На правах рукописи

МАЛЫШКИНА Дарья Андреевна

УЧАСТИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЛЕЙОМИОМЫ МАТКИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2024 г.

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор **Сотникова Наталья Юрьевна**

Официальные оппоненты:
Доброхотова Юлия Эдуардовна – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, заведующая кафедрой;

Линде Виктор Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии, профессор кафедры.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «_____» _____2024 г., в 14.00 ч. на заседании диссертационного совета 72.1.010.01 при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии имени академика В.И. Краснопольского» Министерства здравоохранения Московской области (101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (http://moniiag.ru) Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии имени академика В.И. Краснопольского» Министерства здравоохранения Московской области (101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а).

Автореферат разослан “_____” _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор Щукина Наталья Алексеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Лейомиома матки (ЛММ) является одним из наиболее распространенных доброкачественных новообразований, развивающихся в миометрии в результате гипертрофии и пролиферации элементов мышечной и соединительной ткани (Л.В. Адамян и соавт., 2020, E.A. Stewart et al., 2016). В современных условиях отмечено увеличение количества женщин детородного возраста, страдающих данным заболеванием, что негативно сказывается на возможности реализации их репродуктивного потенциала (Ю.Э.Доброхотова и соавт., 2023). Вопросы этиологии, патогенеза, лечения миомы матки остаются до конца нерешенными, что делает данную проблему весьма актуальной.

Доказано, что рост миоматозного узла может быть обусловлен как усиленной клеточной пролиферацией, так и вторичными изменениями и активным накоплением компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ) (С.Н.Буянова и соавт., 2008, В.Ф.Беженарь, В.А.Линде, 2023). Пролиферирующая лейомиома часто сопровождается гиперпластическими процессами в эндометрии, новообразованиями в яичниках, а также более склонна к рецидивированию (Н.М.Тоноян и соавт., 2022). В связи с этим существует необходимость в разработке малоинвазивных способов, позволяющих дифференцировать характер роста опухоли для выбора наиболее эффективной тактики лечения пациенток и предотвращения радикального оперативного вмешательства.

Традиционно важную роль в патогенезе лейомиомы матки отводят стероидным гормонам, различным факторам роста, соматическим мутациям, пролиферативной активности лейомиоцитов, апоптозу (И.Ф.Козаченко и соавт., 2020, Е.А.Штох и соавт., 2015, L. Manta et al., 2016) и хроническому воспалению (Н.М.Тоноян и соавт., 2020, Z.Q. Liu et al., 2019). Исследования последних лет показали непосредственное участие клеток иммунной системы в возникновении и росте данной доброкачественной опухоли (В.Ф.Беженарь, В.А.Линде, 2023, Н.Ю.Сотникова и соавт., 2010, F. Gloria-Bottini et al., 2015), в т.ч. особую роль врожденного иммунного ответа в эндометрии (Ю.С.Анциферова и соавт., 2017). Менее изучены к настоящему времени особенности функционирования естественных киллеров (ЕК) эндометрия при лейомиоме матки. В то же время, ЕК клетки играют ведущую роль в противоопухолевом иммунном надзоре, а уровень их цитотоксичности в отношении измененных клеток организма во многом определяется репертуаром мембранных рецепторов (T. Pazina et al., 2017), микроокружением и находящимися в нем цитокинами (O. Kourko et al., 2019, G.M. Konjević et al., 2019). Однако роль этих факторов при

лейомиоме матки до настоящего времени остается практически неизученной.

Степень разработанности темы исследования

Существует множество работ, посвященных изучению факторов риска, этиологии, патогенеза, диагностике и лечению лейомиомы матки. Тем не менее, в настоящее время нет единого мнения о механизмах роста миоматозного узла, а также продолжается поиск неинвазивных подходов к диагностике характера роста лейомиомы матки. Работ по изучению особенностей экспрессии рецепторов естественной цитотоксичности (NKp44, NKp46) CD56+ естественными киллерами, инфильтрирующими эндометрий, расположенный в проекции доминирующего миоматозного узла, у женщин с лейомиомой матки, ранее не проводилось. Также остаются практически неизученными особенности содержания цитокинов, регулирующих активность ЕК клеток, (ИЛ-18, ИЛ-27, ИЛ-35) в периферической крови, в эндометрии и в самом миоматозном узле у женщин репродуктивного возраста, не изучена возможность использования данных показателей для диагностики клинико-морфологического варианта ЛММ.

Цель исследования: на основании изучения экспрессии рецепторов цитотоксичности естественными киллерами эндометрия и содержания цитокинов, регулирующих активность естественных киллеров на системном и локальном уровнях, уточнить патогенез лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста и разработать новые критерии диагностики пролиферативной активности опухоли.

Задачи исследования:

1. Уточнить клиническую характеристику пациенток с лейомиомой матки, на основании чего выявить клинико-анамнестические особенности и факторы риска развития данной патологии у женщин репродуктивного возраста в современных условиях.
2. Установить особенности экспрессии рецепторов естественной цитотоксичности (NKp44, NKp46) CD56+ естественными киллерами, инфильтрирующими эндометрий, расположенный в проекции доминирующего миоматозного узла, у женщин с лейомиомой матки в зависимости от размера узла и наличия пролиферации.
3. Изучить особенности содержания цитокинов (ИЛ-18, ИЛ-27, ИЛ-35), регулирующих активность ЕК, в периферической крови, эндометрии, расположенном в проекции доминирующего миоматозного узла, и в миоматозном узле у женщин с лейомиомой матки в зависимости от размера узла, наличия пролиферации и вторичных изменений.
4. Разработать способ оценки пролиферативной активности клеток лейомиомы матки с учетом характера функционирования эндометриальных CD56+ ЕК, усовершенствовать алгоритм диагностики данного заболевания у женщин репродуктивного возраста.

Научная новизна исследования

Впервые выявлено, что уровень активации эндометриальных естественных киллеров у женщин репродуктивного возраста с ЛММ различается в зависимости от наличия пролиферативных процессов в опухоли. При отсутствии пролиферации в миоматозных узлах наблюдается увеличение количества ЕК, экспрессирующих рецепторы естественной цитотоксичности (NCR).

Установлено, что наличие пролиферации в миоматозном узле ассоциируется с низким уровнем эндометриальных ЕК с фенотипами NKp44+ и NKp44+NKp46+. Большой размер миоматозных узлов и наличие пролиферативной активности ассоциируется с низким уровнем NKp44+ и NKp44+NKp46+ ЕК клеток в эндометрии, расположенном в проекции миоматозного узла.

Впервые установлена значимость оценки содержания NKp44+ и NKp46+ лимфоцитов в CD56+ гейте для диагностики пролиферативной активности ЛММ (Патент на изобретение № 2700003 от 12.09.2019 г.).

Впервые выявлены особенности содержания цитокинов, регулирующих активность ЕК (ИЛ-18, ИЛ-27, ИЛ-35) у женщин с лейомиомой матки на системном и локальном уровнях. В периферической крови отмечается снижение уровня ИЛ-18 и повышение ИЛ-27, имеет место повышение содержания ИЛ-27 в эндометрии, расположенном в проекции миоматозного узла, а при вторичных изменениях в узле – увеличение уровня ИЛ-35, а также обнаружено снижение уровня всех цитокинов в миоматозном узле.

Установлено, что наличие у пациенток пролиферации в миоматозном узле сочетается с более высоким, чем у женщин контрольной группы, сывороточным уровнем ИЛ-27. Более высокое сывороточное содержание ИЛ-18 и ИЛ-27 у женщин с миомой матки ассоциируется с большими пролиферирующими миоматозными узлами. В миоматозном узле, независимо от размера и наличия пролиферации, отмечается низкий уровень ИЛ-35 по сравнению с эндометрием.

