



Азизова М.Э.

Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан

Клетки иммунной системы как биомаркеры в диагностике аденомиоза

Конфликт интересов: не заявлен.

Подана: 03.06.2024

Принята: 26.08.2024

Контакты: mic_amu@mail.ru

Резюме

Введение. Несмотря на значительные достижения в изучении различных аспектов патогенеза, аденомиоз (АМ) продолжает оставаться одной из наиболее частых дискуссионных и актуальных медико-социальных проблем современного акушерства и гинекологии.

Цель. Изучить роль клеток иммунной системы как основных биомаркеров в диагностике аденомиоза у женщин репродуктивного возраста.

Материалы и методы. В ходе данного исследования было проведено комплексное клинично-лабораторное и инструментальное проспективное обследование 80 пациенток с аденомиозом в возрасте от 30 до 50 лет (средний возраст – $42,0 \pm 1,8$ года). Группу контроля составили 32 практически здоровые женщины репродуктивного возраста с регулярным овуляторным менструальным циклом и без гинекологических заболеваний в анамнезе. Нами рассмотрены ведущие механизмы вовлечения компонентов иммунитета в патогенез развития АМ. С этой целью проведен анализ применения клеток иммунной системы в качестве ведущих биомаркеров при диагностике АМ.

Результаты. Анализ иммунного статуса пациенток с АМ показал более выраженные изменения клеточного звена иммунитета: снижение числа NK-клеток, экспрессирующих альфа-цепь антигена CD8 (CD3–CD8+ CD45+), лимфоцитов и значения иммунорегуляторного индекса CD3+CD4+/CD3+CD8+ (Т-хелпер/ТЦЛ), увеличение T-NK (CD3+CD56+CD45+) и Т-лимфоцитов (CD3+CD19–). Изменения в цитокиновом статусе при АМ сопровождалась изменениями функциональной активности лимфоцитов, характеризующейся усилением продукции всех изучаемых цитокинов. После лечения наблюдалось снижение уровня этих цитокинов, однако их концентрация в этот период сохранялась повышенной. Следует отметить, что при АМ на всех стадиях заболевания содержание противовоспалительного IL-4 в сыворотке крови было повышенным. После лечения уровень данного цитокина снижался ($p < 0,05$).

Заключение. Установленные при АМ различия в спектре и уровне цитокинов, участвующих в инициации и развитии воспалительного процесса, позволяют обосновать различные подходы к комплексной иммунотропной и этиотропной терапии АМ, которые могут быть использованы в деятельности практических врачей.

Ключевые слова: аденомиоз, диагностика, цитокины, иммунная система, матка, дифференциальная диагностика

Mahbuba E. Azizova
Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

Immune System Cells as Biomarkers in the Diagnosis of Adenomyosis

Conflict of interest: nothing to declare.

Submitted: 03.06.2024
Accepted: 26.08.2024
Contacts: mic_amu@mail.ru

Abstract

Introduction. Despite significant achievements in the study of various aspects of pathogenesis, adenomyosis (AM) continues to be one of the most frequently discussed and pressing medical and social problems of modern obstetrics and gynecology.

Purpose. To study the role of immune system cells as the main biomarkers in the diagnosis of adenomyosis in women of reproductive age.

Materials and methods. In the course of studying this study, a comprehensive clinical, laboratory and instrumental prospective examination was carried out on 80 patients aged 30 to 50 years (average age – 42.0 ± 1.8 years) with adenomyosis. The control group consisted of 32 practically healthy women of reproductive age, with a regular ovulatory menstrual cycle and without a history of gynecological diseases. We have reviewed the leading mechanisms of involvement of immune components in the pathogenesis of AM development. For this purpose, an analysis of the use of immune system cells as leading biomarkers in the diagnosis of AM was carried out, which will make it possible to create a simple, accessible and at the same time informative diagnostic test system.

