

Карапетян Ольга Владимировна

**ПРОЦЕССЫ ВОСПАЛЕНИЯ И АПОПТОЗА В ТКАНЯХ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ
ФОРМИРОВАНИИ ГИПЕРПЛАЗИИ**

3.3.3. – Патологическая физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Ордена Трудового Красного Знамени Медицинском институте имени С. И. Георгиевского.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Кубышкин Анатолий Владимирович**

Официальные оппоненты:

Котиева Инга Мовлиевна - доктор медицинских наук, профессор, и.о. проректора по научной работе, заведующий кафедрой патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Коваленко Людмила Васильевна - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии и общей патологии Бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», Департамента образования и науки Ханты-Мансийского автономного округа – Югры.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2024 г. в _____ ч. на заседании диссертационного совета 24.2.318.01 при Ордена Трудового Красного Знамени Медицинском институте имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» по адресу: 295051, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института имени С.И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «КФУ имени В.И. Вернадского» по адресу: 295051, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7 и на сайте : <http://cfuv.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.2.318.01
доктор медицинских наук, доцент

Зяблицкая Евгения Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Проблема медицинской и социальной значимости последствий гиперпластических процессов эндометрия остается в числе актуальных в связи с широкой их распространенностью, которая по данным разных авторов составляет от 10 до 50% среди всех гинекологических заболеваний [Радзинский В. Е. и соавт., 2021; Андреева Е.Н. и соавт., 2023], а также высоким риском их малигнизации, который увеличивается в климактерическом периоде. В развитых странах ежегодно регистрируется около 200 000 новых случаев заболевания гиперплазией эндометрия (ГЭ) [Siegel R.L. et al., 2022; Ring K.L. et al., 2022]. С другой стороны, среди причин смертности и инвалидизации женского населения преобладают злокачественные новообразования репродуктивной системы (38,5%), а рак эндометрия по распространенности находится на 2-м месте после злокачественных опухолевых заболеваний молочной железы [Гусейнова, Р. Г. и соавт., 2020; Каприн А.Д. и соавт., 2021; Nees LK et al., 2022]. В Российской Федерации заболеваемость раком эндометрия в течение последних десяти лет увеличилась на 50% и в общей структуре онкологической заболеваемости доля пациенток со злокачественными новообразованиями эндометрия составляет около 7,1% [Петрова Г.В. и соавт., 2019].

Считается, что большинство ГЭ развиваются на фоне хронической стимуляции эндометрия эстрогенами при недостаточности со стороны прогестина [Plaza-Parrochia F. et al., 2017; Pandey J, Yonder S., 2024]. Однако, по мнению ряда авторов, развитие гиперпластических процессов в эндометрии далеко не всегда происходит на фоне гиперэстрогемии [Шарапова О.В. и соавт. 2006; Koskas M., et al., 2021] и, следовательно, существуют и другие механизмы, лежащие в основе патогенеза данной патологии. Стимуляция эндометрия эстрогенами считается основным фактором риска развития ГЭ, были предложены и другие причины, способствующие формированию гиперплазии. Отмечается возможность мутаций различных генов, которые участвуют в регуляции клеточной пролиферации и апоптоза, приводят к повышенной пролиферации желез эндометрия, и соответственно к ГЭ с возможной последующей трансформацией в рак эндометрия (РЭ) [Gibson W.J. et al., 2016; Bell DW, Ellenson LH., 2019]. В связи с этим представляют интерес исследования молекулярно-биологических механизмов, вовлеченных в развитие гиперплазии эндометрия.

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на значительные достижения в изучении механизмов развития патологии эндометрия, многие аспекты формирования гиперпластических процессов эндометрия остаются дискуссионными или не изученными [Думановская, М. Р. И соавт., 2021; Радзинский В. Е. и соавт., 2021; Оразов М. Р. И соавт., 2022]. Среди возможных механизмов формирования гиперпластических процессов эндометрия можно выделить генотоксическое и мутагенное действие продуктов свободнорадикального окисления тканей, образующихся в зоне воспаления [Попов Э. Н. и соавт., 2010; Yildirim E. U. et al., 2021], генетические и эпигенетические факторы [Ордянец, И. М. и соавт., 2020] Описана роль пироптоза [Huang Y, Li R, Yang Y., 2022] и аутофагии [Devis-Jauregui L. Et al., 2021] в развитии гиперпластических процессов эндометрия. Протеолитические ферменты в зоне воспаления, выделяемые активированными

лейкоцитами, способные разрушать матрикс соединительной ткани и базальной мембраны эпителия, нарушая гистоархитектонику тканей, что в свою очередь может способствовать нарушению процессов пролиферации и дифференцировки эндометрия [Адамян Л. В. и соавт., 2021; Padežnik T. Et al., 2023].

На современном этапе ряд ключевых вопросов формирования гиперпластических процессов в эндометрии остается не решенным. В связи с этим изучение механизмов формирования ГЭ с изучением местных регуляторных (цитокины) и эффекторных (протеиназы) компонентов развития воспалительной реакции, а еще более их клиническое значение для диагностики и прогноза развития патологии представляется актуальной проблемой.

Таким образом, молекулярная биология воспалительного и гиперпластического процессов в эндометрии показывает новые возможные направления совершенствования диагностики, лечения, прогноза и профилактики при различных морфологических и этиологических вариантах ГЭ. С учетом сложности и многофакторности заболевания, разнообразия подходов к патогенетической гормональной терапии, которая бывает неэффективной или возникают рецидивы ГЭ, данная задача является актуальной и требует изучения.

Все это диктует необходимость поиска новых путей патогенеза ГЭ, расшифровки механизмов формирования атипических форм гиперплазий и поиск путей оптимизации лечебных подходов через воздействия на молекулярные звенья патогенеза гиперпластических процессов в эндометрии.

Цель исследования: установить роль воспалительных изменений и характер изменений маркеров апоптоза при развитии различных форм ГЭ.

Задачи исследования:

1. Определить состояние системного и локального уровня эстрогенов и прогестерона, а также состояние эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в эндометрии у пациенток с различными видами гиперпластических процессов эндометрия.

2. Определить уровень местных провоспалительных цитокинов, неспецифических протеиназ и их ингибиторов в внутриматочных смывах пациенток с различными видами гиперпролиферативных процессов эндометрия.

3. Изучить морфофункциональное состояние эндометрия и характер изменения маркеров воспаления у женщин с различными видами ГЭ.

4. Определить уровень маркеров апоптоза в эндометрии пациенток с ГЭ и выявить закономерности их изменения в зависимости от вида патологической трансформации.

5. Установить эффективность применения методов гормональной коррекции на ремоделирование эндометрия с учетом изменений маркеров воспалительного процесса.

Научная новизна работы.

Впервые показано, что при простой ГЭ на фоне повышения показателей внутриматочных гормонов, на фоне системной и локальной гиперэстрогении, в эндометрии формируется рецепторный дисбаланс, проявляющийся изменением экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону. А при прогрессировании процесса ГЭ до комплексных и атипических форм, разница уровней экспрессии нивелируется,

что указывает на гормонозависимую составляющую в генезе простой ГЭ. При комплексной и атипической гиперплазии гормональный дисбаланс сохраняется, но как правило не превышает уровень дисбаланса при простой гиперплазии, что особенно проявляется при исследовании уровня гормонов на локальном уровне.