Теоретическая и практическая значимость научного исследования

Уточнены современные факторы риска развития лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста, а также выявлены клинико-анамнестические особенности пациенток с различными вариантами ЛММ.

Уточнены механизмы патогенеза ЛММ с учетом пролиферативных процессов в миоматозном узле и экспрессии рецепторов естественной цитотоксичности ЕК эндометрия, расположенного в зоне проекции доминирующего миоматозного узла.

Показана взаимосвязь цитокинов, регулирующих активность ЕК (ИЛ-18, ИЛ-27, ИЛ-35), в сыворотке периферической крови и эндометрии

у женщин с ЛММ больших размеров и наличием пролиферации в миоматозном узле.

Для использования в клинической практике предлагается новый способ диагностики пролиферативной активности клеток лейомиомы матки (Патент на изобретение № 2700003 от 12.09.2019 г.). Предложены дополнения к алгоритму диагностики данного заболевания у женщин репродуктивного возраста.

Методология и методы исследования

Для выполнения диссертационной работы было проведено обследование когортным методом женщин с лейомиомой матки, прошедших оперативное лечение в гинекологической клинике ФГБУ «Ивановский НИИ М и Д им. В. Н. Городкова» Минздрава России. Нами были использованы клинические, морфологические и иммунологические методы обследования пациенток. Все статистические расчеты производились с помощью пакета современных лицензионных компьютерных программ.

Положения, выносимые на защиту

1. Степень активности естественных киллеров эндометрия является одним из звеньев патогенеза лейомиомы матки и она взаимосвязана с пролиферативными процессами в миоматозном узле. Низкий уровень ЕК, экспрессирующих рецепторы естественной цитотоксичности, в эндометрии сочетается с высокой пролиферативной активностью в миоматозных узлах больших размеров.
2. Оценка содержания NKp44+NKp46+ CD56+ ЕК в эндометрии, расположенном в проекции доминирующего миоматозного узла, может быть использована для определения пролиферативной активности опухоли еще до проведения оперативного лечения.
3. Основные иммунорегуляторные события у женщин с ЛММ происходят на уровне эндометрия, расположенного в проекции доминирующего миоматозного узла. При этом основными цитокинами, регулирующими цитотоксическую активность естественных киллеров эндометрия и наличие пролиферации в миоматозном узле, являются ИЛ-27 и ИЛ-18.

Внедрение результатов работы в практику

Предложенный способ диагностики пролиферативной активности лейомиомы матки прошел предрегистрационные испытания в гинекологической клинике ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России. Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России.

Личное участие автора

Диссертант самостоятельно проводил набор женщин в группы, их клиническое обследование и лечение на хирургическом отделении (ведение документации, ассистирование во время операций, послеоперационное наблюдение). Кроме того, диссертант принимал участие в проведении иммунологических методов исследования биологического материала, полученного в ходе оперативного лечения. Автор обрабатывал полученных данные с помощью статических лицензионных программ, анализировал и описывал полученные результаты, им были сформулированы научная новизна, основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации, которые были изложены в тексте настоящей диссертации.

Апробация работы

Основные результаты исследований докладывались и обсуждались на XVI международном конгрессе по репродуктивной медицине (Моска, 2022), Научно-практической конференции молодых ученых с конкурсом на лучший научный доклад (Иваново, 2022), XVII областном фестивале «Молодые ученые – развитию Ивановской области», VIII Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (Иваново, 2022), VI Научно-практической интернет-конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы здоровья матери и ребенка. Уроки пандемии COVID-19» (Иваново, 2022), XV и XVI Региональном научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Санкт-Петербург, 2022, 2023), XVII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2023), IX Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (Иваново, 2023), XXIV Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 2023), IV Всероссийском научно-практическом конгрессе с международным участием «Инновации в акушерстве, гинекологии и репродуктологии» (Санкт-Петербург, 2023).

Публикации

По теме диссертации опубликованы 16 печатных работ, из них 6 – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикаций научных результатов диссертаций.

Объём и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на русском языке на 172 страницах печатного текста, состоит из введения, глав «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Клиническая характеристика женщин основной группы», «Результаты собственных исследований», обсуждения полученных данных, выводов и практических рекомендаций.

Список литературы состоит из 339 источников, в том числе 51 российских и 288 зарубежных. Работа иллюстрирована 52 таблицами и 5 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Диссертационная работа проводилась на базе ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава России (директор – доктор медицинских наук, профессор А. И. Малышкина). На базе эндоскопического отделениия гинекологической клиники были обследованы и прооперированы 82 женщины репродуктивного возраста с симптомной леймиомой матки (код по МКБ-10 D25.1), которые составили основную группу (зав. отделением – кандидат медицинских наук, заслуженный врач РФ В.Н. Романов). Иммунологические исследования проводились в лаборатории клинической иммунологии (зав. лабораторией – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ Н.Ю. Сотникова), гистологические исследования проводились в патологоанатомическом отделении (заведующий – кандидат медицинских наук С.А. Шарыгин).

Все женщины, участвующие в исследовании, подписали добровольное информированное согласие. Исследования одобрены локальным этическим комитетом (выписка из протокола №2 заседания локального этического комитета ФГБУ «Ив НИИ М и Д В.Н.Городкова» Минздрава России от 01.11.2021).

Для сравнения клинико-иммунологических характеристик женщины основной группы были разделены на 2 подгруппы в зависимости от наличия маркера пролиферации Ki67 в ткани доминирующего миоматозного узла: женщины с миоматозными узлами с наличием пролиферации - Ki67+ (43 пациентки) и женщины с миоматозными узлами без пролиферации - Ki67- (39 пациенток).

Также женщины основной группы были разделены в зависимости от наличия вторичных изменений в миоматозном узле (гиалиноза, отека, некроза) по данным гистологического исследования операционного материала на 2 подгруппы: с вторичными изменениями (48 женщин), без вторичных изменений (34 женщины).

Для более детального анализа результатов иммунологических исследований мы разделили женщин основной группы по размеру доминирующего миоматозного узла на 2 подгруппы: подгруппа женщин с миомой матки больших размеров (с размером миоматозного узла свыше 5 см) - 25 женщин, и подгруппа женщин с миомой матки малых и средних размеров (с размером узла, не превышающим 5 см) - 26 женщин.

Контрольную группу составили 47 женщин репродуктивного возраста без пролиферативных гинекологических заболеваний, которые обратились с целью прегравидарной подготовки (пациентки из супружеских пар с «мужским» фактором бесплодия) или удаления

внутриматочного контрацептива. Всего в ходе диссертационной работы под наблюдением находились 129 женщин репродуктивного возраста.

Критериями включения пациенток в исследование являлись: возраст 18–49 лет (репродуктивный возраст); симптомная лейомиома матки 2, 3, 4, 5 типов по классификации FIGO 2018 г. при наличии показаний к оперативному лечению. Критерии невключения: возраст женщины менее 18 и более 49 лет; генитальный эндометриоз; изолированные субмукозные и субсерозные миоматозные узлы (0, 1, 6, 7 типов по классификации FIGO 2018 г.); проведение гормонального лечения менее, чем за 6 месяцев до оперативного вмешательства; инфекционно-воспалительные заболевания в стадии обострения на момент лечения; выраженные аллергические реакции; первичное бесплодие; тяжелая соматическая патология.

