

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
КЛИНИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЛИМФОЛОГИИ – ФИЛИАЛ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Королева Елена Георгиевна

**ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЫВОРОТОЧНЫХ
КОНЦЕНТРАЦИЙ РЯДА ЦИТОКИНОВ У РОССИЙСКИХ ЖЕНЩИН
ЕВРОПЕОИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ С МИОМОЙ МАТКИ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН
Коненков Владимир Иосифович

Новосибирск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	12
1.1 Этиопатогенез и генетическая предрасположенность к развитию миомы матки.	13
1.2 Состояние цитокиновой сети в сыворотке крови женщин с миомой матки.	21
1.3 Генетические факторы регуляции активности цитокинов.	31
1.4 Резюме.	36
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	37
2.1 Клиническая характеристика пациенток с миомой матки и контрольной группы.	37
2.2 Иммунологические методы исследования.	40
2.2.1 Выделение ДНК из периферической крови пациенток.	40
2.2.2 Микроанализ концентрации цитокинов и хемокинов.	41
2.2.3 Иммуноферментный анализ.	41
2.2.4 Типирование структуры генов цитокинов.	41
2.3 Методы статистического анализа данных.	42
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	44
3.1 Концентрации цитокинов и хемокинов в сыворотке крови женщин с миомой матки и контрольной группе.	44
3.1.1 Концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-12P70 и IFN γ) в сыворотке крови пациенток.	44
3.1.2 Концентрации противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-13, IL-1Ra) в сыворотке крови пациенток с миомой матки.	61
3.1.3 Сывороточные уровни факторов роста ангиогенеза (IL-5, IL-7, IL-9, FGF-p, G-CSF, VEGF и PDGF) у женщин с миомой матки.	64
3.1.4 Концентрации хемокинов CCL (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES и EOTAXIN) у женщин с миомой матки.	68

3.2 Баланс цитокинов, регулирующих активность воспаления, в сыворотке крови пациенток с миомой матки.	72
3.3. Распределение вариантов генов цитокинов IL1 (rs1143627), IL-4 (rs2243250), IL-6 (rs1800795), TNF- α (rs1800630, rs1800629, rs361525), IL-8 (rs4073), IL-10 (rs1800896, rs1800872), VEGF (rs3025039) среди здоровых женщин и пациенток с миомой матки. Анализ информативности комбинаций SNP генов в разработке персонализированных критериев прогноза генетической предрасположенности к развитию миомы матки.	84
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	117
ВЫВОДЫ.	118
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	120
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	123
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	146

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Миома (или лейомиома, фиброма) тела матки (ММ) является одним из наиболее распространенных доброкачественных моноклональных гормонозависимых новообразований миометрия, частота их выявления увеличивается у женщин с возрастом [4; 121]. Клиническими проявлениями ММ являются бесплодие, невынашивание беременности, спонтанные выкидыши и боль различной интенсивности [5]. Вариантов долгосрочного или неинвазивного лечения гормонозависимой ММ на сегодняшний день не существует из-за ограниченных знаний о молекулярных механизмах, лежащих в основе ее этиопатогенеза. При этом концепция генетической предрасположенности к развитию ММ является общепризнанной [15; 68].

Миома матки характеризуется нарушениями нормального течения пролиферативных процессов, приводящих к слабо контролируемым нарастаниям избыточной массы миометрия, что, вероятно, связано с нарушениями активности цитокинов, хемокинов и других ростовых и регуляторных факторов [166].

Особое внимание привлекают цитокины с выраженными провоспалительными и, как правило, с проангиогенными свойствами, которые способны вовлекать в системный процесс острофазные белки и клетки, участвующие в местном воспалении и способствующие неоангио- и васкулогенезу [74]. Самый важный аспект этиологии ММ – инициатор роста опухоли – остается неизвестным, хотя существуют ряд теорий туморогенеза. Согласно одной из них, увеличение уровня эстрогенов и прогестерона приводит к росту митотической активности миоцитов с формированием миоматозных узлов, увеличивая вероятность соматических мутаций [104]. Другая гипотеза предполагает наличие врожденной генетически детерминированной патологии миометрия у женщин с ММ, выраженной в увеличении количества эстрогеновых рецепторов [93; 142].