Results. Analysis of the immune status of patients with AM showed more pronounced changes in the cellular component of immunity: a decrease in the number of NK cells expressing the alpha chain of the CD8 antigen (CD3–CD8+ CD45+) lymphocytes and the value and immunoregulatory index $CD3+CD4+/CD3+CD8+$ (T-helper/TCL), an increase in T-NK (CD3+CD56+CD45+) and T-lymphocytes (CD3+CD19–). Changes in the cytokine status in AM were accompanied by changes in the functional activity of lymphocytes, characterized by increased production of all the cytokines studied. After treatment, a decrease in the level of these cytokines was observed, but their concentration remained elevated during this period. It should be noted that in AM at all stages of the disease the content of anti-inflammatory IL-4 in the blood serum was increased. After treatment, the level of this cytokine decreased ($p < 0.05$).

Conclusion. The differences in the spectrum and level of cytokines involved in the initiation and development of the inflammatory process established in AM allow us to substantiate various approaches to complex immunotropic and etiotropic therapy for AM, which can be used in the activities of practitioners.

Keywords: adenomyosis, diagnosis, cytokines, immune system, uterus, differential diagnosis

■ ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на значительные достижения в изучении различных аспектов патогенеза, аденомиоз (АМ) продолжает оставаться одной из наиболее частых дискуссионных и актуальных медико-социальных проблем современного акушерства и гинекологии [1, 2]. По частоте распространенности среди женщин репродуктивного возраста АМ занимает третье место после воспалительных заболеваний и миомы матки. В Европе это заболевание встречается почти у 16 млн женщин, в США заболевание зарегистрировано более чем у 5,5 млн женщин репродуктивного возраста [3, 4].

Полиморфизм клинических проявлений АМ и отсутствие доступных информативных и специфических диагностических маркеров создают значительные трудности в дифференциальной диагностике. В итоге на ранних стадиях заболевания это приводит к высокому уровню диагностических и тактических ошибок и, что особенно важно, оказывает влияние на развитие необратимых нарушений репродуктивной функции пациенток при несвоевременно начатом или необоснованном лечении. Наличие повышенного риска рецидивирования патологического процесса вызывает пристальное внимание специалистов различных профилей к данной проблеме, а также способствует проведению многочисленных экспериментальных и клинических исследований [5–7].

Влияние аденомиоза на фертильность женщин доподлинно неизвестно, поскольку его трудно диагностировать. Единственным методом достоверной диагностики аденомиоза является гистерэктомия и макроскопическое и микроскопическое исследование поражения. Тем не менее, у 15% женщин, у которых наблюдались явные симптомы аденомиоза, при макро- и микроскопическом исследовании удаленной матки не выявлялись очаги аденомиоза [8, 9].

Большинство проведенных исследований по применению иммунных механизмов для изучения патогенеза АМ посвящены генитальному эндометриозу. При этом «внутренний эндометриоз» зачастую представляют как самостоятельное заболевание, обозначая термином «аденомиоз» [10]. В проведенных исследованиях отмечено уменьшение активности натуральных киллеров и способности продукции интерферонов лейкоцитами крови, в перитонеальной жидкости и периферической крови зарегистрировано увеличение количества иммуносупрессорных и провоспалительных цитокинов, перитонеальных макрофагов [11, 12].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение роли клеток иммунной системы как основных биомаркеров в диагностике аденомиоза у женщин репродуктивного возраста.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе данного исследования было проведено комплексное клинико-лабораторное и инструментальное проспективное обследование 80 пациенток с аденомиозом в возрасте от 30 до 50 лет (средний возраст – $42,0 \pm 1,8$ года). Группу контроля составили 32 практически здоровые женщины репродуктивного возраста с регулярным овуляторным менструальным циклом и без гинекологических заболеваний в анамнезе.

Критерии включения в исследование: пациентки с диагнозом «аденомиоз»; возраст пациентов от 30 до 50 лет; получение письменного согласия пациента на участие в обследованиях.

Критерии исключения из исследования: обнаружение злокачественного патологического процесса в органах репродуктивной системы или другой локализации; наличие гормонсинтезирующих опухолей яичников; беременность и лактация; пациентки моложе 30 лет и старше 50 лет; отказ от участия в исследовании.

