина – стипендиат Совета по грантам Президента РФ (СП-822.2018.4).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Walker C.L., Stewart E.A.* Uterine fibroids: The elephant in the room // Science. 2005. V. 308. P. 1589–1592. https://doi.org/10.1126/science.1112063
2. *Xia L., Liu Y., Fu Y. et al.* Integrated analysis reveals candidate mRNA and their potential roles in uterine leiomyomas. // J. Obstet. Gynaecol. Res. 2017. V. 43. P. 149–156. https://doi.org/10.1111/jog.13172
3. *Stewart E.A.* Uterine fibroids // Lancet. 2001. V. 357. P. 293–298. https://doi.org/10.1016/S0140-67360003622-9
4. *Osinovskaya N.S., Malysheva O.V., Shved N.Y. et al.* Frequency and Spectrum of MED12 exon 2 mutations in multiple versus solitary uterine leiomyomas from Russian patients // Int. J. Gynecol. Pathol. 2016. V. 35. P. 509–515. https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000255
5. *Gingold J.A., Gueye N.-A., Falcone T.* Minimally invasive approaches to myoma management // J. Minim. Invasive. Gynecol. 2018. V. 25. P. 237–250. https://doi.org/10.1016/j.jmig.2017.07.007
6. *Dubuisson J.* The current place of mini-invasive surgery in uterine leiomyoma management // J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod. 2019. V. 48. P. 77–81. https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2018.10.004
7. *Доброхотова Ю.Э., Ильина И.Ю., Ибрагимова Д.М., Нариманова М.Р.* Миома матки: альтернативные методы лечения // Проблемы репродукции. 2018. Т. 24. № 2. С. 83–87.
8. *Hassan M.H., Khatoon N., Curiel D.T. et al.* Toward gene therapy of uterine fibroids: Targeting modified adenovirus to human leiomyoma cells // Hum. Reprod. 2008. V. 23. P. 514–524. https://doi.org/10.1093/humrep/dem410
9. *Cramer S.F., Patel A.* The frequency of uterine leiomyomas // Am. J. Clin. Pathol. 1990. V. 94. P. 435–438. https://doi.org/10.1093/ajcp/94.4.435
10. *Linder D., Gartler S.M.* Distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase electrophoretic variants in different tissues of heterozygotes // Am. J. Hum. Genet. 1965. V. 17. P. 212–220.
11. *Canevari R.A., Pontes A., Rosa F.E. et al.* Independent clonal origin of multiple uterine leiomyomas that was determined by X chromosome inactivation and microsatellite analysis // Am. J. Obstet. Gynecol. 2005. V. 193. P. 1395–1403. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2005.02.097
12. *Holdsworth-Carson S.J., Zaitseva M., Vollenhoven B.J., Rogers P.A.W.* Clonality of smooth muscle and fibroblast cell populations isolated from human fibroid and myometrial tissues // MHR Basic Sci. Reprod. Med. 2014. V. 20. P. 250–259. https://doi.org/10.1093/molehr/gat083
13. *Andersen J., DyReyes V.M., Barbieri R.L. et al.* Leiomyoma primary cultures have elevated transcriptional response to estrogen compared with autologous myometrial cultures // J. Soc. Gynecol. Investig. 1995. V. 2. P. 542–551. https://doi.org/10.1177/107155769500200307
14. *Rein M.S., Barbieri R.L., Friedman A.J.* Progesterone: A critical role in the pathogenesis of uterine myomas // Am. J. Obstet. Gynecol. 1995. V. 172. P. 14–18. https://doi.org/10.1016/0002-93789590077-2
15. *Tomlinson I.P.M., Alam N.A., Rowan A.J. et al.* Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer // Nat. Genet. 2002. V. 30. P. 406–410. https://doi.org/10.1038/ng849
16. *Whirledge S., Dixon D., Cidlowski J.A.* Glucocorticoids regulate gene expression and repress cellular proliferation in human uterine leiomyoma cells // Horm. Cancer. 2012. V. 3. P. 79–92. https://doi.org/10.1007/s12672-012-0103-0
17. *Commandeur A.E., Styer A.K., Teixeira J.M.* Epidemiological and genetic clues for molecular mechanisms involved in uterine leiomyoma development and growth // Hum. Reprod. Update. 2015. V. 21. P. 593–615. https://doi.org/10.1093/humupd/dmv030
18. *Mehine M., Kaasinen E., Heinonen H.-R. et al.* Integrated data analysis reveals uterine leiomyoma subtypes with distinct driver pathways and biomarkers // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2016. V. 113. P. 1315–1320. https://doi.org/10.1073/pnas.1518752113
19. *Baranov V.S., Ivaschenko T.E., Yarmolinskaya M.I.* Comparative systems genetics view of endometriosis and uterine leiomyoma: Two sides of the same coin? // Syst. Biol. Reprod. Med. 2016. V. 62. P. 93–105. https://doi.org/10.3109/19396368.2015.1123325
20. *Makinen N., Mehine M., Tolvanen J. et al.* MED12, the mediator complex subunit 12 gene, is mutated at high frequency in uterine leiomyomas // Science. 2011. V. 334. P. 252–255. https://doi.org/10.1126/science.1208930
21. *Mittal P., Shin Y., Yatsenko S.A. et al.* Med12 gain-of-function mutation causes leiomyomas and genomic instability // J. Clin. Invest. 2015. V. 125. P. 3280–3284. https://doi.org/10.1172/JCI81534
22. *Mäkinen N., Kämpjärvi K., Frizzell N. et al.* Characterization of MED12, HMGA2, and FH alterations reveals molecular variability in uterine smooth muscle tumors // Mol. Cancer. 2017. V. 16. P. 101. https://doi.org/10.1186/s12943-017-0672-1