При комплексной и атипической ГЭ, как показали иммуногистохимические (ИГХ) исследования общего лейкоцитарного антигена (CD45), уровня неспецифических протеиназ, их ингибиторов и провоспалительных цитокинов в маточных смывах, впервые продемонстрировано нарастание лейкоцитарно-макрофагальной инфильтрации эндометрия по мере усиления тяжести гиперплазии. Таким образом впервые показана важная роль воспаления в прогрессировании гиперплазий и возможное его участие в процессах малигнизации эндометрия. Предложен термин, описывающий связанное с гиперплазией эндометрия воспаление: «воспаление, ассоциированное с гиперплазией эндометрия».

Установлено, что воспаление при ГЭ имеет неспецифический характер, так как не выявлено существенных изменений содержания в строме таких популяций клеток, как натуральные киллеры (CD56) и цитотоксические Т-лимфоциты (CD8a), а также тканевые макрофаги (CD68). На фоне усиления воспалительных проявлений в эндометрии при атипической гиперплазии показано снижение экспрессии маркера апоптоза CD95, что свидетельствует о параллельном снижении готовности клеток эндометрия к апоптозу. На этом фоне выявлена активация фактора роста сосудов VEGF при более тяжелых формах гиперплазий, наиболее выраженного при атипической ГЭ.

Проведенными исследованиями показано, что использование гормональной терапии при лечении ГЭ способствует нормализации гормонального гомеостаза на локальном уровне и снижению активности местных маркеров воспаления, определение которых может применяться для оценки эффективности проводимого лечения гиперплазий.

Теоретическая и практическая значимость работы

Диссертантом разработаны и предложены дополнительные способы доступной малоинвазивной диагностики и критерии их оценки для прогноза течения ГЭ с помощью исследования маркеров, отражающих характер воспалительных изменений в эндометрии. Определение уровня содержания цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и TNF- α , активности эластазы, кислотостабильных ингибиторов (КСИ) протеиназ в маточных смывах, а также степень экспрессии CD45 можно использовать в качестве дополнительных критериев выраженности гиперпластических процессов в эндометрии и рекомендовать дальнейшее их изучение для прогноза малигнизации гиперпластических процессов.

Предложено определение уровня внутриматочных гормонов для дополнительной оценки степени гормональных нарушений и течения гиперпластических процессов эндометрия, который показывает более высокую степень достоверности изменений в состоянии эстрогенов и прогестерона.

Полученные в ходе исследований данные расширяют представление об участии ряда маркеров воспаления и апоптоза в патогенезе гиперпластических процессов эндометрия и обосновывают использование малоинвазивных внутриматочных исследований к дальнейшему изучению процессов ремоделирования эндометрия и

лечения гиперплазий. На основании данного подхода показана эффективность применения агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (аГн-РГ) в качестве препаратов выбора при лечении тяжелых форм ГЭ на первом этапе и последующим использованием комбинированных оральных контрацептивов (КОК) с целью противорецидивной терапии на втором этапе. Обоснована целесообразность включения противовоспалительной терапии в комплекс лечения тяжелых форм ГЭ.

Методология и методы исследования.

Диссертационная работа выполнялась в рамках комплексных научно-исследовательских работ, проводимых на кафедре общей и клинической патофизиологии Медицинского института (академии) им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»: «Патогенетические механизмы формирования органопатологии при системных и локальных патологических процессах» (№ государственной регистрации 115052150075, 2015-2017) и «Патогенетические механизмы развития системных и локальных воспалительных и метаболических нарушений и обоснование подходов к коррекции на основе изучения генетического полиморфизма, функциональных и структурных изменений органов и систем» (№ государственной регистрации АААА-А17-117070450081-2; 2017-2021) в соответствии с утвержденным планом и соблюдением правил доказательной медицины.

Диссертационное исследование имеет характер клинического эксперимента. В исследовании использовались методы клинической оценки состояния больных, УЗИ, инфекционный скрининг, гистероскопия, патоморфологическое и ИГХ исследования эндометрия, биохимические, энзиматические и иммуноферментные методы. Статистические методы включали параметрические и непараметрические методы анализа, методы вариационной статистики с вычислением средних величин и оценкой вероятности расхождений, корреляционный анализ и использование парного критерия Вилкоксона для связанных выборок.

Все исследования проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института им. С.И. Георгиевского, часть морфологических исследований на базе лаборатории кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинского института им. С.И. Георгиевского с использованием оборудования, прошедшего метрологическую поверку и экспертизу.

Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. В уровне эстрогенов и прогестерона на локальном уровне в маточных смывах при ГЭ отмечается развитие дисбаланса с преобладанием эстрогенов, но выраженность дисбаланса достоверно не отличается при различных формах гиперплазий.

2. Неспецифическое воспаление сопровождает развитие ГЭ и степень воспалительных изменений увеличивается при более тяжелых формах гиперплазии с максимальными проявлениями при атипической форме гиперплазии.

3. На фоне воспалительных изменений в эндометрии при формировании простой, комплексной и атипической гиперплазии отмечается снижение способности клеток эндометрия в апоптозу и рост экспрессии фактора роста сосудов VEGF.

4. Снижение воспалительных проявлений при ГЭ может служить дополнительным маркером эффективности применяемого лечения при ГЭ.

Степень достоверности и апробация результатов исследования.

Степень достоверности полученных результатов, обоснованность выводов и их соответствие заявленным задачам работы определяется достаточным объемом выборки пациенток при проведении исследования, количеством и качеством проведенных диагностических исследований, использованием метрологически поверенных средств измерений, адекватными методами статистической обработки данных.

Материалы диссертационного исследования представлены и обсуждены на научно-практических конференциях, симпозиумах и форумах различного уровня, включая конгрессы международного уровня: VIII Всемирный конгресс по патофизиологии (ICP 2018) (5-8.09.2018; Братислава, Словакия); 2nd European Conference on Gynecology, Obstetrics & Reproductive Health (1-2.08.2019; Париж, Франция); онлайн форум «Онкология, патоморфология и патофизиология: от теории к практике» (6-9.10.2020; Симферополь-Алушта); 15-ом Всемирный конгресс по воспалению (WCI2022) (5-8.06.2022; Рим, Италия); 9 Конгресс Международного общества по патофизиологии (ISP2023) (Белград, Сербия); 9 международный конгресс по акушерству и гинекологии ((ICGO-2023) (17-19.08.2023; Лиссабон, Португалия), I Евразийский конгресс по патофизиологии (3-6 июня 2024; Москва).

Апробация диссертации проведена на совместном заседании сотрудников кафедры общей и клинической патофизиологии и Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (протокол № 8 от 13.06.2024 года)

Внедрение результатов исследований. Результаты диссертационного исследования внедрены и используются в учебной работе кафедры общей и клинической патофизиологии, кафедры базисной и клинической фармакологии, кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии №1, в диагностической работе Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», а также в диагностической и лечебной работе ряда лечебных учреждений г. Симферополя, в том числе клиник ООО «Гемокод-Крым» и ООО «Гемокод+».