Правомочна также еще одна концепция – нарушение контроля за

процессами пролиферации, дифференцировки, биосинтеза и связанных с ними воспалением, неоангиогенезом, васкулогенезом, ремоделированием внеклеточного матрикса и фиброгенезом, которые регулируются суперсемейством сигнальных биомолекул – цитокинами, хемокинами и ростовыми факторами, образующими сложную регуляторную сеть с аутокринными и паракринными связями. При этом интенсивность продукции цитокинов находится под генетическим контролем [75; 100].

Степень разработанности темы диссертации

В цикле пилотных работ показаны изменения концентрации ряда цитокинов с про- и противовоспалительной активностью, хемокинов и факторов роста в сыворотке крови женщин с ММ репродуктивного возраста европеоидного происхождения, проживающих в Сибирском федеральном округе [19]. Роль полиморфизма генов ряда сигнальных молекул в патогенезе ММ привлекает внимание, при этом иммуногенетические исследования цитокинов и факторов роста у женщин с ММ единичны [47; 181]; в частности, изучена связь между полиморфизмом генов интерлейкинов и ММ в клинике [18].

Цель исследования

Для выявления конституциональных предикторов миомы матки провести сравнительный анализ характера ассоциированности сывороточных концентраций цитокинов, регулирующих активность воспаления и ангиогенеза, со структурами регуляторных фрагментов соответствующих генов у пациенток европеоидного происхождения с миомой матки и у женщин без миомы.

Задачи исследования:

1. Изучить концентрации цитокинов с про- и противовоспалительной активностью в сыворотке крови пациенток с миомой матки в зависимости от клинической манифестации, сопутствующего гинекологического статуса и проводимой гормонотерапии.

2. Определить концентрации ряда хемокинов в сыворотке крови пациенток с миомой матки и контрольной группы.
3. Построить графические модели корреляционных отношений исследуемых цитокинов в сравниваемых группах женщин.
4. Провести исследование распределения SNP генов про- и противовоспалительных цитокинов в сравниваемых группах женщин.
5. Провести анализ информативности и возможной прогностической значимости комбинированных SNP генов цитокинов в качестве признаков предрасположенности и резистентности российских женщин европеоидного происхождения к развитию миомы матки.

Научная новизна

Наличие ММ у российских женщин европеоидного происхождения, родившихся и проживающих в Сибирском федеральном округе, сопровождается нарушением баланса цитокинов и хемокинов в сыворотке крови с альтернативным характером воздействия на процессы воспаления и ангиогенеза, что свидетельствует о системном характере нарушений в цитокиновой сети. Степень и характер выявленных нарушений зависят от наличия патологии эндометрия и количества миоматозных узлов.

С помощью метода выделения максимальных взаимосвязей между признаками в корреляционном графе впервые получены три варианта корреляционных плеяд: группа корреляционных отношений, общих для здоровых женщин и пациенток с ММ, представленная шестью парами положительных корреляций (IL-1 – IL-6; IL-1 – IL-8; IL-4 – IL-10; IL-6 – IL-10; TNF- α – IL-1; TNF- α – IL-6) и две группы альтернативных корреляционных графов: одна характерна только для здоровых женщин (IL-1 – IL-4; IL-1 – IL-10; IL-4 – IL-6; IL-4 – TNF- α ; IL-6 – VEGF; IL-10 – TNF- α), а вторая группа специфична исключительно для пациенток с ММ (IL-6 – IL-8, TNF- α – IL-8 и IL-1 – VEGF).

Впервые изучен характер распределения полиморфных вариантов генов ряда исследованных цитокинов среди практически здоровых российских женщин

и пациенток с ММ, показавший значительные различия в распределении как генотипов, так и комбинированных генетических признаков в сопоставляемых группах женщин европеоидного происхождения. Впервые выявлены устойчивые позитивные связи гомозиготных генотипов TNF-238 GG и TNF-308 GG с IL17A-197 AA у пациенток с ММ относительно контрольной группы. Еще более выражена позитивная ассоциативная связь гомозиготной комбинации TNF-308 GG \ TNF-238 GG \ IL17A –197 AA среди пациенток с ММ. Обращает на себя внимание 4-кратное повышение частоты встречаемости этого гомозиготного варианта AA среди пациенток с ММ до величины 0,155 ($p = 0,0096$).