В качестве материала исследования у пациенток основной и контрольной групп послужили периферическая венозная кровь, биоптаты эндометрия и фрагменты миоматозных узлов, полученные у женщин основной группы во время планового оперативного вмешательства в первую фазу менструального цикла.

Пациентки обследованы согласно приказу Минздрава России от 20.10.2020 № 1130н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология", а также в соответствии с актуальными Клиническими рекомендациями 2020 г. После плановой операции было выполнено гистологическое исследование биоптатов эндометрия и фрагментов миоматозных узлов, а также был выполнен подсчет митозов в тканях миоматозных узлов в поле зрения цитометрическим методом.

Помимо стандартных общеклинических исследований применялись специальные иммунологические методы. Проводилось исследование содержания цитокинов (ИЛ-18, ИЛ-27 и ИЛ-35) в сыворотках крови, лизатах эндометрия и тканей миоматозных узлов методом ИФА. Выделяли мононуклеарные клетки эндометрия и использовали их для многоцветной проточной цитофлюорометрии. Экспрессию поверхностных молекул оценивали с использованием моноклональных антител на приборе BD FACSCantoII (Becton Dickinson, USA). Анализ данных проводили в программе Diva (Becton Dickinson, USA).

Для получения тотальной РНК делали тотальные срезы миоматозных узлов. Количественную оценку мРНК Ki67 проводили с использованием коммерческих наборов в соответствии с инструкцией фирмы производителя (ООО «Фрактал Био», Россия) методом ОТ-ПЦР в реальном режиме времени. Результаты оценки митотической активности в узлах ЛММ с использованием метода цитометрии полностью соотносились с данными оценки Ki67 методом ПЦР.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью общепринятых методик вариационной статистики после проверки рядов на

нормальность распределения величин. Ряды данных на нормальность распределения значений проверялись с помощью критериев Колмогорова и Шапиро – Уилка. Если распределение отличалось от нормального, значения величин представлялись в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей (Me (Q25%–Q75%)). Корреляционные связи между показателями оценивали с помощью коэффициента Спирмена (r). Для оценки статистической значимости распределения качественного признака между двумя сравниваемыми группами применялся критерий χ2 Пирсона с поправкой Йетса. За статистически значимый уровень значимости различий был принят $p<0,05$. Отношение шансов (ОШ) для факторов риска рассчитывалось в системе «Open Epi» с определением 95%-го доверительного интервала (ДИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все пациентки, принявшие участие в исследовании, были в границах репродуктивного возраста. Однако средний возраст пациенток с ЛММ составил 37,55±5,59 лет, а женщин контрольной группы – 31,32±5,75 лет (p=0,000). Женщины раннего репродуктивного возраста статистически значимо чаще встречались в контрольной группе (ОШ=0,149, p=0,000), а женщины позднего репродуктивного возраста – чаще в группе женщин с миомой матки (ОШ=6,728, p=0,000). Согласно литературным данным, манифестация ЛММ происходит в большинстве случаев у женщин в позднем репродуктивном или перименопаузальном возрасте (Л.В.Адамян и соавт., 2022, D. Pavone et al., 2018).

Наличие психоэмоционального напряжения и стресса как фактора риска развития миомы матки также получило косвенное подтверждение нашими данными по изучению социального статуса женщин. В основной группе незамужних женщин было статистически значимо больше, чем в контрольной группе (ОШ=2,235, p=0,026), женщин со средним специальным образованием было больше в основной группе по сравнению с контролем (p=0,047). Кроме того, значительно чаще женщины основной группы отмечали вынужденное положение тела в течение рабочего дня, что в большинстве случаев было связано с трудом в швейном производстве (ОШ=2,503, p=0,014), а пациентки контрольной группы – чаще не работали (p=0,042). Мы можем предположить, что эти особенности социального статуса женщин основной группы обусловили наличие хронического стресса и устойчивого снижения настроения, что могло послужить определенным фоном развития заболевания, как отмечается в трудах некоторых авторов (М.А.Феофилова и соавт., 2017).

При изучении репродуктивной функции у женщин с ЛММ нами было отмечено, что женщин с медицинскими абортами в анамнезе было статистически значимо больше в основной группе по сравнению с группой контроля (ОШ=3,904, p=0,004). Этому факту имеются многочисленные

литературные подтверждения (В.Ф.Беженарь, В.А.Линде, 2023, Q. Shen et al., 2017). Очевидно, во время проведения хирургического медицинского аборта происходит травматизация не только эндометрия, но и мышечного слоя стенки матки. При этом запускается процесс репарации, который в ряде случаев приобретает патологический характер за счет нарушения внутренних регуляторных механизмов (изменение фенотипа гладкомышечных клеток, воздействие факторов роста и компонентов ВКМ) (А.Л. Тихомиров и соавт., 2006).

При изучении особенностей менструальной функции у женщин с ЛММ было выявлено, что возраст наступления менархе у женщин основной группы был ниже, чем у женщин контрольной группы (p=0,0384), обильные и болезненные менструации в анамнезе чаще встречались у женщин основной группы по сравнению с женщинами контрольной группы (ОШ=12,73, p=0,0000 и ОШ=4,071, p=0,0001 соответственно), продолжительность менструации была больше у женщин основной, чем у женщин контрольной группы (p=0,0076). Наши данные сопоставимы с данными литературы, (Л.В.Адамян и соавт., 2020, A. Khan et al., 2014, M. S. Islam et al., 2018).

Некоторые соматические заболевания, по данным литературы, являются неблагоприятным фоном для развития ЛММ (С.М.Сафарова, 2017), что подтверждается данными нашего исследования. У женщин с ЛММ статистически чаще, чем у женщин контрольной группы, встречались хронические воспалительные заболевания дыхательной системы (ОШ=6,709, p=0,005), что косвенно доказывает влияние инфекционного фактора на развитие ЛММ и находит отражение в литературных источниках (Z. Q. Liu et al., 2019. G. Wegienka et al., 2012). Хронический воспалительный процесс, очевидно, создает определенный фон для инициации роста миоматозноно узла (А.Л.Тихомиров и соавт., 2006).

Данная гипотеза подтверждается и высокой частотой хронического эндометрита у женщин с ЛММ, выявленной в нашем исследовании (ОШ=6,322, p=0,0000). Развитие хронического эндометрита, с одной стороны, связано с наибольшим количеством медицинских абортов у женщин основной группы, а с другой, возможно, с нарушением микробиоты эндометрия (Л.В.Адамян и соавт., 2022).

Также по данным гистологического исследования эндометрия у женщин основной группы чаще, чем у женщин контрольной группы, выявлялась гиперплазия эндометрия без атипии клеток (p=0,0000), что совпадает с многочисленными литературными данными (С.Н.Буянова и соавт., 2022, D. Pavone et al., 2018). Известно, что гиперплазия эндометрия благодаря особенностям эндокринной и паракринной регуляции имеет общие звенья патогенеза с лейомиомой матки. И в ткани ЛММ, и в эндометрии имеется высокая экспрессия прогестероновых рецепторов, что

приводит к изменению рецептивности эндометрия и к росту миоматозных узлов (Е.А.Коган и соавт., 2013).

Таким образом, по нашим данным имеют место следующие факторы риска развития лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста: модифицируемые - незарегистрированный брак и трудовая занятость, связанная с длительным вынужденным положением тела, медицинские аборты в анамнезе и немодифицируемые - поздний репродуктивный возраст, обильные и болезненные менструации в анамнезе, хронический эндометрит и хронические воспалительные заболевания дыхательной системы.