Клиническая характеристика обследованных женщин основывалась на изучении жалоб, акушерско-гинекологического и соматического анамнеза. У всех пациенток были изучены данные общего и гинекологического анамнеза, особенности менструальной функции. Особое внимание уделяли перенесенным воспалительным заболеваниям половых органов, самопроизвольным абортam в анамнезе, преждевременным беременностям, антенатальной гибели плода, течению беременностей, а также их результатам. Количественное определение основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови выполняли с помощью проточной цитометрии. Анализ экспрессии маркеров лимфоцитов и учет результатов проведен на проточном цитофлуориметре DAKO Galaxy (Дания) с помощью программного обеспечения Flow Max. Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью анализа результатов по программам электронных таблиц Microsoft Excel, сформированных в соответствии с задачами проводимых исследований.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Нами рассмотрены ведущие механизмы вовлечения компонентов иммунитета в патогенез развития АМ. С этой целью проведен анализ применения клеток иммунной системы в качестве ведущих биомаркеров при диагностике АМ, что позволит создать простую, доступную и в то же время информативную диагностическую тест-систему. Распределение гинекологической заболеваемости по нозологиям у пациенток с АМ представлено на рис. 1.

Приведенные данные показывают, что у пациенток с АМ наиболее часто встречались патология шейки матки (42 женщины, $52,5 \pm 5,6\%$), миома матки (38 женщин, $47,5 \pm 5,6\%$) и ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза (35 женщин, $43,8 \pm 5,5\%$). Эти заболевания имели место практически у каждой второй пациентки. Несколько реже отмечался наружный генитальный эндометриоз – у $32,5 \pm 5,2\%$ пациенток (26 женщин). Также у женщин отмечался бактериальный вагиноз ($27,5 \pm 5,0\%$, 22 женщины) и вагинит ($31,3 \pm 5,2\%$, 25 женщин). Несколько реже – опухолевидные образования (кисты) яичников ($17,5 \pm 4,3\%$, 14 женщин) и мочеполовые инфекции ($15,0 \pm 3,9\%$, 12 женщин). В контрольной группе отмечались следующие заболевания: ВЗОМТ – $9,4 \pm 5,3\%$ (3 женщины), опухолевидные образования (кисты) яичников – $6,25\%$ (2 женщины), мочеполовые инфекции – $9,4 \pm 5,3\%$ (3 женщины). Таким образом, гинекологические заболевания выявлены у всех пациенток с аденомиозом (100%) и у 8 пациенток группы сравнения ($25,0 \pm 7,7\%$). В анамнезе среди перенесенных оперативных вмешательств у каждой десятой пациентки имела место цистэктомия, реже – тубэктомия (рис. 2).

У женщин с АМ цистэктомия была произведена в $16,3 \pm 4,1\%$ случаев (13 женщин), а тубэктомия – в $7,5 \pm 3,0\%$ (6 женщин). При сравнительном анализе не выявлено отчетливой взаимосвязи гинекологических и экстрагенитальных заболеваний,