Личный вклад автора. Вклад соискателя в полученные результаты является основным и состоит в проведении патентно-информационного поиска, анализе литературных данных, организации выполнения исследования. Автор самостоятельно отбирала больных для включения в исследование, проводила необходимые лечебные и диагностические манипуляции, принимала участие в получении внутриматочных смывов для биохимических исследований. При непосредственном участии автора проводилось исследование протеиназ и их ингибиторов, уровня цитокинов и уровня гормонов. Диссертантка самостоятельно провела статистическую обработку результатов исследований, проанализировала полученные результаты в полном объеме. Диссертанткой самостоятельно написаны все главы диссертации и автореферат, подготовлены для публикации статьи и тезисы.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 5 – в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования,

рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним. Три публикации индексируются в базе Scopus, одна из которых в журнале категории квартиля Q1. Материалы исследований легли в основу опубликованной монографии. Общий объем публикаций составил 11 печатных листов, личный вклад соискателя 70%.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, раздела материал и методы исследования, четырех разделов результатов собственных исследований, раздела обсуждения результатов и заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Текст диссертации изложен на 140 страницах, включает 4 таблицы и 35 рисунков. Список литературы состоит из 258 источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. Для решения поставленных задач были отобраны пациентки с гиперпластическими процессами эндометрия, проходившие обследование и лечение на лечебных базах кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии Крымского медицинского университета им. С.И. Георгиевского (Медицинского института) за период 2010-2019 гг. Работа с пациентками, вошедшими в обследуемые группы, строилась с соблюдением этических принципов, предъявляемых Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, в редакции 2000). На проведение исследования получено заключение этического комитета ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (протоколы №14 от 21.12.2018 и №3 от 14.03.2024).

Основную группу обследованных женщин составила 101 пациентка фертильного возраста 19-49 лет (средний возраст $38,8 \pm 1,0$ лет) с различными видами ГЭ, у которых проводились детальные гистологические, ИГХ и биохимические исследования. Отдельную контрольную группу составили 18 пациенток (средний возраст $32,7 \pm 1,0$ лет) без ГЭ. Формирование групп для исследования опиралось на рабочие классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), принятые в 1994 году и 2014 годах [Scully R.E. et al., 1994; Ordi J. et al., 2014; Travaglino A. et al., 2019;]. При этом в классификации 2014 года перестала выделяться простая и комплексная (сложная) ГЭ, хотя для дизайна нашего исследования выделение этих форм гиперплазий имеет важное принципиальное значение. В связи с этим при формировании клинических групп были выделены пациентки с гиперплазией без атипии ($n=77$) и пациентки с атипичной гиперплазией или IEN ($n=24$). В свою очередь, для более досконального анализа в группе гиперплазий без атипии были выделены 2 группы: первая группа включала 41 женщину с простой ГЭ и вторая - 36 женщин с комплексной ГЭ.

Таким образом, общий дизайн исследования включал 3 группы пациенток с различными формами ГЭ: простой неатипичной ($n=41$), комплексной неатипичной ($n=36$), атипичной гиперплазией ($n=24$) и группу сравнения, которая включала 18

пациенток (средний возраст $32,7 \pm 1,0$ лет). В контрольную группу вошли пациентки, у которых не было выявлено патологии эндометрия и другой видимой патологии женских половых органов согласно данным гинекологического осмотра, УЗИ, дополнительных методов обследования, но которые проходили углубленное обследование в связи с бесплодием.

Кроме того, на втором этапе исследования проводился анализ эффективности различных вариантов гормональной терапии на локальные изменения гормонального фона, уровня цитокинов и показателей протеиназ-ингибиторной системы. Для этого группа с комплексной ГЭ из 43 пациенток была разделена на 4 подгруппы с применением различных вариантов гормональной терапии. Курс лечения с использованием гестагенов в непрерывном режиме проведен у 10 пациенток, агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (аГн-РГ) применяли ее у 10 пациенток, у 11 женщин лечение проводилось с использованием комбинированных оральных контрацептивов (КОК), еще у 12 пациенток использовали внутриматочную систему с левоноргестрелом (ВСЛ). Кроме того, с использованием полученных результатов осуществлен анализ клинико-морфологической эффективности лечения комплексных ГЭ без атипии в группах с применением гестагенов ($n=36$) и в группе с применением агонистов Гн-РГ и КОК ($n=42$). Проведена оценка течения патологии через 3 месяца и анализ развития рецидивов ГЭ через 12 месяцев.

Оценка состояния эндометрия проводилась с использованием операционного гистероскопа «Karl Storz». При проведении исследования оценивали состояние слизистой, устьев маточных труб, рельеф стенок полости матки, деформацию полости матки. Для характеристики состояния слизистой тела матки оценивали характер поверхности слизистой, высоту функционального слоя эндометрия, структуру сосудов, наличие полиповидных образований, состояние шеечного канала.

Внутриматочный смыв получали непосредственно перед проведением гистероскопии путем введения в полость матки 3-4 мл подогретого стерильного физиологического раствора через педиатрический одноразовый катетер Фолея. При аспирации введенной жидкости через 20-30 секунд получали 2-3 мл внутриматочного смыва. Смыв хранили при температуре $-15 \div -18^{\circ} \text{C}$ до проведения исследований. Непосредственно перед исследованиями смывы размораживали и центрифугировали 15 мин при 1500g. Надосадочную жидкость отбирали и в ней проводили все биохимические исследования.

Гистологическое исследование проводилось после фиксации ткани эндометрия в 10% растворе нейтрального забуференного формалина с последующей пропиткой последовательно минеральным маслом и парафином, изготовлением парафиновых блоков и срезов толщиной 4–5 мкм. Срезы для обзорных окрасок помещали на обычные стекла для патогистологии и окрашивали гематоксилином Маейера и эозином, а для постановки ИГХ реакции – на высокоадгезивные стекла, покрытые полилизином (“Menzel-Glaser”, Германия). ИГХ исследование осуществляли с помощью системы визуализации EnVision™ FLEX +, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus), Code K8024 фирмы Dako (Дания). Демаскировку антигенов проводили в камере Паскаля в течение 3 минут с нарастающей температурой до 115°C и последующим постепенным снижением температуры с использованием автостейнера (Dako Autostainer Instruments).

Для выявления клеток с рецепторами эстрогенов и прогестерона ИГХ реакцию проводили с использованием соответствующих первичных кроличьих моноклональных антител к рецепторам эстрадиола (Clone SP1) и мышинных моноклональных антител к рецепторам прогестерона (Clone PgR 636, Ready-to-Use, Autostainer) фирмы Dako. Контроль метода осуществляли с использованием позитивных (ткань эндометрия) и негативных (ткань мозга) образцов.

Интенсивность ИГХ реакции к эстрогену и прогестерону в ядрах клеток эпителия желез и стромы оценивали по методу гистологического счета H-score [Dabbs, D. J., 2006] по формуле – $S=1a+2b+3c$, где: a – % слабо окрашенных ядер клеток, b – % умеренно окрашенных ядер клеток, c – % сильно окрашенных ядер клеток. Степень выраженности экспрессии ЭР и ПР расценивали в соответствии со шкалой: 0-10 баллов – отсутствие экспрессии, 11-100 – слабая экспрессия, 101-200 – умеренная экспрессия, 201-300 – выраженная экспрессия.

Для выявления рецепторов общего лейкоцитарного антигена CD45 использовали мышинные моноклональные антитела (Clone 2B11 + PD7/26) фирмы Dako. Для оценки специфических воспалительных изменений в эндометрии определяли популяцию натуральных киллеров (NK) CD 56, макрофагальный маркер CD 68 и популяцию натуральных Т-киллеров CD8a. Иммуногистохимическое окрашивание с антителами к эндотелиальному сосудистому фактору роста VEGF (Thermo Scientific, клон RB-9031-P1, разведение 1:100), антиапоптотическому белку bcl-2 (Leica, клон BCL-2/100/D5, разведение 1:200) и проапоптотическому рецептору CD95 (Abcam, клон 133619, разведение 1:100) проводили в автоматическом иммуногистостейнере Bond-MAX с системой визуализации Bond Polymer Refine Detection System (Leica, Великобритания). Оценку маркеров с цитоплазматической локализацией (VEGF, Bcl-2, CD95) проводили полуколичественным методом отдельно для железистого эпителия и стромы эндометрия.