С целью изучения клинико-анамнестических особенностей у женщин репродуктивного возраста с пролиферирующей миомой матки мы сравнили клиническую характеристику подгрупп женщин с наличием и отсутствием пролиферации в доминирующем узле по данным ПЦР - Ki67- и Ki67+. По данным литературы, белок Ki67 отражает количество клеток, находящихся в активной фазе клеточного цикла, и используется для оценки пролиферативной клеточной активности (Н.М.Тоноян и соавт., 2022). По нашим данным, статистически значимой разницы по возрасту у женщин в подгруппах Ki67- и Ki67+ выявлено не было. Однако, у женщин подгруппы Ki67+ чаще в анамнезе выявлялись оперативные вмешательства на органах брюшной полости (в т.ч. кесарево сечение) по сравнению с женщинами подгруппы Ki67- (p=0,03). Возможно, по этой же причине у женщин подгруппы Ki67+ чаще встречалась варикозная болезнь нижних конечностей по сравнению с женщинами подгруппы Ki67- (p=0,028). Известно, что при повреждении миометрия во время оперативных вмешательств запускается процесс репарации, который в ряде случаев приобретает избыточный характер, в т.ч., за счет нарушения соотношения процессов пролиферации и апоптоза компетентных клеток миометрия (Н.Ю.Сотникова и соавт., 2010, А.Л.Тихомиров и соавт., 2006).

Кроме того, мы установили, что в подгруппе Ki67- чаще встречалась множественная ЛММ по сравнению с подгруппой Ki67+, и наоборот, в подгруппе Ki67+ чаще встречалась единичная лейомиома матки по сравнению с подгруппой Ki67- (p=0,0000 в обоих случаях), при этом при сравнении размеров наибольших узлов и общих размеров матки в подгруппах различий выявлено не было. Количество пациенток с быстрым ростом ЛММ в этих подгруппах также не различалось между собой.

Основываясь на этих данных, мы можем предположить, что, во-первых, каждый узел миомы матки развивается автономно, отдельно от других узлов, что подтверждается данными литературы (Н.М.Тоноян и соавт., 2022). Во-вторых, активные пролиферативные процессы в миоматозном узле не всегда приводят к быстрому росту миомы матки, под которым мы традиционно понимаем увеличение общих размеров матки более чем на 4 недели условной беременности за год наблюдения

(И.С.Сидорова, 2002). В литературе имеются данные об отсутствии корреляционной связи между митотической активностью ЛММ и индексом ее роста, более того, показано, что наибольшей пролиферативной активностью обладают небольшие миоматозные узлы у более молодых женщин на ранних этапах выявления ЛММ (А.Л.Тихомиров и соавт., 2006). Собственно, этим обстоятельством и объясняется несогласие авторов с выжидательной тактикой ведения ЛММ.

С целью более детального анализа клинических данных, мы разделили женщин основной группы по признаку наличия или отсутствия вторичных изменений в узле. Статистически значимых различий в клинической характеристике женщин этих подгрупп практически не было. Однако среди женщин подгруппы «с вторичными изменениями» статистически значимо чаще в структуре жалоб встречался болевой синдром по сравнению с женщинами подгруппы «без вторичных изменений» (p=0,0000). Это может быть обусловлено сдавлением тканей большим миоматозным узлом с вторичными изменениями и накоплением ВКМ (M.S.Islam et al., 2018). Средний объем доминирующего узла в подгруппе «с вторичными изменениями» составил 60,5 (27,9-129,0) см^3, тогда как в подгруппе «без вторичных изменений» –38,1 (19,5-88,0) см^3. Статистически значимых различий в общих размерах матки у женщин обеих подгрупп не было выявлено, однако имеется тенденция к большей частоте встречаемости признака «размер матки 5-6 недель условной беременности» у женщин подгруппы «без вторичных изменений» (p=0,0543). Из этого следует, что вторичные изменения ЛММ зачастую сопряжены с большим размером доминирующего миоматозного узла и хронической тазовой болью.

Таким образом, исходя из полученных нами данных, можно утверждать, что наличие процессов пролиферации миоцитов в миоматозном узле и вторичные изменения опухоли имеют одинаково важное значение в развитии симптомов лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста. Поскольку данные механизмы роста опухоли могут сочетаться у одной и той же пациентки, трудно оценить, какой из них превалирует в качестве причины манифестации заболевания. С другой стороны, именно рост миоматозных узлов, связанный с пролиферацией миоцитов, в перспективе может привести к рецидиву заболевания после оперативного лечения. Необходимость прогнозирования рецидива ЛММ у женщин репродуктивного возраста подчеркивается в работах отечественных авторов (Н.М.Тоноян и соавт., 2020, И.Ф.Козаченко и соавт., 2022). Именно поэтому нам представляется важным, чтобы практикующий врач имел возможность оценить механизмы роста ЛММ у пациентки на дооперационном этапе и в динамике дальнейшего наблюдения пациентки.

Известно, что иммунокомпетентные клетки осуществляют синтез цитокинов и ростовых факторов в ткани ЛММ, контролируя ее рост (Н.Ю.Сотникова и соавт., 2018, N. Chegini, 2010). При этом естественные киллеры обеспечивают противоопухолевый иммунитет, а уровень активности ЕК напрямую связан с экспрессией мембранных рецепторов естественной цитотоксичности (NCR), лектино-подобных рецепторов и киллерных иммуноглобулин-подобных рецепторов (KIR) (А. А. Хаматова и соавт., 2021, A. D. Barrow et al., 2018).

В ходе нашей работы мы выявили, что у женщин с ЛММ происходят усиление экспрессии рецептора естественной цитотоксичности NKp46 (NCR) ЕК клетками (p=0,03). Известно, что опухолевые и инфицированные вирусом клетки активируют рецепторы естественной цитотоксичности NCR (E. Seidel et al., 2012), а низкий уровень экспрессии этих рецепторов способствует прогрессированию развития опухоли в различных органах (J. Koch et al., 2013). При анализе показателей в зависимости от размеров миоматозного узла оказалось, что в эндометриии, расположенном в проекции миоматозных узлов малых размеров, наблюдалось снижение доли NKp44+NKp46+ ЕК клеток, по сравнению с параметрами контрольной группы (p=0,04), а в узлах больших размеров было выше, чем в узлах малых размеров количество NKp46+ ЕК клеток (p=0,05). При анализе показателей в зависимости от пролиферативной активности было установлено, что в пролиферирующих узлах уровень NKp44+ и NKp44+NKp46+ ЕК клеток в ткани эндометрия, расположенного в проекции миоматозных узлов, был ниже, чем в непролиферирующих узлах (p=0,01, p=0,002). При учете обоих параметров, установлено, что в эндометрии, расположенном в проекции пролиферирующих миоматозных узлов малых размеров в отличие от непролиферирующих узлов малых размеров уровень NKp46+ ЕК клеток был значительно выше (p=0,03), а в эндометрии в проекции больших пролиферирующих узлов в отличие от больших непролиферирующих узлов было ниже количество NKp44+ (p=0,01) и даблпозитивных NKp44+NKp46+ ЕК клеток (p=0,02). В эндометрии, расположенном в проекции малых непролиферирующих узлов, по сравнению с показателями контрольной группы было, наоборот, выше содержание NKp44+NKp46+ ЕК клеток (p=0,02).

Известно, что рецепторы NKp44 и NKp46 могут индуцировать реакции цитотоксичности у ЕК клеток (E. Vivier et al., 2012), поэтому можно предположить, что низкое содержание ЕК, одновременно экспрессирующих оба рецептора, в эндометрии обуславливает срыв местного цитотоксического иммунитета, что приводит к снижению противоопухолевого надзора в матке. В данном случае рост миоматозного узла происходит из-за повышения пролиферативной активности, которая обусловлена недостаточным цитотоксическим контролем ЕК эндометрия, расположенного в проекции миоматозного узла.