23. *Nair S., Al-Hendy A.* Adipocytes enhance the proliferation of human leiomyoma cells via TNF-α proinflammatory cytokine // Reprod. Sci. 2011. V. 18. P. 1186–1192. https://doi.org/10.1177/1933719111408111
24. *Ono M., Yin P., Navarro A. et al.* Paracrine activation of WNT/β-catenin pathway in uterine leiomyoma stem cells promotes tumor growth // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. P. 17053–17058. https://doi.org/10.1073/pnas.1313650110
25. *Moravek M.B., Yin P., Coon J.S. et al.* Paracrine pathways in uterine leiomyoma stem cells involve insulin-like growth factor 2 and insulin receptor A // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2017. V. 102. P. 1588–1595. https://doi.org/10.1210/jc.2016-3497
26. *Islam M.S., Greco S., Janjusevic M. et al.* Growth factors and pathogenesis // Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2016. V. 34. P. 25–36. https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2015.08.018
27. *Leppert P.C., Baginski T., Prupas C. et al.* Comparative ultrastructure of collagen fibrils in uterine leiomyomas and normal myometrium // Fertil. Steril. 2004. V. 82. P. 1182–1187. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.04.030
28. *Makker A., Goel M., Mahdi A. et al.* PI3K/Akt/mTOR signaling; its regulator tumour suppressor genes PTEN & LKB1 in human uterine leiomyomas // Indian. J. Med. Res. 2016. V. 143. P. 112. https://doi.org/10.4103/0971-5916.191808
29. *Baranov V.S., Osinovskaya N.S., Yarmolinskaya M.I.* Pathogenomics of uterine fibroids development // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. P. 6151. https://doi.org/10.3390/ijms20246151
30. *Edwards T.L., Giri A., Hellwege J.N. et al.* A trans-ethnic genome-wide association study of uterine fibroids // Front. Genet. 2019. V. 10. P. 511. https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00511
31. *Rafnar T., Gunnarsson B., Stefansson O.A. et al.* Variants associating with uterine leiomyoma highlight genetic background shared by various cancers and hormone-related traits // Nat. Commun. 2018. V. 9. P. 3636. https://doi.org/10.1038/s41467-018-05428-6
32. *Gallagher C.S., Mäkinen N., Harris H.R. et al.* Genome-wide association and epidemiological analyses reveal common genetic origins between uterine leiomyomata and endometriosis // Nat. Commun. 2019. V. 10. P. 4857. https://doi.org/10.1038/s41467-019-12536-4
33. *Reis F.M., Bloise E., Ortiga-Carvalho T.M.* Hormones and pathogenesis of uterine fibroids // Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2016. V. 34. P. 13–24. https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2015.11.015
34. *Shimomura Y., Matsuo H., Samoto T., Maruo T.* Upregulation by progesterone of proliferating cell nuclear antigen and epidermal growth factor expression in human uterine leiomyoma // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1998. V. 83. P. 2192–2198. https://doi.org/10.1210/jcem.83.6.4879
35. *Catherino W.H., Parrott E., Segars J.* Proc. from the Natl institute of child health and human development conference on the uterine fibroid research update workshop // Fertil. Steril. 2011. V. 95. P. 9–12. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.08.049
36. *Patel B., Elguero S., Thakore S. et al.* Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology // Hum. Reprod. Update. 2015. V. 21. P. 155–173. https://doi.org/10.1093/humupd/dmu056
37. *Kim J.J., Sefton E.C.* The role of progesterone signaling in the pathogenesis of uterine leiomyoma // Mol. Cell. Endocrinol. 2012. V. 358. P. 223–231. https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.05.044
38. *Veronica M., Ali A., Venkateshwari A. et al.* Association of estrogen and progesterone receptor gene polymorphisms and their respective hormones in uterine leiomyomas // Tumor Biol. 2016. V. 37. P. 8067–8074. https://doi.org/10.1007/s13277-015-4711-5
39. *Есенеева Ф.М., Шалаев О.Н., Оразмурадов А.А. и др.* Влияние эпигенетических процессов на экспрессию генов стероидных рецепторов при миоме матки // Трудный пациент. 2017. Т. 15. С. 23–26.
40. *Liegl-Atzwanger B., Heitzer E., Flicker K. et al.* Exploring chromosomal abnormalities and genetic changes in uterine smooth muscle tumors // Mod. Pathol. 2016. V. 29. P. 1262–1277. https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.107
41. *Ligon A.H., Morton C.C.* Genetics of uterine leiomyomata // Genes., Chromosom. Cancer. 2000. V. 28. P. 235–245. https://doi.org/10.1002/1098-226420000728:3<235::AID-GCC1>3.0.CO;2-7
42. *Nilbert M., Heim S., Mandahl N. et al.* Trisomy 12 in uterine leiomyomas // Cancer Genet. Cytogenet. 1990. V. 45. P. 63–66. https://doi.org/10.1016/0165-46089090067-K
43. *Panagopoulos I., Gorunova L., Brunetti M. et al.* Genetic heterogeneity in leiomyomas of deep soft tissue // Oncotarget. 2017. V. 8. P. 48769–48781. https://doi.org/10.18632/oncotarget.17953
44. *Yatsenko S.A., Mittal P., Wood-Trageser M.A. et al.* Highly heterogeneous genomic landscape of uterine leiomyomas by whole exome sequencing and genome-wide arrays // Fertil. Steril. 2017. V. 107. P. 457–466. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.10.035
45. *Hodge J.C., Kim T.-M., Dreyfuss J.M. et al.* Expression profiling of uterine leiomyomata cytogenetic subgroups reveals distinct signatures in matched myometrium: transcriptional profiling of the t12;14 and evidence in support of predisposing genetic heterogeneity // Hum. Mol. Genet. 2012. V. 21. P. 2312–2329. https://doi.org/10.1093/hmg/dds051
46. *Mehine M., Kaasinen E., Mäkinen N. et al.* Characterization of uterine leiomyomas by whole-genome sequencing // N. Engl. J. Med. 2013. V. 369. P. 43–53. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1302736
47. *Hall K.L., Teneriello M.G., Taylor R.R. et al.* Analysis of Ki-ras, p53, and MDM2 genes in uterine leiomyomas and leiomyosarcomas // Gynecol. Oncol. 1997. V. 65. P. 330–335. https://doi.org/10.1006/gyno.1997.4653
48. *Lora V., Grings A.O., Capp E. et al.* Gene and protein expression of progesterone receptor isoforms A and B, p53 and p21 in myometrium and uterine leiomyoma //