При оценке предполагаемой информативности выявленных изменений для возможного использования в клинической практике впервые установлено, что максимальной информативностью обладают такие признаки, как TNF-308 GG: TNF-238 GG: IL17-197 AA, который не выявлен ни в одном случае контрольной группы, но с высокой частотой выявляется среди пациенток с ММ ($OR = 12,22$; $p = 0,0003$). Специфичность выявления этого показателя составляет 100 %, а величина прогностического коэффициента достигает 13,3, что предполагает вероятность правильности прогноза 99,9 %. При этом среди негативно ассоциированных с ММ признаков таких показателей с сопоставимой информативностью и прогностической значимостью гораздо больше.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявленные изменения концентраций цитокинов и хемокинов у пациенток с ММ свидетельствуют о значительных и связанных с вариантами клинического течения отклонениях в функционировании элементов цитокиновой сети при доброкачественном опухолевом процессе в матке, что может являться признаками выраженных изменений в процессах воспаления и ангиогенеза. Характер выявленных изменений носит системный характер, что отражается в графических моделях взаимоотношений анализируемых регуляторных факторов. Выявленные изменения сопровождаются отклонениями в характере распределения SNP регуляторных участков генов анализируемых цитокинов, что свидетельствует о

вкладе этих признаков в генетическую предрасположенность к развитию ММ у части женщин. Ряд иммуногенетических признаков, со значительной частотой выявляемых преимущественно у пациенток с ММ, обладает высокой информативностью и специфичностью, что может быть использовано в клинической практике для выработки персонализированных прогностических критериев предрасположенности женщин к развитию ММ.

Методология и методы диссертационного исследования

Диссертационная работа выполнена на клиническом материале. Объектом исследования являлись пациентки с ММ и контрольная группа практически здоровых женщин сопоставимого возраста и аналогичного европеоидного происхождения. Предмет исследования – образцы крови, изученные с помощью иммуноферментного и иммуногенетического исследования. Концентрации 24 цитокинов и хемокинов в сыворотке крови оценивали методом проточной флюориметрии; генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP – single nucleotide polymorphism) проводили методом RT-PCR (Real-Time ПЦР). Результаты обработаны с помощью методов статистического и корреляционного анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. Миома матки у женщин сопровождается значительными изменениями концентраций про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, которые находятся в коррелятивных отношениях, со значительным смещением баланса в сторону преобладания активности провоспалительных и проангиогенных факторов.

2. В группе пациенток с миомой матки, по сравнению с контрольной группой, регистрируются отклонения в распределении частот полиморфных вариантов регуляторных участков генов исследованных цитокинов, что может являться одним из факторов генетической предрасположенности к развитию доброкачественного опухолевого роста в миометрии.

3. Некоторые комбинации ряда SNP генов TNF и IL-17 выявляются исключительно среди пациенток с миомой матки и не встречаются среди условно здоровых женщин, что можно использовать при разработке персонализированных прогностических критериев предрасположенности части российских женщин к развитию миомы матки.

Степень достоверности

Полученные результаты имеют высокую степень достоверности, которая подтверждается достаточным объемом клинического материала, тщательным клиническим анализом групп обследованных женщин; использованием современных методических приемов и высокоинформативных методов иммунологии и молекулярной генетики; высокотехнологичного оборудования и адекватных критериев для статистической обработки полученных результатов.

Апробация работы

Основные положения работы доложены в виде научных докладов на международных конференциях: «IEEE Cognitive Sciences, Genomics and Bioinformatics» (Новосибирск, 2020); «EndoDubai» (Дубай, 2024); «SIBIRCON» (Новосибирск, 2024).

Диссертационная работа апробирована на семинаре клинического отдела ФГБНУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиале ИЦиГ СО РАН и на заседании проблемной комиссии «Охрана здоровья детей и подростков» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2024, 2025).