На основании полученных данных был разработан новый способ диагностики пролиферативной активности клеток лейомиомы матки и получен патент РФ на изобретение № 2700003 от 12.09.2019 г. В мононуклеарных клетках эндометрия, локализованного в проекции узла, определяют относительное содержание NKp44+NKp46+ лимфоцитов в CD56+ гейте, и при значении этого показателя 5,4% или менее диагностируют наличие пролиферативной активности клеток лейомиомы матки, а при значении более 5,4% - отсутствие пролиферативной активности клеток лейомиомы матки. Точность разработанного нами способа – 81,32%, чувствительность – 94,4%, специфичность – 64,3%. Данная методика относится к малоинвазивным, поскольку основана на исследовании эндометрия, которое является скрининговым у женщин с ЛММ, и может быть широко использована в клинической практике, в т.ч., на дооперационном этапе для определения показаний к таргетной терапии и\или оперативному лечению у пациенток репродуктивного возраста.

Активность естественных киллеров определяется не только репертуаром мембранных рецепторов, но и регулирующим действием цитокинов, находящихся в микроокружении опухоли, в т.ч., миоматозного узла (M. Khalil et al., 2021). В нашем исследовании мы изучили особенности содержания цитокинов (ИЛ-18, ИЛ-27, ИЛ-35), регулирующих активность ЕК, в периферической крови, эндометрии, расположенном в проекции доминирующего миоматозного узла, и в миоматозном узле у женщин с лейомиомой матки в зависимости от размера узла, наличия пролиферации и вторичных изменений. Данные цитокины являются активирующими, угнетающими и способными оказывать двоякое действие на активность ЕК, находясь в микроокружении опухоли (A. Stojanovic et al., 2013, G. M. Konjević et al., 2019, N. W. Zwirner et al., 2010).

Мы выявили, что у пациенток с ЛММ в сыворотке крови имеет место более низкое содержание ИЛ-18 ($p=0,006$) и более высокое ИЛ-27 ($p=0,011$), чем у женщин контрольной группы. В то же время, в эндометрии женщин с ЛММ выявилось более высокое содержание ИЛ-27, чем в эндометрии женщин контрольной группы ($p=0,001$). В миоматозном узле уровень всех изучавшихся цитокинов был статистически значимо ниже, чем в эндометрии, расположенном в проекции милматозного узла. В группе женщин с ЛММ Ki67+ уровень ИЛ-27 в сыворотке крови был выше, чем в группе Ki67-($p=0,034$). В эндометрии женщин с миомой матки, также как в миоматозных узлах нами не было выявлено различий в содержании ИЛ-35, ИЛ-27 и ИЛ-18 в зависимости от наличия пролиферативных процессов ($p>0,05$ в обоих случаях). При оценке содержания изучавшихся цитокинов в зависимости от двух факторов: размеров доминантного миоматозного узла и наличия маркера пролиферации было установлено, что независимо от этих факторов сывороточный уровень ИЛ-18 у женщин

с ЛММ был ниже, чем в контрольной группе. Однако уровень ИЛ-18 у женщин с непролиферирующей миомой больших размеров был выше, чем у женщин с непролиферирующей ЛММ малых размеров (p=0,045). У женщин с пролиферирующей миомой больших размеров уровень ИЛ-18 был выше, чем у женщин с большими миоматозными узлами Ki67- (p=0,026). Уровень ИЛ-18 у женщин с Ki67- непролиферирующей миомой больших размеров был ниже, чем у женщин с Ki67+ пролиферирующей миомой матки малых размеров (p=0,027). Мы выявили более высокий, чем в контрольной группе, уровень ИЛ-27 в сыворотке крови женщин репродуктивного возраста с пролиферирующей лейомиомой матки малых и больших размеров (p=0,016 и p=0,01 соответственно). Сывороточный уровень ИЛ-27 у женщин с пролиферирующей ЛММ малых размеров был выше, чем у женщин с ЛММ больших размеров Ki67- (p=0,047). Мы не отметили существенных различий в сывороточном уровне ИЛ-35 в зависимости от размера узлов и наличия пролиферации (p>0,05 в обоих случаях). В эндометрии отмечалось более высокое содержание ИЛ-18 у женщин с пролиферирующей ЛММ больших размеров по сравнению с содержанием данного интерлейкина в эндометрии женщин контрольной группы (p=0,014). Мы не выявили статистически значимых различий в концентрации ИЛ-18 в ткани эндометрия между подгруппами женщин с лейомиомой матки в зависимости от размеров узлов и наличия пролиферации (p>0,05 во всех случаях). Уровень ИЛ-27 в эндометрии независимо от размеров узла и наличия пролиферации был выше, чем в контрольной группе (p<0,05 во всех случаях). Содержание ИЛ-35 в эндометрии не отличалось от показателей контрольной группы и не зависело от размеров узла и наличия пролиферации. В миоматозном узле содержание ИЛ-18 и ИЛ-27 не отличалось от показателей эндометрия контрольной группы и не зависело от размеров узла и наличия пролиферации. В то же время, уровень ИЛ-35 во всех случаях был ниже, чем в эндометрии контрольной группы независимо от размера узла и наличия пролиферации. Полученные данные свидетельствуют об особой важности показателей ИЛ-18 и ИЛ-27 как на системном, так и на локальном уровне у женщин репродуктивного возраста с ЛММ.

ИЛ-18 относится к семейству цитокинов ИЛ-1, синтезируется ЕК клетками, макрофагами, дендритными клетками, фибробластами, активированными Т- и В-лимфоцитами и обладает провоспалительными и иммунорегуляторными свойствами (G. M. Konjević et al., 2019). Кроме того, ИЛ-18 стимулирует синтез ИФНγ Т и ЕК клетками. У ИЛ-18 есть естественный ингибитор - ИЛ-18 связывающий протеин (IL-18BP), который постоянно выделяется моноцитами и макрофагами и является компонентом негативного контроля для сдерживания чрезмерного Th1 ответа (M. Fabbi et al., 2015). Рецептор ИЛ-18, ИЛ-18R, в определенной степени, передает сигнал через активацию STAT3 (J. K. Lee et al., 2004).

Поэтому ИЛ-18 оказывает противоопухолевое действие и, благодаря индукции экспрессии Fas ЕК клетками, а также синтезу хемокинов и цитокинов, приводит к местному рекрутированию и активации дендритных клеток и эффекторных Т-лимфоцитов. ИЛ-18 стимулирует пролиферацию ЕК клеток, а также экспрессию хемокиновых рецепторов ЕК клетками, которые за счет этого мигрируют во вторичные лимфоидные органы, препятствуя лимфогенному распространению клеток опухоли (G. M. Konjević et al., 2019).

ИЛ-27 обладает провоспалительным или антивоспалительным действием, действуя через активацию STAT1 или STAT3 соответственно. Стимулирующее воздействие ИЛ-27 относительно ЕК опосредовано через другие цитокины, продуцируемые антиген представляющими клетками, а именно ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-18 (G. M. Konjević et al., 2019). В частности, ИЛ-27 подготавливает ЕК клетки для воздействия ИЛ-18 во время противоопухолевого ответа, он запускает экспрессию Tbet, основного транскрипционного фактора, регулирующего синтез ИФНγ ЕК клетками, таким образом увеличивая ИЛ-18-опосредованную секрецию ИФНγ (N.W. Zwirner, A. Ziblat, 2017). Высокая секреция ИФНγ регулирует экспрессию адгезионной молекулы ICAM-1 клетками мишенями, за счет чего цитотоксическая активность ЕК клеток значительно возрастает (R. Wang et al., 2012). Кроме того, ИЛ-27 может усиливать противоопухолевую активность ЕК клеток опосредованно через ИЛ-18 (Y. H. Choi et al., 2019).