Arch. Gynecol. Obstet. 2012. V. 286. P. 119–124. https://doi.org/10.1007/s00404-012-2245-2

49. *Xie J., Xu X., Yin P. et al.* Application of ex-vivo spheroid model system for the analysis of senescence and senolytic phenotypes in uterine leiomyoma // Lab. Investig. 2018. V. 98. P. 1575–1587. https://doi.org/10.1038/s41374-018-0117-5
50. *Осиновская Н.С., Иващенко Т.Э., Долинский А.К. и др.* Мутации гена MED12 у женщин с миомой матки // Генетика. 2013. Т. 49. № 12. С. 1426–1431.
51. *Knuesel M.T., Meyer K.D., Donner A.J. et al.* The human CDK8 subcomplex is a histone kinase that requires Med12 for activity and can function independently of mediator // Mol. Cell. Biol. 2009. V. 29. P. 650–661. https://doi.org/10.1128/MCB.00993-08
52. *Taatjes D.J.* The human mediator complex: A versatile, genome-wide regulator of transcription // Trends Biochem. Sci. 2010. V. 35. P. 315–322. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2010.02.004
53. *Borggrefe T., Yue X.* Interactions between subunits of the Mediator complex with gene-specific transcription factors // Semin. Cell. Dev. Biol. 2011. V. 22. P. 759–768. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2011.07.022
54. *Turunen M., Spaeth J.M., Keskitalo S. et al.* Uterine leiomyoma-linked MED12 mutations disrupt mediator-associated CDK activity // Cell. Rep. 2014. V. 7. P. 654–660. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.03.047
55. *Kämpjärvi K., Park M.J., Mehine M. et al.* Mutations in exon 1 highlight the role of MED12 in uterine leiomyomas // Hum. Mutat. 2014. V. 35. P. 1136–1141. https://doi.org/10.1002/humu.22612
56. *Mäkinen N., Heinonen H.-R., Sjöberg J. et al.* Mutation analysis of components of the Mediator kinase module in MED12 mutation-negative uterine leiomyomas // Br. J. Cancer. 2014. V. 110. P. 2246–2249. https://doi.org/10.1038/bjc.2014.138
57. *Rocha P.P., Scholze M., Bleiß W., Schrewe H.* Med12 is essential for early mouse development and for canonical Wnt and Wnt/PCP signaling // Development. 2010. V. 137. P. 2723–2731. https://doi.org/10.1242/dev.053660
58. *Liu Y., Liu X., Liu Y., Zhao J.* Screening of potential biomarkers in uterine leiomyomas disease via gene expression profiling analysis // Mol. Med. Rep. 2018. V. 17(5). P. 6985–6996. https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8756
59. *El Andaloussi A., Al-Hendy A., Ismail N. et al.* Introduction of somatic mutation in MED12 induces Wnt4/β-catenin and disrupts autophagy in human uterine myometrial cell // Reprod. Sci. 2020. V. 27. P. 823–832. https://doi.org/10.1007/s43032-019-00084-7
60. *Al-Hendy A., Laknaur A., Diamond M.P. et al.* Silencing Med12 gene reduces proliferation of human leiomyoma cells mediated via Wnt/β-catenin signaling pathway // Endocrinology. 2017. V. 158. P. 592–603. https://doi.org/10.1210/en.2016-1097
61. *Välimäki N., Kuisma H., Pasanen A. et al.* Genetic predisposition to uterine leiomyoma is determined by loci for genitourinary development and genome stability // Elife. 2018. V. 7. e37110. https://doi.org/10.7554/eLife.37110