Диссертация выполнена в рамках Государственного задания Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ ИЦиГ СО РАН (далее НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН), тема № 122022800132-1 и в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме

«Разработка и внедрение методов диагностики, лечения и реабилитации гинекологических заболеваний женщин в различные возрастные периоды и наблюдение беременных при осложнённом течении беременности», номер государственной регистрации 123121500001-2.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования используются в лечебной и диагностической деятельности отделений клиники НИИКЭЛ – филиала ИЦиГ СО РАН.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 10 статей в научных журналах и изданиях, включённых в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 8 статей в журналах категории К1, входящих в список изданий, распределённых по категориям К1, К2, К3, 9 статей в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования Scopus и Web of Science.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 218 источниками, из которых 193 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 24 таблиц и 3 рисунков.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проанализированы современные данные отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, выполнен набор клинического материала, проведено обследование и оперативное лечение пациенток, проведен забор крови, выделение ДНК и получение сывороток крови. Проведен анализ и статистическая обработка полученных результатов, сформулированы выводы и положения, выносимые на защиту.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Миома (лейомиома, фибромиома, фиброма) матки – гормонозависимое доброкачественное новообразование миометрия, являющееся наиболее распространенной опухолью (до 70 %) женщин во всем мире [213]. Миоматозные узлы, являясь моноклональными пролифератами трансформированных гладких миоцитов, могут быть одиночными или множественными, часто бессимптомными, но, несмотря на доброкачественный характер, у более 50 % пациенток они негативно влияют на качество жизни. Миома матки характеризуется коморбидностью [10; 13] и часто является показанием к гистерэктомии. Миоматозные узлы являются основной причиной гинекологических и репродуктивных дисфункций, варьирующихся от меноррагий, анемии и болей в области таза до бесплодия, привычного выкидыша и преждевременных родов [8; 68].

Опубликованы многочисленные исследования различных аспектов патогенеза миомы матки, тем не менее, на сегодняшний день у клиницистов не существует вариантов долгосрочного или неинвазивного лечения пациенток с миомой матки, как общепризнано – из-за неполных знаний о молекулярных механизмах, лежащих в основе этиологии и прогрессирования миомы [14; 104]. В данной главе обобщены последние достижения исследований миомы матки с акцентом на генетической предрасположенности к развитию патологии, состоянии цитокиновой сети в сыворотке крови в норме и при наличии миоматозных узлов, а также генетических факторах регуляции активности цитокинов. Развитие новых биомедицинских технологий, наиболее вероятно, будет опираться на редактирование клеточных процессов и достижения иммуногенетики.

1.1 Этиопатогенез и генетическая предрасположенность к развитию миомы матки

Среди факторов риска миомы матки выделяют роль нескольких факторов, как изолированных, так и их сочетаний [205]. Имеют значение раса, поздняя реализация репродуктивной функции, состояние перименопаузы, нулевой паритет, семейный анамнез миомы матки, артериальная гипертензия, некоторые особенности пищевого поведения. Кроме того, важны ожирение, дефицит витамина D, чрезмерно высокий уровень витамина E, изменение микробиома репродуктивного тракта, воздействие химических веществ, нарушающих работу эндокринной системы (например, фосфорорганических эфиров и пластификаторов, а также различные неблагоприятные воздействия окружающей среды в раннем возрасте). Индивидуальные и экологические факторы риска, связанные с курением табака и злоупотреблением алкоголем, так же могут способствовать формированию миомы матки. Сочетание факторов риска связано с более высокой вероятностью образования и развития миомы матки. С другой стороны, выделены «защитные» факторы при миоме матки, к ним на основе результатов статистических исследований отнесены комбинированные пероральные контрацептивы или инъекционный медроксипрогестерона ацетат в депо-форме, а также фактор курения у женщин с низкой массой тела и паритет [68].

Наиболее изученным и всеми признанным фактором риска развития миомы матки является расовая принадлежность. Распространенность миомы матки увеличена среди афроамериканок [94]. Однако зарегистрированная частота встречаемости, вероятно, занижена, поскольку нередко миоматозные узлы существуют бессимптомно и поэтому остаются недиагностированными. Только от 25 % до 30 % женщин сообщают о клинических симптомах миомы матки [206].