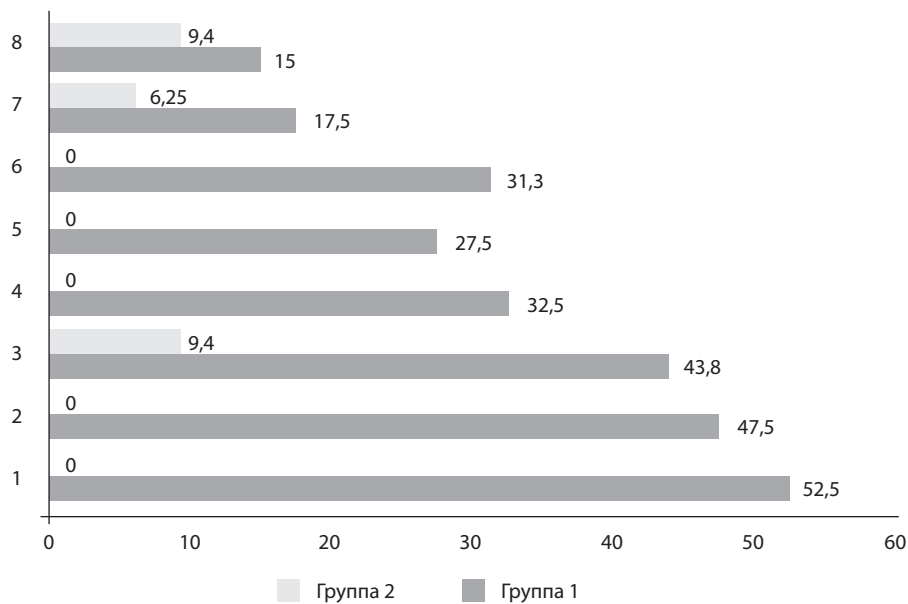


Рис. 1. Гинекологические заболевания в анамнезе у пациенток с аденомиозом

Примечания: 1 – патология шейки матки; 2 – миома матки; 3 – ВЗОМТ; 4 – наружный генитальный эндометриоз; 5 – бактериальный вагиноз; 6 – вагинит; 7 – опухолевидные образования (кисты) яичников; 8 – мочеполовые инфекции.

Fig. 1. History of gynecological diseases in patients with adenomyosis

Notes: 1 – pathology of the cervix; 2 – uterine fibroids; 3 – IDPO; 4 – external genital endometriosis; 5 – bacterial vaginosis; 6 – vaginitis; 7 – tumor-like formations (cysts) of the ovaries; 8 – genitourinary infections.

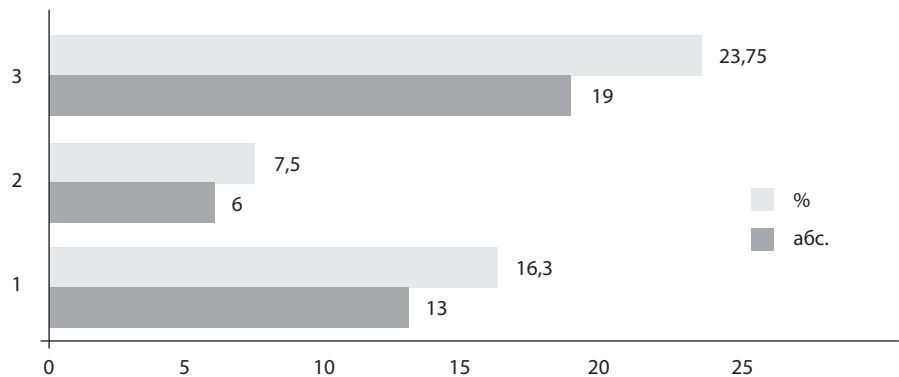


Рис. 2. Перенесенные оперативные вмешательства в анамнезе у пациенток с аденомиозом

Примечания: 1 – цистэктомия; 2 – тубэктомия; 3 – всего.

Fig. 2. History of surgical interventions in patients with adenomyosis

Notes: 1 – cystectomy; 2 – tubectomy; 3 – total.



наблюдаемых у пациенток с аденомиозом. Сопутствующая соматическая патология имела у всех обследованных женщин. Однако важно заметить, что у всех женщин имелось сочетание нескольких сопутствующих заболеваний. Также было отмечено, что у большинства пациенток диагностировались 2 и более различных заболевания, в основном сочетались дисгормональные патологии. В ходе исследования мы выявили повышение частоты инфекционных заболеваний у обследованных женщин, что может свидетельствовать о высоком инфекционном индексе, характерном для данных пациенток. Однако статистически значимых различий в частоте инфекционных заболеваний выявлено не было.

Анализ изучения содержания исследуемых цитокинов в периферической крови пациенток с АМ показал следующее. У пациенток с АМ содержание цитокинов в сыворотке крови характеризовалось достоверным ($p<0,01$) повышением средних уровней IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, Fas-L и TNF- α по сравнению с референсными значениями (табл. 1).