62. *Fusco A., Fedele M.* Roles of HMGA proteins in cancer // Nat. Rev. Cancer. 2007. V. 7. P. 899–910. https://doi.org/10.1038/nrc2271
63. *Galindo L.J., Hernández-Beeftink T., Salas A. et al.* HMGA2 and MED12 alterations frequently co-occur in uterine leiomyomas // Gynecol. Oncol. 2018. V. 150. P. 562–568. https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2018.07.007
64. *Klemke M., Meyer A., Nezhad M.H. et al.* Overexpression of HMGA2 in uterine leiomyomas points to its general role for the pathogenesis of the disease // Genes, Chromosom. Cancer. 2009. V. 48. P. 171–178. https://doi.org/10.1002/gcc.20627
65. *Hennig Y., Rogalla P., Wanschura S. et al.* HMGIC expressed in a uterine leiomyoma with a deletion of the long arm of chromosome 7 along with a 12q14–15 rearrangement but not in tumors showing del7 as the sole cytogenetic abnormality // Cancer Genet. Cytogenet. 1997. V. 96. P. 129–133. https://doi.org/10.1016/S0165-46089600283-X
66. *Mas A., Cervelló I., Gil-Sanchis C. et al.* Identification and characterization of the human leiomyoma side population as putative tumor-initiating cells // Fertil. Steril. 2012. V. 98. P. 741–751. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.04.044
67. *Markowski D.N., Helmke B.M., Belge G. et al.* HMGA2 and p14Arf: Major roles in cellular senescence of fibroids and therapeutic implications // Anticancer Res. 2011. V. 31. P. 753–761.
68. *Borrmann L., Seebeck B., Rogalla P., Bullerdiek J.* Human HMGA2 promoter is coregulated by a polymorphic dinucleotide TC-repeat // Oncogene. 2003. V. 22. P. 756–760. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206073
69. *Matsuda T., Kambe N., Ly N.T.M. et al.* Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer syndrome in which skin biopsy enabled diagnosis // J. Dermatol. 2019. V. 46. P. e285–e287. https://doi.org/10.1111/1346-8138.14855
70. *Harrison W.J., Andrici J., Maclean F. et al.* Fumarate hydratase–deficient uterine leiomyomas occur in both the syndromic and sporadic settings // Am. J. Surg. Pathol. 2016. V. 40. P. 599–607. https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000573
71. *Lehtonen R., Kiuru M., Vanharanta S. et al.* Biallelic inactivation of fumarate hydratase FH occurs in nonsyndromic uterine leiomyomas but is rare in other tumors // Am. J. Pathol. 2004. V. 164. P. 17–22. https://doi.org/10.1016/S0002-94401063091-X
72. *Yang Q., Mas A., Diamond M.P., Al-Hendy A.* The mechanism and function of epigenetics in uterine leiomyoma development // Reprod. Sci. 2016. V. 23. P. 163–175. https://doi.org/10.1177/1933719115584449
73. *Laganà A.S., Vergara D., Favilli A. et al.* Epigenetic and genetic landscape of uterine leiomyomas: a current view over a common gynecological disease // Arch. Gynecol. Obstet. 2017. V. 296. P. 855–867. https://doi.org/10.1007/s00404-017-4515-5