Изготовление микрофотографий проводили с использованием цифровой камеры OLYMPUS C 5050Z, установленной на микроскопе OLYMPUS CX 41. Для создания архива использовали сканер препаратов Aperio CS2, Leica (Германия). Морфометрические исследования осуществляли с помощью программы Software DP-SOFT.

Для определения концентрации гормонов в сыворотке крови использовали венозную кровь пациенток. Определение эстрадиола как в сыворотке крови, так и маточных смывах проводили с использованием твердофазных ИФА систем (фирма “DRG Diagnostics” Германия). Для определения прогестерона использовали твердофазные ИФА наборы производства компании «Алькор Био» (Россия). Для определения концентрации цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и TNF- α твердофазном ИФА методом использовали наборы реагентов «Вектор-Бест» (Россия).

Исследование протеолитических ферментов и их ингибиторов проводили с использованием специфических субстратов на основе энзиматических методов [Кубышкин А.В., Фомочкина И.И., 2008]. Определение трипсиноподобной активности, антитриптической активности (АТА) и кислотостабильных ингибиторов (КСИ) осуществляли с использованием синтетического субстрата этилового эфира N- α -бензоил-L-аргинина (БАЭЭ). Для определения эластазоподобной активности

использовался синтетический субстрат N-t-вос-аланил-n-нитрофениловый эфир (БАНФЭ).

Результаты всех биохимических определений в внутриматочных смывах пересчитывали на 1 мг белка, что позволяло стандартизовать полученные данные. Белок во всех смывах определяли методом Лоури. Все измерения и исследования осуществлялись на оборудовании, прошедшем метрологическую поверку и экспертизу.

Статистическая обработка цифровых данных исследования проводилась методами вариационной статистики с вычислением средних величин (M) и оценкой вероятности расхождений (m). В независимых (несвязанных) выборках исследованных параметров в качестве критерия оценки статистической значимости различий использовали t-критерий Стьюдента. Для анализа качественных данных применяли критерий χ^2 Пирсона с поправкой на непрерывность в случае анализа дихотомических данных. Для сравнения ряда параметров в исследуемых группах применялся корреляционный анализ.

Оценку эффекта проводимого лечения проводили с использованием парного критерия Вилкоксона для связанных выборок на основе анализа достоверности сдвига параметров до и после лечения. Причем сравнения проводили как на основании оценки достоверности сдвигов показателей в связанных выборках, так и по отношению к контрольной группе с использованием t-критерия Стьюдента для несвязанных выборок.

Результаты исследований и их обсуждение.

Проведенный в процессе выполнения работы анализ гормонального статуса пациенток позволил установить, что в контрольной группе женщин в первой фазе цикла отмечалась выраженная экспрессия эстрадиола (H-score в строме $203,3 \pm 3,5$; в железах $208,1 \pm 3,1$) и слабая экспрессия прогестерона (H-score в строме $79,8 \pm 9,1$; в железах $98,5 \pm 9,5$). Во второй фазе цикла наблюдалась обратно-пропорциональная зависимость: слабый уровень экспрессии эстрадиола (H-score в строме $77,8 \pm 11,6$; в железах $96,5 \pm 9,5$) и выраженный уровень экспрессии прогестерона с преобладанием в строме соответственно оценке H-score $209,8 \pm 11,6$.

Изучение экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в строме и железистой ткани эндометрия, а также уровня эстрогенов и прогестерона в маточных смывах у женщин показало, что при простой гиперплазии эндометрия без атипии экспрессия рецепторов к эстрогенам увеличивалась преимущественно в железах эндометрия. При комплексной гиперплазии эндометрия преобладание экспрессии эстрогеновых рецепторов отмечено только во вторую фазу менструального цикла (H-score $96,3 \pm 7,4$), что свидетельствует о нивелировании разницы в экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону в тканях эндометрия. При комплексной гиперплазии с атипией в строме эндометрия отмечено достоверное снижение экспрессии как рецепторов эстрогенов (H-score $38,6 \pm 5,2$), так и рецепторов прогестерона (H-score $28,6 \pm 12,3$). При этом в железистой ткани эндометрия отмечается увеличение экспрессии рецепторов прогестерона с выраженной степенью экспрессии.

В процессе проведенных исследований не выявлена тесная корреляционная связь между содержанием гормонов в крови и маточных смывах. При совпадающих

тенденциях и направленности сдвигов половых гормонов в крови и полости матки на локальном уровне роль относительной гиперэстрогении проявляется более интенсивно. У женщин с простой ГЭ уровень эстрогенов в крови достигал достоверно повышенных значений только в I фазу менструального цикла. При комплексной ГЭ уровень эстрогенов достоверно повышался в обе фазы цикла. Повышенный уровень эстрогенов сохранялся и при комплексной атипической гиперплазии. Прогестерон в крови при этом или оставался на уровне контроля в I фазу цикла, или достоверно снижался при комплексной ГЭ во II фазу цикла. При комплексной атипической ГЭ показатель соответствовал уровню показателя у женщин с простой и с комплексной ГЭ.

В маточных смывах изменения эстрогенов и прогестерона носило более специфичный характер. При простой гиперплазии происходило трехкратное увеличение эстрогенов в первую фазу цикла, и увеличение в пять раз ($p < 0,001$) во вторую фазу. При комплексной гиперплазии и атипической гиперплазии разница в уровне эстрогенов в разные фазы цикла выравнивалась, превышая в среднем соответствующие показатели контроля в четыре раза ($p < 0,001$).

По полученным в ходе исследования данным, можно заключить, что изменения в маточных смывах более показательны для оценки уровня гиперэстрогении. Выявленные изменения в крови хоть и показывают достоверные изменения, но часто не выходят за пределы референсных значений показателей. Таким образом, определение внутриматочных гормонов, наряду с уровнем экспрессии их рецепторов, является более чувствительным критерием для оценки гормональных нарушений при гиперпластических процессах эндометрия.

В нашем исследовании наиболее существенная разница как в уровне внутриматочных гормонов, так и в состоянии рецепторов к эстрогенам и прогестерону, отмечена при простой ГЭ. При комплексной ГЭ и даже при атипической гиперплазии происходит нивелирование разницы показателей по уровню относительного изменения локального содержания эстрогенов и прогестерона и экспрессии рецепторов к ним в тканях эндометрия. Таким образом можно предположить, что при простой гиперплазии гормональные нарушения с развитием относительной и абсолютной эстрогении является существенным фактором развития гиперплазии. Вместе с тем для формирования более тяжелых типов ГЭ, в том числе и для развития атипии, скорее всего включаются другие механизмы, способствующие формированию и прогрессированию патологии.

Полученные в нашей работе результаты показали, что важным фактором развития гиперплазии эндометрия может быть формирование воспалительной реакции в эндометрии, причем морфологические признаки воспалительного процесса в эндометрии при обычном морфологическом исследовании были выявлены почти у 2/3 женщин с гиперплазией.