В сыворотке крови пациенток с АМ до лечения был отмечен значительный ($p<0,05$) рост уровней IFN- γ ($134,2\pm8,20$ пкг/мл), после лечения концентрация у них по-прежнему сохранялась на уровне высоких значений ($40,3\pm0,48$ пкг/мл). Содержание IL-1 β в течение всего заболевания не изменялось и было выше референсных значений. Значение показателей TNF- α в течение всего периода наблюдения было в пределах референсных интервалов. Уровень IL-2, IL-4 и IL-6 при АМ на всех стадиях заболевания превышал таковой референсных значений и в динамике заболевания существенно не изменялся. После лечения наблюдалось снижение уровня этих цитокинов, однако их концентрация в этот период сохранялась повышенной. Следует отметить, что при АМ на всех стадиях заболевания содержание противовоспалительного IL-4 в сыворотке крови было повышенным. После лечения уровень данного цитокина снижался ($p<0,05$). Имеющиеся в научной литературе данные об изменениях субпопуляций Т-лимфоцитов у пациенток с АМ носят противоречивый характер. При АМ установлена корреляционная связь между уровнем продукции TNF- α и числом CD45+ ($r=0,64$, $p=0,023$), что наряду с ростом содержания IFN- γ свидетельствует о развитии Th1-ответа. Существенных изменений в содержании основных субпопуляций лимфоцитов крови у пациенток выявлено не было (табл. 2).

Таблица 1
Уровень содержания цитокинов в сыворотке крови пациенток с аденомиозом, пкг/мл
Table 1
Level of cytokines in the blood serum of patients with adenomyosis, pkg/ml

Показатели	До лечения		После лечения		referens	t
	M $\pm$ m	min-max	M $\pm$ m	min-max		
IL-1 β , пкг/мл	14,5 $\pm$ 0,13	12,8–16,2	9,0 $\pm$ 0,11	7,6–10,6	0–11	32,5
IL-2, пкг/мл	60,5 $\pm$ 1,23	45,0–77,6	83,9 $\pm$ 0,75	74,4–96,2	0–12	17,2
IL-4, пкг/мл	3,5 $\pm$ 0,02	3,1–3,9	2,87 $\pm$ 0,012	2,6–3,1	0–0,61	23,8
IL-6, пкг/мл	12,1 $\pm$ 0,18	9,8–14,4	7,7 $\pm$ 0,17	5,6–10,2	0–7	20,1
IFN- γ , пкг/мл	134,2 $\pm$ 8,20	15,9–254,3	40,3 $\pm$ 0,48	34,6–48,6	0–0	11,5
Fas-L	0,49 $\pm$ 0,01	0,35–0,64	0,27 $\pm$ 0,01	0,17–0,43	0–0	15,9
TNF- α , пкг/мл	2,31 $\pm$ 0,039	1,7–2,9	1,70 $\pm$ 0,072	0,8–2,5	0–0,03	7,5

Таблица 2
Относительное содержание основных субпопуляций лимфоцитов в сыворотке крови пациенток с аденомиозом, М±m
Table 2
Relative content of the main subpopulations of lymphocytes in the blood serum of patients with adenomyosis, M±m

Показатели	До лечения		После лечения		Референсные значения
	M±m	min-max	M±m	min-max	
Т-лимфоциты (CD3+CD19-) ×10 ⁹ /л	0,85±0,018	0,6–1,12	0,78±0,016	0,6–1,10	0,80–2,20
Т-хелпер/индуктор (CD3+CD4+CD45+) ×10 ⁹ /л	0,45±0,009	0,32–0,57	0,41±0,09	0,32–0,57	0,50–1,20
Т-цитотоксический лимфоцит (Т-ЦТЛ) (CD3+CD8+CD45+) ×10 ⁹ /л	0,30±0,004	0,25–0,37	0,28±0,004	0,25–0,36	0,30–0,90
Т-NK (CD3+CD56+CD45+) ×10 ⁹ /л	0,08±0,001	0,07–0,09	0,06±0,08	0,07–0,09	0,03–0,25
Индекс CD3+CD4+/CD3+CD8+ (Т-хелпер/ТЦЛ)	1,04±0,019	0,76–1,36	1,03±0,019	0,8–1,31	1,2–2,5
NK (CD3–CD56+CD45+) 10 ⁹ /л	0,19±0,001	0,17–0,21	0,16±0,001	0,19	0,12–0,40
NK-клетки, экспрессирующие альфа-цепь антигена CD8 (CD3–CD8+ CD45+) ×10 ⁹ /л	0,02±0,001	0,0–0,03	0,01±0,001	0,01–0,03	0,06–0,28
В-лимфоциты (CD19+CD3-) ×10 ⁹ /л	0,36±0,004	0,3–0,43	0,28±0,003	0,30–0,40	0,50