74. *Maekawa R., Sato S., Yamagata Y. et al.* Genome-wide DNA methylation analysis reveals a potential mechanism for the pathogenesis and development of uterine leiomyomas // PLoS One. 2013. V. 8. P. e66632. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066632

75. *Sato S., Maekawa R., Yamagata Y. et al.* Identification of uterine leiomyoma-specific marker genes based on DNA methylation and their clinical application // Sci. Rep. 2016. V. 6. P. 30652. https://doi.org/10.1038/srep30652

76. *Sato S., Maekawa R., Tamura I. et al.* SATB2 and NGR1: Potential upstream regulatory factors in uterine leiomyomas // J. Assist. Reprod. Genet. 2019. V. 36. P. 2385–2397. https://doi.org/10.1007/s10815-019-01582-y

77. *Greathouse K.L., Bredfeldt T., Everitt J.I. et al.* Environmental estrogens differentially engage the histone methyltransferase EZH2 to increase risk of uterine tumorigenesis // Mol. Cancer Res. 2012. V. 10. P. 546–557. https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-11-0605

78. *Yin P., Lin Z., Reierstad S. et al.* Transcription factor KLF11 integrates progesterone receptor signaling and proliferation in uterine leiomyoma cells // Cancer Res. 2010. V. 70. P. 1722–1730. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2612

79. *Zheng Y., Tabbaa Z.M., Khan Z. et al.* Epigenetic regulation of uterine biology by transcription factor KLF11 via posttranslational histone deacetylation of cytochrome p450 metabolic enzymes // Endocrinology. 2014. V. 155. P. 4507–4520. https://doi.org/10.1210/en.2014-1139

80. *Navarro A., Yin P., Monsivais D. et al.* Genome-wide DNA methylation indicates silencing of tumor suppressor genes in uterine leiomyoma // PLoS One. 2012. V. 7. P. e33284. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033284

81. *Mello J.B.H., Barros-Filho M.C., Abreu F.B. et al.* MicroRNAs involved in the HMGA2 deregulation and its co-occurrence with MED12 mutation in uterine leiomyoma // MHR Basic Sci. Reprod. Med. 2018. V. 24. P. 556–563. https://doi.org/10.1093/molehr/gay037

82. *Lee J.H., Choi Y.S., Park J.H. et al.* MiR-150-5p may contribute to pathogenesis of human leiomyoma via regulation of the Akt/p27Kip1 pathway in vitro // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. P. 2684. https://doi.org/10.3390/ijms20112684

83. *Cardozo E.R., Foster R., Karmon A.E. et al.* MicroRNA 21a-5p overexpression impacts mediators of extracellular matrix formation in uterine leiomyoma // Reprod. Biol. Endocrinol. 2018. V. 16. P. 46. https://doi.org/10.1186/s12958-018-0364-8

84. *Wahane A., Waghmode A., Kapphahn A. et al.* Role of lipid-based and polymer-based non-viral vectors in nucleic acid delivery for next-generation gene therapy // Molecules. 2020. V. 25. № 12. P. 2866. https://doi.org/10.3390/molecules25122866

85. *High K.A., Roncarolo M.G.* Gene therapy // N. Engl. J. Med. 2019. V. 381. P. 455–464. https://doi.org/10.1056/NEJMra1706910

86. *Egorova A., Kiselev A.* Peptide modules for overcoming barriers of nucleic acids transport to cells // Curr. Top. Med. Chem. 2016. V. 16. P. 330–342. https://doi.org/10.2174/1568026615666150812120755

87. *Chen Y.H., Keiser M.S., Davidson B.L.* Viral vectors for gene transfer // Curr. Protoc. Mouse Biol. 2018. V. 8. P. 58. https://doi.org/10.1002/cpmo.58

88. *Howe S.R., Gottardis M.M., Everitt J.I. et al.* Rodent model of reproductive tract leiomyomata. Establishment and characterization of tumor-derived cell lines // Am. J. Pathol. 1995. V. 146. P. 1568–1579.