Боле углубленное исследование с определением уровня экспрессии общего лейкоцитарного антигена CD45 показали, что максимальный рост экспрессии CD45 отмечался при комплексной атипической гиперплазии (рис. 1). Если в тканях нормального эндометрия выявлялось не более пяти процентов клеток, экспрессирующих CD45 в строме, то при комплексной атипической ГЭ процент таких клеток составил более 50% ($p < 0,001$). Установлена выраженная зависимость

уровня экспрессии общего лейкоцитарного антигена, характеризующего пул воспалительной инфильтрации ткани эндометрия, в зависимости от типа гиперплазии.

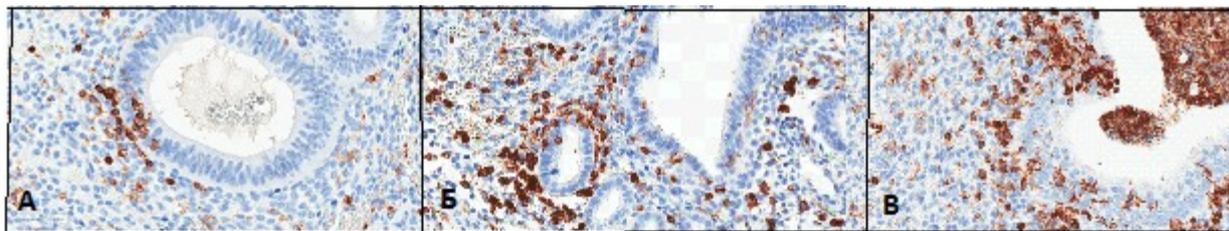


Рисунок 1. Фрагменты эндометрия женщины. Экспрессия CD45 в тканях эндометрия при простой (А), комплексной (Б) и комплексной с атипией (В) гиперплазиях эндометрия. Парафиновые срезы. ИГХ. Система визуализации En Vision FLEX+ . Ув. 400х. Нарастание экспрессии CD45 при прогрессировании гиперплазии.

Среди других факторов, отражающих степень выраженности и характер воспалительных изменений в эндометрии, показательно определение провоспалительных цитокинов (рис. 2). В нашем исследовании установлено, что в маточных смывах, то есть на локальном уровне, отмечается выраженный рост уровня цитокинов. Уровень ИЛ-1 β уже при простой ГЭ увеличивался более чем в три раза ($p < 0,05$) и достигал значений, превосходящих уровень контроля почти в пятьдесят раз ($p < 0,001$) при атипической форме гиперплазии. Прогрессивно увеличивался уровень ИЛ-6 и TNF- α , которые достигали максимальных значений при атипической гиперплазии, превышая контрольный уровень в пятнадцать ($p < 0,001$) и три раза ($p < 0,05$) соответственно. Причем содержание провоспалительных цитокинов в маточных смывах зависело только от типа гиперплазии и не зависело от фазы менструального цикла.

Другой важной системой, отражающей характер воспалительных изменений, и которая пристально изучена в работе, является система протеолитических ферментов и их ингибиторов. Следует отметить, что «протеиназы и их ингибиторы участвуют в регуляции множества различных функций организма и немаловажную роль играют в реализации репродуктивной функции женщин» [Aplin J.D., Ruane P. T., 2017; Grzechocińska B. et al., 2017], однако изучению их роли в этих процессах и развитии патологии уделяется явно недостаточно внимания. В настоящее время активно изучается «роль матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в развитии гиперплазии эндометрия, а также в возникновении и прогрессии злокачественных процессов в слизистой оболочке матки» [Cabral-Pacheco G. A. et al., 2020; Bassiouni W., Ali M., Schulz R., 2021].

В ходе проведенного исследования был показан рост протеолитической активности в маточных смывах на фоне потери контроля со стороны ингибиторов протеиназ (рис.3).

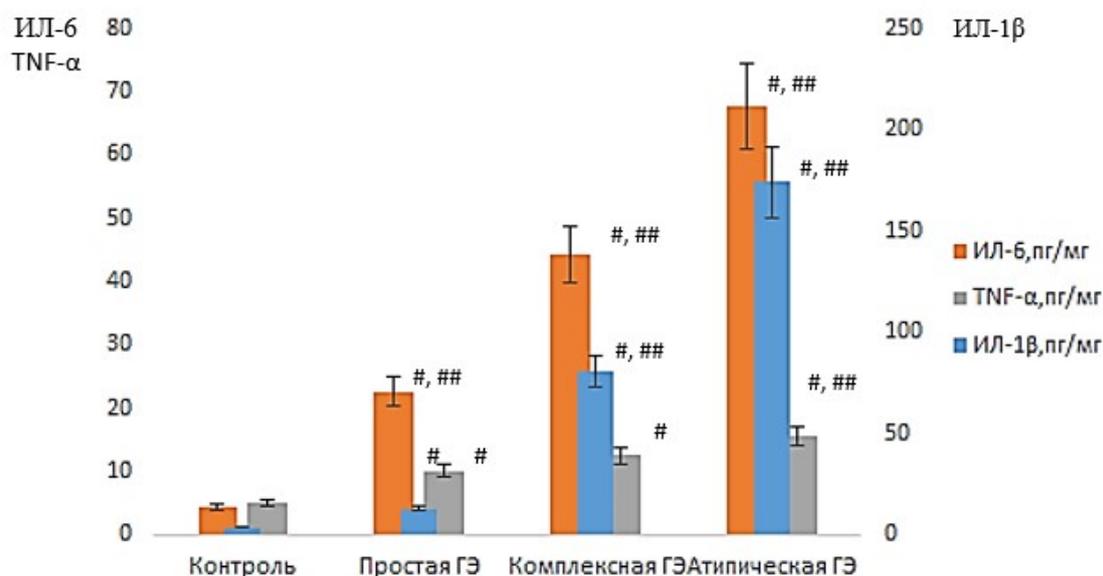


Рисунок 2. Различные виды гиперплазий эндометрия и уровень цитокинов в маточных смывах. Достоверность различий ($p < 0,05$) по отношению к контролю - #, по отношению к группе с простой ГЭ - ##.

Активность эластолитических ферментов при формировании ГЭ прогрессивно увеличивалась с максимальными значениями в 8-9 раз ($p < 0,001$) превосходящими контрольный уровень при обеих формах комплексной гиперплазии. Уровень трипсиноподобных протеиназ так же повышался в 2,5 - 3 раза ($p < 0,05$) при всех типах гиперплазий.