При АМ по сравнению с референсными значениями происходило достоверное увеличение всех показателей Т-хелпера/индуктора (CD3+CD4+CD45+) и иммунорегуляторного индекса CD3+CD4+/CD3+CD8+ (Т-хелпер/ТЦЛ).

Число NK-клеток, экспрессирующих альфа-цепь антигена CD8 (CD3–CD8+ CD45+), клеток крови с высокой пролиферативной активностью, экспрессирующих CD8+ рецептор, и CD45+ лимфоцитов, напротив, снижалось, что является нормальной защитной реакцией иммунной системы организма на развитие иммунного воспаления, приводящего в итоге к ослаблению иммунного контроля.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на результаты, достигнутые в изучении иммунологических клеточных биомаркеров для неинвазивной диагностики эндометриоза, ни один из них не обладает достаточной точностью и информативностью. Решение данного вопроса состоит в комплексном анализе уже имеющихся иммунологических методов, а также внедрении новых инновационных подходов и технических решений для разработки современных неинвазивных методов диагностики. Стратегия проведения научных исследований для улучшения качества диагностики АМ состоит в детальном изучении роли клеточных компонентов иммунной системы в развитии заболевания и определении молекулярно-клеточных механизмов регуляции иммунного ответа на формирование эндометриоидных гетеротопий.

Вопросам иммунологических изменений при аденомиозе посвящены работы, которые затрагивают различные аспекты проблемы. Так, в основном присутствуют данные об изменениях популяций лимфоцитов и макрофагов при аденомиозе по сравнению с контролем [5]. Эти наблюдения частично согласуются с нашими результатами и подчеркивают вклад иммунной системы в патогенез заболевания.

В одном из систематических обзоров, охватывающем в общей сложности 42 статьи, на основании изучения 31 цитокина и других маркеров было обнаружено, что провоспалительные цитокины (интерлейкин IL-6, IL-1 β , интерферон- α (IFN- α), TNF- α , IFN- γ), а также противовоспалительные или регуляторные медиаторы (IL-10, трансформирующий фактор роста β) повышены у женщин с аденомиозом по сравнению со здоровыми женщинами [5, 13–15]. Следует отметить, что и в наших исследованиях показатели всех цитокинов (за исключением TNF- α) отличались от референсных значений, причем они продемонстрировали различную динамику в ходе лечения.