89. *Field K., Griffith J., Lang C.* Spontaneous reproductive tract leiomyomas in aged guinea-pigs // J. Comp. Pathol. 1989. V. 101. P. 287–294. https://doi.org/10.1016/0021-99758990038-8

90. *Porter K.B., Tsibris J.C.M., Nicosia S.V. et al.* Estrogen-induced guinea pig model for uterine leiomyomas: Do the ovaries protect? // Biol. Reprod. 1995. V. 52. P. 824–832. https://doi.org/10.1095/biolreprod52.4.824

91. *Machado S.A., Bahr J.M., Hales D.B. et al.* Validation of the aging hen gallus gallus domesticus as an animal model for uterine leiomyomas // Biol. Reprod. 2012. V. 87. P. 1–11. https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.101188

92. *Mozzachio K., Moore A.B., Kissling G.E., Dixon D.* Immunoexpression of steroid hormone receptors and proliferation markers in uterine leiomyoma and normal myometrial tissues from the miniature pig, *Sus scrofa* // Toxicol. Pathol. 2016. V. 44. P. 450–457. https://doi.org/10.1177/0192623315621414

93. *Cook J., Walker C.* The eker rat: Establishing a genetic paradigm linking renal cell carcinoma and uterine leiomyoma // Curr. Mol. Med. 2004. V. 4. P. 813–824. https://doi.org/10.2174/1566524043359656

94. *Hassan M.H., Eyzaguirre E., Arafa H.M.M. et al.* Memy I: A novel murine model for uterine leiomyoma using adenovirus-enhanced human fibroid explants in severe combined immune deficiency mice // Am. J. Obstet. Gynecol. 2008. V. 199. P. 156.e1–156.e8. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2008.02.010

95. *Tsuiji K., Takeda T., Li B. et al.* Establishment of a novel xenograft model for human uterine leiomyoma in immunodeficient mice // Tohoku J. Exp. Med. 2010. V. 222. P. 55–61. https://doi.org/10.1620/tjem.222.55

96. *Drosch M., Bullerdiek J., Zollner T.M. et al.* A novel mouse model that closely mimics human uterine leiomyomas // Fertil. Steril. 2013. V. 99. P. 927–935. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.11.032

97. *Kaneko-Tarui T., Commandeur A.E., Patterson A.L. et al.* Hyperplasia and fibrosis in mice with conditional loss of the TSC2 tumor suppressor in Müllerian duct mesenchyme-derived myometria // MHR Basic Sci. Reprod. Med. 2014. V. 20. P. 1126–1134. https://doi.org/10.1093/molehr/gau077

98. *Varghese B.V., Koohestani F., McWilliams M. et al.* Loss of the repressor REST in uterine fibroids promotes aberrant G protein-coupled receptor 10 expression and activates mammalian target of rapamycin pathway //

Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. P. 2187–2192. https://doi.org/10.1073/pnas.1215759110