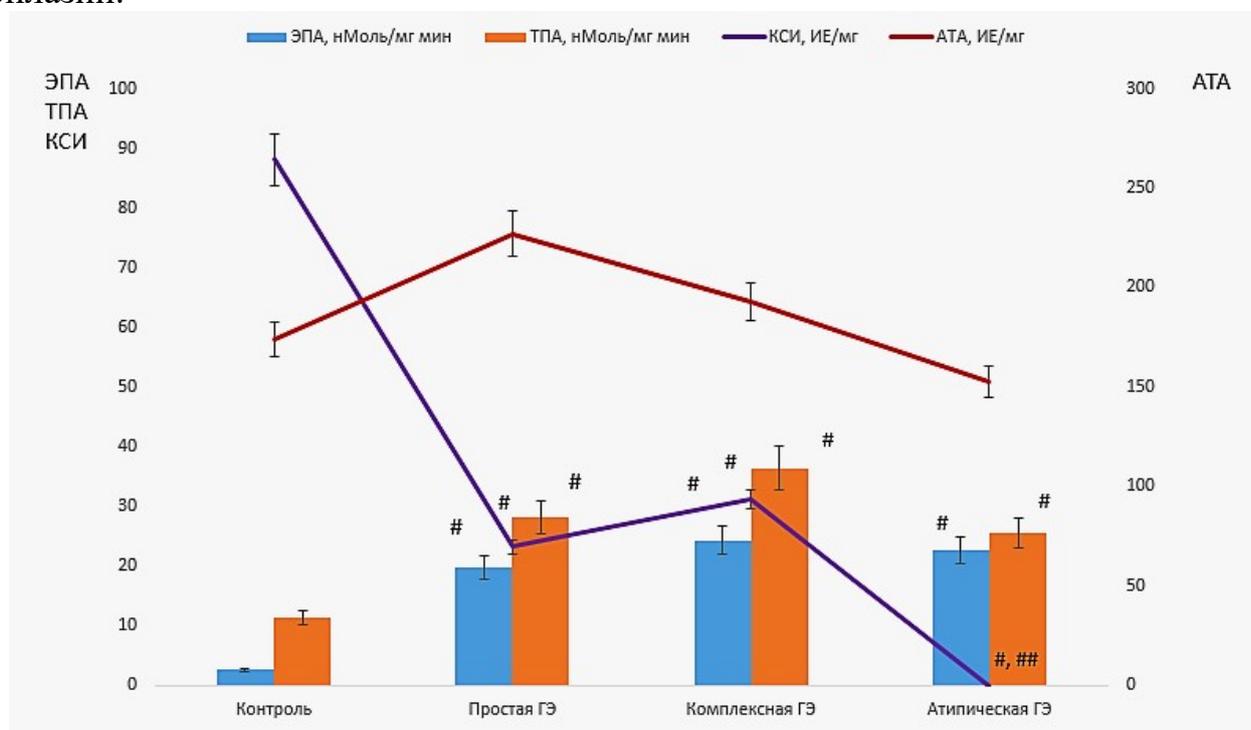


Рисунок 3. Различные виды гиперплазий эндометрия и активность неспецифических протеиназ и ингибиторов протеиназ в маточных смывах. Достоверность различий ($p < 0,05$ по отношению к контролю - #, по отношению к группе с простой ГЭ - ##).

На фоне роста в маточных смывах активности протеиназ, которые обладают выраженным деструктивным действием, АТА, характеризующая способность ингибировать трипсиноподобные протеиназы, существенно не менялась. При этом КСИ протеиназ, которые в большинстве своем секретируются тканями местно, снижались при ГЭ в 2-3 раза ($p < 0,01$) и падали до нулевых значений ($p < 0,001$) в маточных смывах при атипической гиперплазии. Данные изменения можно охарактеризовать, как развитие дисбаланса с увеличением активности протеиназ при абсолютном или относительном дефиците ингибиторов протеиназ.

Таким образом, проведенные исследования показали, что с точки зрения оценки патогенетических механизмов развития ГЭ, определение показателей протеиназ-ингибиторной системы внутриматочных смывов может дать ценную дополнительную информацию, характеризующую особенности течения патологии. В нашем исследовании показано, что интенсивный рост трипсино- и эластазоподобных протеиназ сопровождается снижением в первую очередь местносинтезируемых КСИ протеиназ, что подтверждает возможность участия данного механизма в деструкции тканей при гиперплазии.

Следует отметить, что развитие протеиназ-ингибиторного дисбаланса в тканях эндометрия при развитии патологии может иметь важное значение в оценке клинического течения заболеваний эндометрия. Дальнейшее изучение роли протеиназ-ингибиторных взаимоотношений может позволить подойти к пониманию роли изменений данных показателей при развитии воспалительных процессов, трансформации доброкачественного патологического процесса в сторону малигнизации и нарушений в тонких механизмах, участвующих в процессах оплодотворения.

Кроме того, в результате проведенного исследования на основе изучения маркеров апоптоза показано, что рост воспалительной реакции в эндометрии при атипической гиперплазии сопровождался существенным понижением экспрессии CD95 (рис.4) и неоднозначными реакциями Vcl-2 с увеличением окрашивания ядер в железах эндометрия, что больше можно трактовать как снижение готовности клеток эндометрия к апоптозу.

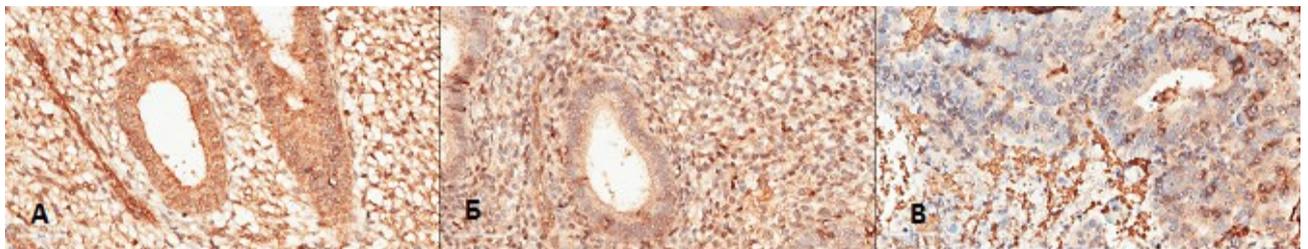


Рисунок 4. Фрагменты эндометрия. Парафиновый срез. Ув. 400х. ИГХ реакция с маркером апоптоза CD-95, визуализация в системе Bond Polymer Refine Detection System. А. Эндометрий без гиперплазии. Б. Простая гиперплазия. Интенсивная реакция в железах (3+) и в строме (3+). В. Аденокарцинома. Слабое низкоинтенсивное окрашивание более 75% клеток железистого эпителия и более интенсивное стромы (1+/2+).

Еще одной характерной особенностью изменений в тканях эндометрия при различных формах гиперплазий является активация фактора роста сосудов VEGF при более тяжелых формах гиперплазий, наиболее выраженного при атипической ГЭ. Причем в параллельных исследованиях установлена аналогичная картина изменений экспрессии VEGF, которая характеризовалась практически отсутствием эндотелиального фактора роста сосудов в здоровом эндометрии, увеличением при EIN и очень выраженным увеличением при развитии карциномы [Hassan WA, Ibrahim R., 2020].

Проведенное исследование демонстрирует, что воспалительные изменения в эндометрии при развитии гиперплазии зависят от типа ГЭ и нарастают по мере увеличения тяжести гиперпластического процесса. Можно предположить, что ГЭ ассоциируется с формированием и развитием воспалительного процесса, который способствует как поддержанию, так и возможному прогрессированию и трансформации гиперпластического процесса. Следует отметить, что в последнее время особое значение придается воспалению, ассоциированному с опухолевым ростом [Singh N. et al., 2019,], которое описано как один из общих признаков рака [Hanahan, D. 2022]. Полученные в нашей работе результаты свидетельствуют о важной роли воспаления в развитии гиперпластических процессов в эндометрии, которые можно трактовать с точки зрения формирования воспаления, ассоциированного с ГЭ.

Результаты проведенного исследования показывают, что определение уровня экспрессии CD45 в тканях эндометрия можно использовать в качестве чувствительного критерия формирования неспецифического воспаления в эндометрии и оценки степени его активности. Причем увеличение CD45 было также обнаружено при проведении экспериментальных исследований при моделировании ГЭ у мышей путем нокаута гена *Wdr13* [Singh S. et al., 2020]. В тоже время уровень локальной цитокинемии можно использовать в качестве критерия как для оценки характера гиперпластического процесса в эндометрии, так и для оценки эффективности проводимого лечения в случаях, когда сложно взять материал для ИГХ исследования.