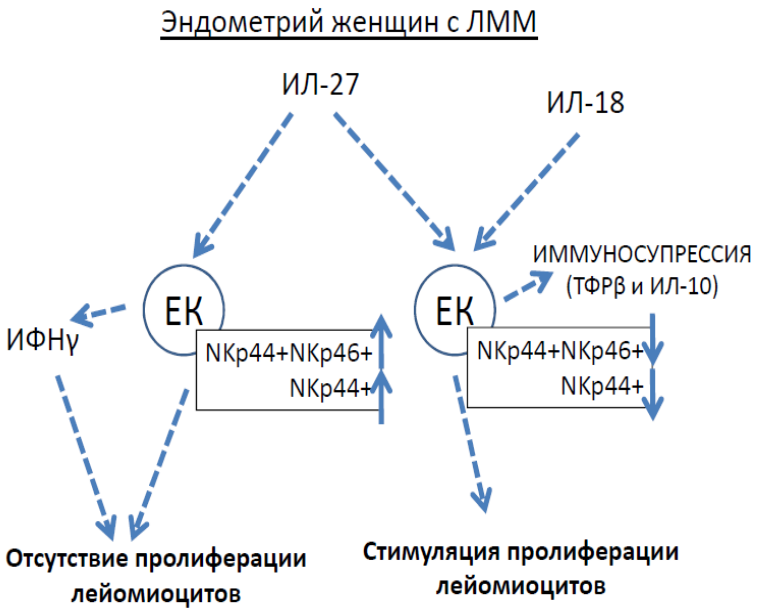
Полученные нами данные о наличии выраженной прямой корреляционной связи между ИЛ-18 и ИЛ-27 ($r=0,87$; $p=0,000$) подтверждают наличие единого регуляторного механизма в контроле продукции этих цитокинов на уровне эндометрия. Тем не менее, есть данные об опухолестимулирующем эффекте ИЛ-27 за счет индукции регуляторных клеток и продукции иммуносупрессорных молекул, таких как ИЛ-10, Т клеточного иммуноглобулинового и муцинового домена (TIM)-3, индоламин 2,3-диоксигеназы (IDO), CD39 и лиганд программируемой смерти 1 (PD-L1) (C. Pot et al., 2011). Все вышесказанное подтверждает двойственную роль ИЛ-27 в противоопухолевом иммунитете. Умеренная корреляционная связь между содержанием ИЛ-27 в сыворотке периферической крови и тканях миоматозных узлов ($r=0,45$; $p=0,000$), скорее всего, связана с эффектом усиления роста ЛММ у женщин репродуктивного возраста.

ИЛ-35, член семейства ИЛ-12, экспрессируется регуляторными Т-лимфоцитами (Tregs) и, в отличие от других цитокинов, является чисто иммуносупрессивным цитокином. ИЛ-35 содержит две субъединицы: p35 и Ebi3. Его рецептор ИЛ-35R также состоит из двух структур: ИЛ-12Rβ2 и gp130 и осуществляет передачу сигналов через STAT1 и STAT4 (B. Mirlekar et al., 2021). ИЛ-35 способен снижать пролиферацию и эффекторную активность Т-лимфоцитов, что обеспечивает его

супрессивное действие (L. W. Collison et al., 2008). С помощью мышиной модели доказано, что ИЛ-35 способствует индукции Tregs (B. M. Olson et al., 2013). А также, ИЛ-35-индуцированные Treg в микроокружении опухоли снижают противоопухолевое действие CD4, CD8 и ЕК клеток с помощью регуляции продукции ТФРβ и ИЛ-10. ИЛ-35 стимулирует рост опухолей и появление метастазов за счет синтеза ИЛ-6 и Г-КСФ на фоне снижения активности ИФНγ, а также путем создания иммуносупрессивного микроокружения, участвуя во взаимодействии опухолевых и окружающих их иммунокомпетентных клеток (K. Liu et al., 2021). Таким образом, на основе блокады иммуносупрессивного ИЛ-35 гипотетически можно разработать новые терапевтические подходы к лечению опухолей (M. Della Chiesa et al., 2006).

Тем не менее, в ходе нашего исследования мы не наблюдали существенных изменений в содержании ИЛ-35 ни в сыворотке крови, ни в эндометрии женщин с ЛММ. Возможно, это объясняется абсолютно доброкачественным характером ЛММ, имеющей крайне низкий потенциал к озлокачествлению процесса (А.Л.Тихомиров и соавт., 2006). Содержание ИЛ-35 было выше в эндометрии, расположенном в проекции миоматозных узлов с вторичными изменениями, однако непосредственно в тканях узлов уровень цитокинов не имел статистически значимых отличий в зависимости от наличия вторичных изменений. По-видимому, ИЛ-35 может поддерживать иммуносупрессорный эффект, препятствуя развитию воспаления, и, опосредованно, через стимулирование продукции ростовых факторов, усиливать продукцию компонентов ВКМ.

Полученные нами данные обобщены в виде схемы на рисунке 1.

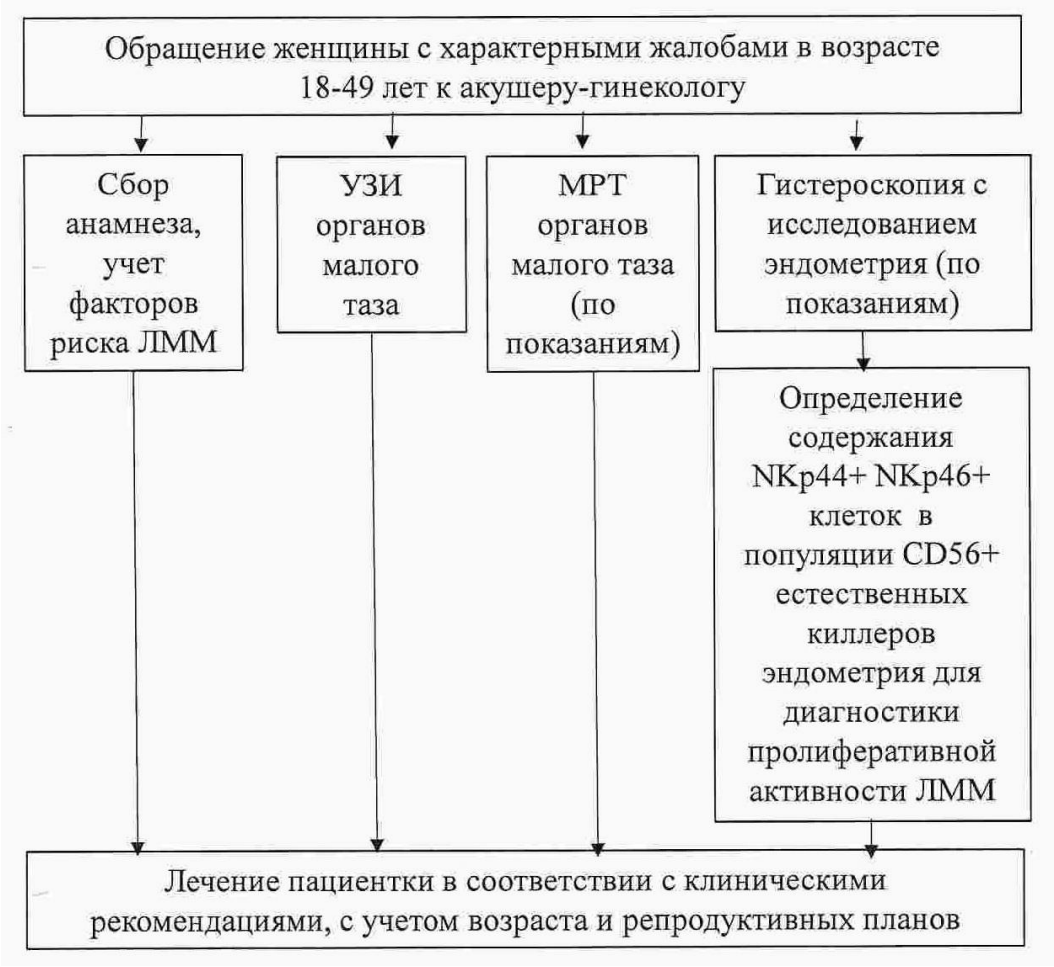


Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что у женщин с лейомиомой матки основные иммунорегуляторные события