Более того, в 3 исследованиях сообщалось, что у женщин, страдающих аденомиозом, иммунитет прямо или косвенно связан с абберациями половых стероидных гормонов (в частности, изменениями в рецепторе прогестерона в эутопическом и эктопическом эндометрии), и с эпителиально-мезенхимальным переходом в четырех исследованиях [16–18]. В нашей работе подобные взаимосвязи не изучались, что может выступать в роли определенного ограничения нашего исследования.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ иммунного статуса пациенток с АМ показал более выраженные изменения клеточного звена иммунитета: снижение числа лимфоцитов, NK-клеток, экспрессирующих альфа-цепь антигена CD8 (CD3–CD8+ CD45+), и значения иммунорегуляторного индекса CD3+CD4+/CD3+CD8+ (Т-хелпер/ТЦЛ); увеличение Т-NK (CD3+CD56+CD45+) и Т-лимфоцитов (CD3+CD19–). Изменения в цитокиновом статусе при АМ сопровождалась изменениями функциональной активности лимфоцитов, характеризующейся усилением продукции всех изучаемых цитокинов. Установленные при АМ различия в спектре и уровне цитокинов, участвующих в инициации и развитии воспалительного процесса, позволяют обосновать различные подходы к комплексной иммунотропной и этиотропной терапии АМ, которые могут быть использованы в деятельности практических врачей.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Abbott J.A. Adenomyosis and Abnormal Uterine Bleeding (AUB-A)-Pathogenesis, diagnosis, and management. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017;40:68–81.
- Atabekoglu C., Sukur Y., Kalafat E. Adenomyosis is significantly associated with recurrent miscarriage. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.* 2019;54(1):198–199.
- Ajao M.O., Oliveira Brito L.G., Wang K.C. Persistence of Symptoms After Total Supracervical Hysterectomy in Women with Histopathological Diagnosis of Adenomyosis. *J Minim Invasive Gynecol.* 2019;26(5):891–896.
- Artymuk N., Zotova O., Gulyaeva L. Adenomyosis: genetics of estrogen metabolism. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2019;37(02):37.
- Bourdon M., Santulli P., Jeljeli M. Immunological changes associated with adenomyosis: a systematic review. *Human Reproduction Update.* 2021;27(Issue 1):108–129. Available at: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa038>
- Bulun S.E., Yildiz S., Adli M. Adenomyosis pathogenesis: Insights from next-generation sequencing. *Hum. Reprod. Update.* 2021;27:1086–1097.
- Dueholm M. Minimally invasive treatment of adenomyosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;51:119–37.
- Harmsen M.J., Wong C.F.C., Mijatovic V. Role of angiogenesis in adenomyosis-associated abnormal uterine bleeding and subfertility: a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2019;25(05):647–671.
- Zakharenko N.F., Kovalenko N.V., Manoliak I.P. Clinical case report: conservative treatment of nodular adenomyosis. *Womens Health.* 2019;8(2):150–152.
- Magalov I., Poluxova A., Aliyeva A. Laparoscopic approach for surgical correction of obstetric complications in postpartum. *Abstracts of the 26th Annual Congress of the European Society for Gynaecological Endoscopy (ESGE) 18th – 21st October 2017, Turkey, p. 26–39.*
- Mahmoud A., Khalifa M.D. Adenomyosis as a confounder to accurate endometrial cancer staging. *Semin Ultrasound CT MRI.* 2019;40(8):358–363.
- Wang Y.Y., Duan H., Wang S. Upregulated Talin1 synergistically boosts β -estradiol-induced proliferation and pro-angiogenesis of eutopic and ectopic endometrial stromal cells in adenomyosis. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2021;19:70.
- Gui T., Chen C., Zhang Z., Tang W., Qian R., Ma X., Cao P., Wan G. The disturbance of TH17-Treg cell balance in adenomyosis. *Fertil Steril.* 2014;101:506–514.

14. Fan Y., Liu Y., Chen H., Chen W., Wang L. Serum level concentrations of pro-inflammatory cytokines in patients with adenomyosis. *Biomed Res.* 2017;28:1809–1813.
15. Bourdon M., Santulli P., Chouzenoux S., Maignien C., Bailly K., Andrieu M., Millischer A.-E., Doridot L., Marcellin L., Batteux F. The disease phenotype of adenomyosis-affected women correlates with specific serum cytokine profiles. *Reprod Sci.* 2018;26:198–206.
16. Vannuccini S., Tosti C., Carmona F., Huang S.J., Chapron C., Guo S.-W., Petraglia F. Pathogenesis of adenomyosis: an update on molecular mechanisms. *Reprod Biomed Online.* 2017;35:592–601.
17. Khan K.N., Kitajima M., Hiraki K., Fujishita A., Nakashima M., Masuzaki H. Involvement of hepatocyte growth factor-induced epithelial-mesenchymal transition in human adenomyosis. *Biol Reprod.* 2015;92:35.
18. Qi S., Zhao X., Li M., Zhang X., Lu Z., Yang C., Zhang C., Zhang H., Zhang N. Aberrant expression of Notch1/numb/snail signaling, an epithelial mesenchymal transition related pathway, in adenomyosis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015;13:96.