Анализ полученных данных позволяет предположить, что воспаление может играть важную роль в формировании ГЭ (рис. 5). В результате проведенных исследований предложен термин «воспаление, ассоциированное с гиперплазией эндометрия», и воспаление при гиперплазии следует рассматривать в качестве терапевтической мишени при совершенствовании подходов к лечению гиперпластических процессов эндометрия.

Складывается представление, что при простых формах ГЭ развитие дисбаланса стероидных гормонов с абсолютным или относительным преобладанием эстрогенов действительно является пусковым фактором и ключевым механизмом развития гиперпластического процесса. На это указывает как относительная, пусть и не всегда выраженная, гиперэстрогемия, так и выраженное увеличение уровня половых гормонов в маточных смывах с преобладанием эстрогенов, показанное в нашей работе. При простой форме гиперплазии показано также существенное превалирование экспрессии эстрогеновых рецепторов как в строме, так и в железах эндометрия.

Однако происходящее в связи с гормональным дисбалансом ремоделирование тканей эндометрия сопровождается формированием воспалительного процесса. Причем выраженность воспалительных проявлений в тканях эндометрия увеличивается при нарастании морфологической перестройки эндометрия и при утяжелении клинического течения гиперплазии. Степень нарастания воспалительных изменений характеризует рост экспрессии рецепторов общего лейкоцитарного антигена CD45 в тканях эндометрия, увеличение уровня провоспалительных цитокинов, повышение активности неспецифических протеиназ и снижение уровня секреции местных КСИ протеиназ.



Рисунок 5. Патогенетическая схема участия воспалительной реакции и маркеров апоптоза в развитии гиперплазии эндометрия

При этом степень выраженности абсолютной или относительной гиперэстрогении нивелируется, отмечается прогрессивное снижение уровня экспрессии рецепторов к стероидным гомонам в тканях эндометрия, а при атипической форме гиперплазии можно даже отметить некоторое превалирование экспрессии рецепторов прогестерона, особенно выраженное в железистой ткани. В этой связи становится понятным, почему некоторые авторы указывают на эффективности применения терапии гестагенами при атипической ГЭ [Reed S. D. et al., 2010].

Следует отметить, что применение гормональной терапии при ГЭ, и особенно при лечении тяжелых форм комплексных гиперплазий, вызывает много вопросов. До конца неясно, при каких видах гиперплазий более целесообразно назначать те или иные препараты, в каких оптимальных сочетаниях можно их использовать, что может служить объективным критерием эффективности проводимой терапии, насколько

изменения гормонального фона и рецепции эндометрия отражают нормализацию гормонального статуса пациенток. Как показано в нашем исследовании, воспаление играет важную роль в развитии и прогрессировании ГЭ, однако применение противовоспалительной терапии при ГЭ ранее практически не изучалось, вследствие чего в протоколах лечения отсутствует указание на данный вид терапии. Более того, установленная в исследовании важная роль воспалительных изменений в развитии ГЭ может сказываться на формировании локальной гиперэстрогении и таким образом обуславливать возможную толерантность к гормональной терапии гиперпролиферативных процессов эндометрия.

В нашем исследовании проведена оценка эффективности применения различных гормональных препаратов при лечении комплексной ГЭ на основании определения изменений локального уровня гормонов, провоспалительных цитокинов и клеточных протеиназ. Наиболее оптимальный эффект в отношении нормализации уровня эстрогенов и прогестерона установлен при применении внутриматочной системы с левоноргестрелом. Наиболее существенное снижение уровня цитокинов и активности протеиназ было отмечено в группах с лечением аГн-РГ и комбинированными оральными контрацептивами. В этих группах выявлено 3-10 кратное снижение уровня цитокинов и 2-5 кратное снижение активности протеиназ.

Полученные результаты свидетельствуют, что наиболее существенный эффект нормализации уровня маркеров воспалительной реакции отмечался при применении аГн-РГ и КОК. Причем наиболее оптимальный эффект нормализации локального уровня эстрогенов и прогестерона отмечен при использовании внутриматочной системы с ЛНГ. Сопоставление результатов эффективности лечения женщин с неатипической ГЭ по изменению локального гормонального фона и локальных маркеров воспалительного процесса, гистологического анализа эндометрия через 3 месяца проведенной терапии и риска развития рецидивов гиперплазии показало, что в группах, в которых при проведении терапии максимально выражено снижение воспалительных изменений в эндометрии также отмечено достоверное снижение развития рецидивов гиперплазии на 21,4 % ($\chi^2 = 4,44$, $p = 0,0444$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Полученные в нашем исследовании результаты свидетельствуют, что оценка динамики показателей, таких как уровень экспрессии рецепторов общего лейкоцитарного антигена CD45, провоспалительных цитокинов, протеиназ и их ингибиторов в маточных смывах эффективно характеризует степень воспалительных изменений в эндометрии. Воспаление, ассоциированное с гиперплазией эндометрия, может играть существенную роль в процессах трансформации эндометрия и способствовать формированию более тяжелых форм гиперплазии. Кроме того, исследование воспалительных изменений в эндометрии можно рекомендовать в качестве дополнительных критериев эффективности лечения гиперпластических процессов эндометрия. Основываясь на данных критериях, исходя из эффекта подавления воспалительной реакции в тканях эндометрия и учитывая параметры нормализации локального гормонального фона можно заключить, что при лечении тяжелых форм ГЭ целесообразно использовать схему с применением агонистов Гн-РГ на первом этапе гормональной терапии с переходом на комбинированные контрацептивные препараты на втором этапе.

ВЫВОДЫ

1. При развитии ГЭ происходит изменение гормонального фона с развитием абсолютной или относительной гиперэстрогении, что проявляется увеличением экспрессии рецепторов к эстрогенам в строме и железах эндометрия при простой гиперплазии и сохранением высоких значений в железах при комплексной и атипической гиперплазии. На этом фоне повышение содержания эстрогенов и прогестерона в маточных смывах с относительным преобладанием эстрогенов указывает на формирования локальной гиперэстрогении, особенно выраженной с увеличением эстрадиола в 5 раз ($p < 0,001$) при простой ГЭ.

2. Локальная активация провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и TNF- α происходит при развитии ГЭ и их уровень, определяемый в маточных смывах, увеличивается от простой гиперплазии к комплексной, и достигает максимальных цифр, в 15-20 раз ($p < 0,001$) превосходящих уровень контроля, у пациенток с атипической гиперплазией.

3. Для комплексной ГЭ характерно существенное увеличение активности местных протеиназ в 5-10 раз ($p < 0,001$) и угнетение активности их ингибиторов в 2-3 раза ($p < 0,001$). Дисбаланс протеиназ-ингибиторного потенциала минимально выражен при простой ГЭ и максимально проявляется при атипической ГЭ, что указывает на потенциальную роль протеиназ в процессах ремоделирования и атипической трансформации эндометрия.

4. Формирование ГЭ сопровождается ИГХ выявляемым ростом экспрессии CD45 с ее прогрессивным увеличением до максимальных значений при комплексной гиперплазии с атипией ($p < 0,001$) (от $4,2 \pm 1,2$ % в норме, до $19,9 \pm 0,9$ % при простой гиперплазии и до $57,8 \pm 2,4$ при ГЭ с атипией), что позволяет говорить о развитии «воспаления, ассоциированного с гиперплазией эндометрия».