происходят на уровне эндометрия и важную роль в этом процессе играют ИЛ-27 и ИЛ-18. ИЛ-27 обладает двояким действием, стимулируя или угнетая рост опухоли через активацию STAT1 или STAT3 соответственно. Стимулирующее воздействие ИЛ-27 относительно ЕК клеток опосредовано через другие цитокины, продуцируемые антиген представляющими клетками, а именно ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-18 (G.M. Konjević, 2019 et al., 2019). В частности, ИЛ-27 подготавливает ЕК клетки для воздействия ИЛ-18 во время противоопухолевого ответа, он запускает экспрессию Tbet, основного транскрипционного фактора, регулирующего синтез ИФНγ ЕК клетками, таким образом увеличивая ИЛ-18-опосредованную секрецию ИФНγ (N.W. Zwirner, 2017). Высокая секреция ИФНγ регулирует экспрессию адгезионной молекулы ICAM-1 клетками мишенями, что ведет к усилению экспрессии рецепторов естественной цитотоксичности и цитотоксической активности ЕК клеток и, соответственно, к угнетению пролиферации лейомиоцитов (R. Wang et al., 2012). Тем не менее, есть данные об опухолестимулирующем эффекте ИЛ-27 за счет запуска иммуносупрессии и регуляции продукции иммуносупрессорных молекул, таких как ИЛ-10, ТФРβ. Кроме того, ИЛ-18 может обуславливать рост опухоли, стимулируя инвазивность опухолевых клеток и ангиогенез (M. Terme et al., 2012).

Таким образом, стимулированные цитокинами ЕК обладают большей цитотоксической активностью в отношении клеток опухоли, в частности, ЛММ. Тем не менее, в микроокружении опухоли наблюдаются цитокины как стимулирующие, так и угнетающие свойства ЕК, которые различно влияют на активацию, пролиферацию, выживание и эффекторные функции ЕК клеток. Влияние цитокинов может напрямую стимулировать противоопухолевые свойства ЕК клеток с помощью как цитокинового, перфоринового, так и Fas-опосредованного апоптоза, а также комплексного взаимодействия Th1 лимфоцитов, дендритных клеток и макрофагов (E. Ames, 2014, R. Romee, 2016, A. Fehniger, 2016, J. W. Leong, 2014). Однако, необходимо помнить о комбинированном действии иммуносупрессивных факторов на ЕК клетки в микроокружении опухоли при разработке таргетной терапии опухолевых заболеваний цитокинами (S. Setrerrahmane, 2017, E. Vacchelli, 2016). Согласно полученным результатам, у миоматозных узлов имеется специфическое микроокружение, которое регулирует функции иммунокомпетентных клеток на местном уровне, однако в отношении ЕК клеток это, в большей степени, имеет место на уровне эндометрия, расположенного непосредственно в проекции миоматозного узла, чем в самих миоматозных узлах. Изучение взаимодействия цитокинов и их эффектов способствует пониманию патогенеза ЛММ и определяет перспективу разработки новых методов таргетной терапии с применением препаратов цитокинов. На основании полученных нами данных предлагаются дополнения к

алгоритму диагностики лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста по сравнению с изложенным в актуальных клинических рекомендациях (Л. В. Адамян и соавт., 2020), (рисунок 2).



ВЫВОДЫ

1. Факторами риска развития лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста являются: возраст 35 лет и более (ОШ=6,728), вынужденное положение тела в течение рабочего дня (ОШ=2,503) и незарегистрированный брак (ОШ=2,235), обильные (ОШ=12,73) и болезненные (ОШ=4,071) менструации, медицинские аборты (ОШ=3,904) в анамнезе, хронические воспалительные заболевания органов дыхания (ОШ=6,709), хронический эндометрит (ОШ=6,322).

2. Клинико-анамнестическими особенностями женщин с пролиферирующей лейомиомой матки являются: более частое использование барьерной контрацепции, высокая частота встречаемости варикозной болезни нижних конечностей, оперативных вмешательств на органах малого таза. Для женщин с вторичными изменениями ЛММ характерна более высокая частота болевого синдрома.

3. У женщин с лейомиомой матки больших размеров в эндометрии, расположенном в проекции миоматозного узла, отмечается более высокий уровень ЕК клеток, экспрессирующих NKp46+ рецепторы, а для женщин с

лейомиомой матки малых и средних размеров характерно более высокое содержание в эндометрии даблпозитивных NKp44+NKp46+ ЕК клеток по сравнению с параметрами женщин контрольной группы.

4. У женщин с пролиферирующей лейомиомой матки уровень ЕК клеток, экспрессирующих NKp44+ и NKp44+NKp46+ рецепторы, в эндометрии, расположенном в проекции миоматозного узла, ниже, чем у женщин с непролиферирующей лейомиомой матки. У женщин с большими миоматозными узлами наличие пролиферативной активности ассоциируется с низким уровнем NKp44+ и NKp44+NKp46+ ЕК клеток в эндометрии, расположенном в проекции миоматозного узла, по сравнению с показателями женщин с непролиферирующими узлами.

5. Наличие лейомиомы матки у женщин ассоциируется с повышенным уровнем ИЛ-27 в эндометрии независимо от размеров и пролиферативной активности миоматозных узлов, а в периферической крови – только при наличии пролиферации независимо от размеров узлов. ИЛ-18 в эндометрии повышается только при наличии больших Ki67+ узлов, а в сыворотке снижается при наличии Ki67+ и Ki67- малых узлов, Ki67- больших узлов по сравнению с показателями женщин без лейомиомы. Наличие вторичных изменений ЛММ ассоциируется с увеличением уровня ИЛ-35 в эндометрии, расположенном в проекции доминирующего миоматозного узла. Ткани миоматозных узлов характеризуются более низким уровнем ИЛ-35, ИЛ-27 и ИЛ-18, чем в эндометрии, расположенном в проекции данных узлов.

6. Низкое содержание NKp44+NKp46+ CD56+ ЕК клеток в эндометрии, расположенном в проекции доминирующего миоматозного узла, позволяет диагностировать наличие пролиферативной активности клеток лейомиомы матки с точностью 81,32%. На основании полученных данных внесены дополнения в алгоритм диагностики данного заболевания у женщин репродуктивного возраста.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании пациенток репродуктивного возраста рекомендуется учитывать следующие факторы риска развития лейомиомы матки: возраст 35 лет и более, незарегистрированный брак, трудовая деятельность, связанная с длительным вынужденным положением тела, обильные и болезненные менструации и медицинские аборты в анамнезе, хронические воспалительные заболевания органов дыхания и хронический эндометрит на момент обследования.