99. *Tanwar P.S., Lee H.-J., Zhang L. et al.* Constitutive activation of beta-catenin in uterine stroma and smooth muscle leads to the development of mesenchymal tumors in mice // Biol. Reprod. 2009. V. 81. P. 545–552. https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.075648
100. *Al-Hendy A., Lee E.J., Wang H.Q., Copland J.A.* Gene therapy of uterine leiomyomas: Adenovirus-mediated expression of dominant negative estrogen receptor inhibits tumor growth in nude mice // Am. J. Obstet. Gynecol. 2004. V. 191. P. 1621–1631. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.04.022
101. *Abdelaziz M., Sherif L., ElKhiary M. et al.* Targeted adenoviral vector demonstrates enhanced efficacy for in vivo gene therapy of uterine leiomyoma // Reprod. Sci. 2016. V. 23. P. 464–474. https://doi.org/10.1177/1933719116630413
102. *Nair S., Curiel D.T., Rajaratnam V. et al.* Targeting adenoviral vectors for enhanced gene therapy of uterine leiomyomas // Hum. Reprod. 2016. V. 28. P. 2398–2406. https://doi.org/10.1093/humrep/det275
103. *Shalaby S.M., Khater M.K., Perucho A.M. et al.* Magnetic nanoparticles as a new approach to improve the efficacy of gene therapy against differentiated human uterine fibroid cells and tumor-initiating stem cells // Fertil. Steril. 2016. V. 105. P. 1638–1648. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.03.001
104. *Li S.D., Huang L.* Gene therapy progress and prospects: Non-viral gene therapy by systemic delivery // Gene Ther. 2006. V. 13. P. 1313–1319. https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302838
105. *Young L.S., Searle P.F., Onion D., Mautner V.* Viral gene therapy strategies: from basic science to clinical application // J. Pathol. 2006. V. 208. P. 299–318. https://doi.org/10.1002/path.1896
106. *Lazennec G., Alcorn J.L., Katzenellenbogen B.S.* Adenovirus-mediated delivery of a dominant negative estrogen receptor gene abrogates estrogen-stimulated gene expression and breast cancer cell proliferation // Mol. Endocrinol. 1999. V. 13. P. 969–980. https://doi.org/10.1210/mend.13.6.0318
107. *Hassan M.H., Salama S.A., Zhang D. et al.* Gene therapy targeting leiomyoma: adenovirus-mediated delivery of dominant-negative estrogen receptor gene shrinks uterine tumors in Eker rat model // Fertil. Steril. 2010. V. 93. P. 239–250. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.09.086
108. *Dixon D., He H., Haseman J.K.* Immunohistochemical localization of growth factors and their receptors in uterine leiomyomas and matched myometrium // Environ. Health Perspect. 2000. V. 108. P. 795–802. https://doi.org/10.2307/3454309
109. *Hassan M.H., Salama S.A., Arafa H.M.M. et al.* Adenovirus-mediated delivery of a dominant-negative estrogen receptor gene in uterine leiomyoma cells abrogates estrogen- and progesterone-regulated gene expression // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2007. V. 92. P. 3949–3957. https://doi.org/10.1210/jc.2007-0823
110. *Korompelis P., Piperi C., Adamopoulos C. et al.* Expression of vascular endothelial factor-A, gelatinases MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 in uterine leiomyomas // Clin. Chem. Lab. Med. 2015. V. 53. P. 1415–1424. https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0798
111. *Matthews T., Boehme R.* Antiviral activity and mechanism of action of ganciclovir // Clin. Infect. Dis. 1988. V. 10. P. 490–494. https://doi.org/10.1093/clinids/10.Supplement_3.S490
112. *Pope I.M., Poston G.J., Kinsella A.R.* The role of the bystander effect in suicide gene therapy // Eur. J. Cancer. 1997. V. 33. P. 1005–1016. https://doi.org/10.1016/S0959-80499600483-2
113. *Salama S.A., Kamel M., Christman G. et al.* Gene therapy of uterine leiomyoma: Adenovirus-mediated herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir treatment inhibits growth of human and rat leiomyoma cells in vitro and in a nude mouse model // Gynecol. Obstet. Invest. 2007. V. 63. P. 61–70. https://doi.org/10.1159/000095627
114. *Hassan M., Zhang D., Salama S. et al.* Towards fibroid gene therapy: Adenovirus-mediated delivery of herpes simplex virus 1 thymidine kinase gene/ganciclovir shrinks uterine leiomyoma in the Eker rat model // Gynecol. Obstet. Invest. 2009. V. 68. P. 19–32. https://doi.org/10.1159/000209675
115. *Niu H., Simari R.D., Zimmermann E.M. et al.* Nonviral vector-mediated thymidine kinase gene transfer and ganciclovir treatment in leiomyoma cells // Obstet. Gynecol. 1998. V. 91. P. 735–740. https://doi.org/10.1016/S0029-78449800014-3
116. *Егорова А.А., Штыкалова С.В., Маретина М.А. и др.* Cys-фланкированные катионные пептиды для доставки гена тимидинкиназы вируса простого герпеса в клетки с целью суицидной генной терапии миомы матки // Мол. биология. 2020. Т. 54. № 3. С. 497–511.
117. *Egorova A., Shtykalova S., Selutin A. et al.* Development of iRGD-modified peptide carriers for suicide gene therapy of uterine leiomyoma // Pharmaceutics. 2021. V. 13. № 2. P. 202. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020202
118. *Islam M.S., Protic O., Stortoni P. et al.* Complex networks of multiple factors in the pathogenesis of uterine leiomyoma // Fertil. Steril. 2013. V. 100. P. 178–193. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.03.007
119. *Mehine M., Mäkinen N., Heinonen H.-R. et al.* Genomics of uterine leiomyomas: Insights from high-throughput sequencing // Fertil. Steril. 2014. V. 102. P. 621–629. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.06.050
120. *Mas A., Cervelló I., Fernández-Álvarez A. et al.* Overexpression of the truncated form of high mobility group A proteins HMGA2 in human myometrial cells induces leiomyoma-like tissue formation // MHR Basic Sci. Reprod. Med. 2015. V. 21. P. 330–338. https://doi.org/10.1093/molehr/gau114
121. *Malik M., Norian J., McCarthy-Keith D. et al.* Why leiomyomas are called fibroids: The central role of extracellular matrix in symptomatic women // Semin. Reprod. Med. 2010. V. 28. P. 169–179. https://doi.org/10.1055/s-0030-1251475