5. Усиление воспалительной реакции в эндометрии при атипической гиперплазии сопровождается существенным понижением экспрессии CD95 и неоднозначными реакциями Bcl-2 с увеличением окрашивания ядер в железах эндометрия, что можно трактовать как снижение готовности клеток эндометрия к апоптозу. Параллельно определяется активация фактора роста сосудов VEGF, экспрессия которого более выражена при атипической ГЭ.

6. Гистоморфологические изменения в эндометрии, динамика уровня местных стероидных гормонов, провоспалительных цитокинов, неспецифических протеиназ и их ингибиторов при различных вариантах гормональной терапии пациенток с комплексными ГЭ продемонстрировал оптимальную эффективность лечения при применении агонистов гонадотропин-рилизинг гормона с использованием комбинированных оральных контрацептивов на втором этапе гормонального лечения. При применении данного вида гормональной терапии максимально выраженное снижение воспалительных изменений в эндометрии сопровождалось достоверным на 21,4 % ($\chi^2 = 4,44$, $p = 0,0444$) снижением развития рецидивов гиперплазии в течение 12 месяцев наблюдения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение уровня эстрогенов и прогестерона в маточных смывах при ГЭ совместно с оценкой состояния рецепторов к стероидным гормонам в тканях эндометрия может быть дополнительным эффективным критерием оценки характера и степени гиперэстрогении.

2. Исследование уровня цитокинов, неспецифических протеиназ, их ингибиторов в маточных смывах и оценка лейкоцитарной инфильтрации эндометрия по уровню экспрессии CD45 объективно отражает степень воспалительных изменений в тканях эндометрия при гиперплазии и может быть предложено в качестве дополнительного критерия оценки прогноза ее течения и эффективности проводимой терапии.

3. При консервативном лечении тяжелых форм ГЭ на первом этапе лечения в качестве препаратов выбора наиболее оптимально использование агонистов Гн-РГ, а на втором этапе – применение комбинированных оральных контрацептивов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

* 1. Kubyshkin, A. V., Aliev, L. L., Fomochkina, I. I., Kovalenko, Y. P., Litvinova, S. V., Filonenko, T. G., Karapetian, O. V. Endometrial hyperplasia-related inflammation: its role in the development and progression of endometrial hyperplasia. *Inflammation research*, 2016. 65, 785-794.

* 2. Pathogenetic relationship of endometrial hyperplasia with aseptic nonspecific inflammatory process / O. V. Karapetyan, Ye. P. Kovalenko, S. V. Litvinova [et al.] // *New Armenian Medical Journal*. – 2019. – Vol. 13, No. 2. – P. 80-86.

* 3. Состояние локальных маркеров воспаления и апоптоза в эндометрии при гиперплазиях различной степени тяжести / О. В. Карапетян, И. И. Фомочкина, Е. Ю. Зяблицкая [и др.] // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. – 2020. – Т. 15, № 3. – С. 342-347.

** 4. Диагностика гиперпластических процессов эндометрия / Ю. К. Памфамиров, О. В. Карапетян, А. Г. Татевосян, Д. В. Тищенко // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2016. – Т. 19, № 2. – С. 119-122.

** 5. Карапетян О. В., Коваленко Е. П., Анисимова Л. В., Алиев Л. Л., Фомочкина И. И., Пучкина Г. Н., Кубышкин А. В. Маркеры воспаления и гормональный фон в маточных смывах при различных вариантах лечения женщин с неатипической гиперплазией эндометрия // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. – 2023. – Т. 13, № 4. – С. 27-34.

*** 6. Гиперплазия эндометрия и воспаление: механизмы формирования пролиферативных процессов / А. В. Кубышкин, Е. П. Коваленко, И. И. Фомочкина [и др.]. – Москва : Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа", 2023. – 112 с. – ISBN 978-5-9704-7867-7

7. Алиев, Л. Л., Коваленко, Е. П., Кубышкин, А. В., Литвинова, С. В., Карапетян, О. В., & Шувалов, О. Е. Патогенетическое значение ассоциированного воспаления при гиперплазии эндометрия. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*, 2013, (5-1), с.284-287.

8. Fomochkuna I., Kubyshkin A., Kovalenko E., Filonenko T., Bessalova E., Karapetyan O., Aliev L., Litvinova S. Intercellular interactions in the endometrial hyperplasia-related inflammation development. *Pathophysiology*, 2018, v.25/3, p.226

9. A. Kubyshkin, E. Kovalenko, O. Karapetyan, I. Fomochkina, E. Bessalova, T. Makalish, S. Litvinova Role of endometrial hyperplasia-related inflammation and apoptosis in atypical endometrial transformation *Gynecology & Obstetrics Case Report*. 2019, August, V.05., p.26.

10. Межклеточные взаимодействия в развитии воспаления, ассоциированного с гиперплазией эндометрия / О. В. Карапетян, Е. П. Коваленко, С. Л. Литвинова [и др.] // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. – 2020. – Т. 10, № 3. – С. 125.

11. Karapetyan O., Kubyshkin A., Kovalenko E., Ziablitskaya E., Golubinskaya E., Aliev L., Kubyshkin V., Podgorny G. The role of nonspecific inflammation and apoptosis in the pathogenesis of endometrial hyperplasia 9-th International Congress of Pathophysiology (Final Program and Abstract Book).-Belgrade.-2023.- p.107

12. Kubyshkin A., Kovalenko E., Karapetyan O., Zyablitskaya E., Fomochkina I. Nonspecific Inflammation and Apoptosis in the Pathogenesis of Endometrial Hyperplasia: Pathways for Therapeutic Futures The 9th International Congress of Gynaecology and Obstetrics (ICGO-2023). Book of Abstract.-Lisbon, Portugal.-2023.-p.10

13. А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина, Е. Ю. Зяблицкая, Т. П. Макалиш, К. А. Алиев, Е. П. Коваленко, О. В. Карапетян, Б. Д. Сеферов, Л. Л. Алиев, В. А. Кубышкин Роль воспаления в микроокружении опухоли для процессов малигнизации и прогрессии// *Клиническая патофизиология*. _2024.-т.30, №2.-с.64.

* Работы, опубликованные автором в рецензируемых научных журналах баз данных «Scopus» и «Web of Science»:

** Работы, опубликованные автором в рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК:

*** Монография

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- аГн-РГ – агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона
АТА – антитриптическая активность
ВКМ – внеклеточный матрикс
ВСЛ – внутриматочная система с левоноргестрелом
ГЭ – гиперплазия эндометрия
ИГХ – иммуногистохимия
ИЛ – интерлейкин
КОК – комбинированные оральные контрацептивы
КСИ – кислотостабильные ингибиторы
РЭ – рак эндометрия
ТПА – трипсиноподобная активность
УЗИ – ультразвуковое исследование
ЭПА – эластазоподобная активность
Bcl-2 – регулятор апоптоза – (англ. Apoptosis regulator Bcl-2) — внутриклеточный белковый фактор
CD – кластер дифференцировки
CD95 - Fas-рецептор или кластер дифференцировки CD95
EIN – (англ. endometrial intraepithelial neoplasia) – интраэпителиальная неоплазия эндометрия
ER- α , - β – рецептор эстрогена альфа, бета
PR – рецептор прогестерона
TNF- α (ФНО- α) – фактор некроза опухоли альфа
VEGF – фактор роста сосудов