2. В ходе диспансерного наблюдения пациенток репродуктивного возраста с лейомиомой матки рекомендуется проводить диагностику пролиферативной активности опухоли по определению в эндометрии, локализованном в проекции наибольшего миоматозного узла и полученном в первую фазу менструального цикла, содержания NKp44+NKp46+ CD56+ ЕК клеток. При значении этого показателя 5,4%

или менее следует диагностировать наличие пролиферативной активности клеток лейомиомы матки, а при значении более 5,4% - отстутствие пролиферативной активности.

3. Данное исследование рекомендуется учитывать в алгоритме диагностики лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации научных результатов диссертаций

1. **Малышкина Д.А.** Особенности экспрессии рецепторов семейства NCR в популяции эндометриальных естественных киллеров у пациенток с лейомиомой матки / Д.А. Малышкина, Ю.С. Анциферова, Н.В. Долгушина // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т. 13(22), № 2. – С. 391–393.

2. **Малышкина Д.А.** Способ диагностики пролиферативной активности клеток лейомиомы матки / **Д.А. Малышкина**, Д.Н. Воронин, Н.Ю. Сотникова, Д.Л. Воскресенская // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучения. – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 97–98.

3. Малышкина А.И. Иммунные механизмы регуляции роста миомы матки / А.И. Малышкина, Д.Л. Воскресенская, Д.Н. Воронин, Ю.С. Анциферова, Н.Ю. Сотникова, **Д.А. Малышкина** // Акушерство и гинекология. – 2020. – № 2. – С. 111–115.

4. **Малышкина Д.А.** Клинико-анамнестические факторы риска развития лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста / **Д.А. Малышкина**, Н.Ю. Сотникова, Д.Н. Воронин [и др.] // Гинекология. – 2023. – Т. 25, № 2. – С. 170–176.

5. Сотникова Н.Ю. Особенности продукции цитокинов, регулирующих активность натуральных киллеров, у женщин с лейомиомой матки / Н.Ю. Сотникова, **Д.А. Малышкина**, Д.Н. Воронин // Иммунология. – 2023. – Т. 44, № 2. – С. 202–208.

6. Патент № 2700003 Российская Федерация, МПК G01N 33/577. Способ диагностики пролиферативной активности клеток лейомиомы матки: № 2019112974: заявлено 26.04.2019: опубликовано 12.09.2019 / Сотникова Н. Ю., Анциферова Ю. С., Воронин Д. Н., Воскресенская Д. Л., **Малышкина Д. А.**; заявитель федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 7 с. – Текст: непосредственный.

Публикации в журналах, сборниках, материалах конференций и тезисы докладов

1. Малышкина А.И. Новые подходы к диагностике и прогнозированию роста лейомиомы матки / А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Д.Н. Воронин, **Д.А. Малышкина** // Журнал теоретической и

практической медицины. – 2022. – № 4. – С. 119–122. (Узбекистан, ISSN 2091-5853, Медицина и здравоохранение, РИНЦ) **(ВАК)**

2. Малышкина А.И. Миома матки – новое в патогенезе и лечении / А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Д.Н. Воронин, **Д.А. Малышкина** // Материалы XVI международного конгресса по репродуктивной медицине (Москва, 18-21 января 2022 года) / Министерство здравоохранения Российский Федерации [и др.]. – Москва, 2022. – С. 127–128.

3. **Малышкина Д.А.** Участие эндометриальных естественных киллеров в патогенезе лейомиомы матки / **Д.А. Малышкина**, Е.М. Годунова, М.В. Голубева [и др.] // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека: материалы VIII Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием (Иваново, 12 апреля 2022 г.) / ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России. – Иваново, 2022. – С. 18–20.

4. Малышкина А.И. Клинико-иммунологические особенности женщин с пролиферирующей лейомиомой матки / А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Д.Н. Воронин, **Д.А. Малышкина** // Материалы XVII Международного конгресса по репродуктивной медицине (Москва, 17-20 января 2023 г.) / Министерство здравоохранения Российский Федерации [и др.]. – Москва, 2023. – С. 66–67.

5. **Малышкина Д.А.** Особенности регуляции функции естественных киллеров у женщин с миомой матки / Д.А. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Д.Н. Воронин // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека: материалы IX Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием, проведенная в рамках "Десятилетия науки и технологий" (Иваново, 4 апреля 2023 г.). – Иваново, 2023. – С. 20–21.

6. Малышкина А.И. Возможности дооперационной диагностики пролиферирующей миомы матки / А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Д.Н. Воронин, **Д.А. Малышкина** // Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний: материалы XXXVI Международного конгресса с курсом эндоскопии (Москва, 6-9 июня 2023 г.) / Министерство здравоохранения Российский Федерации [и др.]. – Москва, 2023. – С. 17–18.

7. **Малышкина Д.А.** Методика оценки пролиферативной активности лейомиомы у женщин репродуктивного возраста / Д.А. Малышкина, Д.Н. Воронин, Л.В. Кулида // Мать и Дитя: сборник тезисов XVI регионального научно-образовательного форума и Пленума Правления РОАГ (Санкт-Петербург, 28-30 июня 2023 г.) / ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». – Москва, 2023. – С.115–116.

8. **Малышкина Д.А.** Клиническая характеристика женщин репродуктивного возраста с миомой матки / **Д.А. Малышкина**, А.В. Смирнова, А.Е. Калинина [и др.] // Медико-биологические, клинические и

социальные вопросы здоровья и патологии человека: материалы IX Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием, проведенная в рамках "Десятилетия науки и технологий" (Иваново, 4 апреля 2023 г.). – Иваново, 2023. –С. 30–32.

9. Воронин Д.Н. Особенности цитокиновой регуляции естественных киллеров у женщин с пролиферирующей миомой матки / Д.Н. Воронин, Н.Ю. Сотникова, **Д.А. Малышкина** // Мать и Дитя – 2023: материалы XXIV Всероссийского научно-образовательного форума памяти академика РАН Савельевой Г.М. / под ред. Г. Т. Сухих, Л. В. Адамян (Москва, 27-29 сентября 2023 г.) / Министерство здравоохранения Российский Федерации [и др.]. – Москва: «МЕДИ Экспо», 2023. – С. 78–79.

10. Малышкина Д.А. Значение цитокиновой регуляции в механизмах роста лейомиомы матки / Д.А. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Д.Н. Воронин // Актуальные вопросы профилактики, ранней диагностики, лечения и медицинской реабилитации больных с неинфекционными заболеваниями и травмами : материалы XI межрегиональной научно-практической конференции с международным участием (Иваново, 27 ноября 2023 г.) / ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации [и др.]. – Иваново, 2023. – С. 67–68.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВКМ – внеклеточный матрикс
Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
ДИ – доверительный интервал
ИЛ – интерлейкин
ИНФγ – интерферон гамма
ИФА – иммуноферментный анализ
ЛММ – лейомиома матки
ЕК – естественные киллеры
МОО – микроокружение опухоли
ОШ – относительный шанс
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
ТФР – трансформирующий фактор роста
FAS – рецептор апоптоза, принадлежащий к семейству TNF
FIGO – Международная федерация акушеров-гинекологов
ICAM – молекула клеточной адгезии
KIR – киллерные иммуноглобулин-подобные рецепторы
NCR – рецепторы естественной цитотоксичности
STAT – преобразователь сигнала и активатор транскрипции
Th – Т-хелперы
Treg – регуляторные Т-лимфоциты