122. *Di Tommaso S., Massari S., Malvasi A. et al.* Selective genetic analysis of myoma pseudocapsule and potential biological impact on uterine fibroid medical therapy // Expert. Opin. Ther. Targets. 2015. V. 19. P. 7–12. https://doi.org/10.1517/14728222.2014.975793

123. *Hassan M.H., Othman E.E., Hornung D., Al-Hendy A.* Gene therapy of benign gynecological diseases // Adv. Drug Deliv. Rev. 2009. V. 61. P. 822–835. https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.04.023

124. *Степанова Е.В.* Антиангиогенная терапия: новые возможности лечения злокачественных заболеваний // Практическая онкология. 2002. № 3. С. 246–252.

125. *Manyonda I., Sinthamoney E., Belli A.-M.* Controversies and challenges in the modern management of uterine fibroids // BJOG An. Int. J. Obstet. Gynaecol. 2004. V. 111. P. 95–102. https://doi.org/10.1046/j.1471-0528.2003.00002.x

126. *Hague S., Zhang L., Oehler M.K. et al.* Expression of the hypoxically regulated angiogenic factor adrenomedullin correlates with uterine leiomyoma vascular density // Clin. Cancer. Res. 2000. V. 6. P. 2808–2814.

127. *Gentry C.C., Okolo S.O., Fong L.F.W. Te. et al.* Quantification of vascular endothelial growth factor-A in leiomyomas and adjacent myometrium // Clin. Sci. 2001. V. 101. P. 691. https://doi.org/10.1042/CS20010096

128. *Tal R., Segars J.H.* The role of angiogenic factors in fibroid pathogenesis: potential implications for future therapy // Hum. Reprod. Update. 2014. V. 20. P. 194–216. https://doi.org/10.1093/humupd/dmt042

129. *Bar-Joseph H., Hikri E., Chuderland D. et al.* Pigment epithelium derived factor as a novel multi-target treatment for uterine fibroids // Reprod. Biomed. Online. 2020. V. 41. P. 335–342. https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.03.024

130. *Hwa S., Hoon J., Hyeon S. et al.* Local and systemic delivery of VEGF siRNA using polyelectrolyte complex micelles for effective treatment of cancer // J. Controlled Release. 2008. V. 129. P. 107–116. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.03.008

131. *Egorova A.A., Shtykalova S.V., Maretina M.A. et al.* Synergistic anti-angiogenic effects using peptide-based combinatorial delivery of siRNAs targeting VEGFA, VEGFR1, and endoglin genes // Pharmaceutics. 2019. V. 11. P. 261. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11060261

Molecular Genetic Basis and Perspectives of Uterine Leiomyoma Gene Therapy

S. V. Shtykalova[a, b], A. A. Egorova[a], M. A. Maretina[a], S. A. Freund[b], V. S. Baranov[a, b], and A. V. Kiselev[a, *]

[a]Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint-Petersburg, 199034 Russia

[b]Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, 199034 Russia

**e-mail: ankiselev@yahoo.co.uk*

Uterine leiomyoma (UL) is one of the most common gynecological diseases, which is a benign tumor that develops in the myometrium. The main reason for the UL development is hormonal imbalance; however, a significant role belongs to genetic factors that affect the manifestation and severity of the disease. Currently, the surgical approach is the most common in the treatment of UL, which often leads to reduced fertility. Gene therapy based on the delivery of genetic constructs to myomatous nodes may be a new approach to the treatment of UL. This review summarizes the data on the molecular mechanisms of UL pathogenesis and current gene therapy approaches to UL treatment.

Keywords: uterine leiomyoma, gene therapy, MED12, HMGA2, thymidine kinase, DNER, DNA delivery.