В большинстве случаев имеет значение сочетание нескольких факторов риска развития миомы матки. В первую очередь, отмечают значимое влияние возраста и расы – у 80 % афроамериканок в возрасте старше 50 лет имеется миома матки. Тяжесть симптомов, вызванных миомой матки, также имела тенденцию

быть выше среди афроамериканских женщин. Миома матки в 3 раза чаще встречается у афроамериканок по сравнению с женщинами белой расы [189]. Более высокая заболеваемость миомой матки у афроамериканских женщин может быть связана с более высокими концентрациями у них стероидных гормонов, а также с полиморфизмом генов, включая ген, кодирующий катехол-О-метилтрансферазу [34]. Однако этиология повышенной заболеваемости миомой матки у афроамериканских женщин до конца не выяснена, при этом не исключена более высокая интенсивность социального стресса [80].

Поздний репродуктивный возраст является значимым фактором риска развития миомы матки, особенно среди женщин в возрасте старше 40 лет, несмотря на то, что у женщин на стадии менопаузы уменьшаются размеры миоматозных узлов на фоне снижения уровня половых гормонов. У девочек препубертатного возраста эти опухоли не выявлены, а у подростков зарегистрированы лишь спорадические случаи. Однако факторы, участвующие в их развитии патологии в столь раннем возрасте, неизвестны, хотя в нескольких случаях у пациенток-подростков наблюдалась транслокация между хромосомами 12 и 14, что является подтвержденным фактором риска развития миомы матки [160]. Продemonстрирована обратная связь между паритетом и формированием миоматозных узлов, поскольку беременность сопровождается изменением режима воздействия стероидных гормонов и резким remodelированием миометрия [92].

Ожирение является значимым фактором риска развития миомы матки, что связано с гормональной и метаболической функциями жировой ткани, клетки которой синтезируют различные цитокины и факторы роста, участвующие в регуляции многих физиологических и патологических процессов, включая иммунитет и воспаление. Андрогены надпочечников в основном метаболизируются до эстрогенов ароматазой в жировой ткани. Ожирение и особенно избыток висцерального жира сопровождаются снижением выработки глобулина, связывающего половые гормоны, что влияет на гормональный баланс в организме [155].

Ожирение более распространено среди афроамериканцев по сравнению с другими расовыми и этническими группами населения, в частности, в США, что также способствует более высокому риску развития миомы матки у афроамериканок. Миома матки чаще встречается у женщин в постменопаузе с ожирением и у тех, кто получает заместительную гормональную терапию, а также у женщин с ожирением и диабетом 2 типа с инсулинорезистентностью [147].

Каждый килограмм избыточной массы тела коррелирует с повышенным риском развития миомы матки. Исследование, проведенное в США, показало, что женщины с миомой матки весят больше женщин без миомы матки. Более того, увеличение индекса массы тела (ИМТ) на одну единицу, более высокое соотношение талии к бедрам и процентное содержание жира в организме, превышающее 30 % [41], повышают риск развития миомы матки. Абдоминальный висцеральный жир также увеличивает этот риск [113].

Женщины, страдающие гипертонией, в 5 раз чаще заболевают миомой матки независимо от использования антигипертензивных препаратов, и более ранняя диагностика гипертонии является важным фактором. Образование узлов объясняют хронической деструкцией миометрия из-за увеличения кровотока и цитокинов, секретируемых поврежденными клетками миометрия [92].

Обсуждаемая во многих исследованиях роль дефицита витамина D неразрывно связана с другими факторами риска развития миомы матки. Так, почти 80 % афроамериканок страдают дефицитом витамина D по сравнению с 20 % женщин европеоидной расы [98]. Более высокий риск дефицита витамина D у афроамериканцев связан с более темной пигментацией кожи и уменьшением доступа к солнечному излучению, что приводит к повышенному риску развития миомы матки. Поскольку уровень витамина D в сыворотке крови пациенток с миомой матки намного ниже, это позволяет предположить, что витамин D может быть связан с патогенезом миомы матки [108].

Наряду с факторами риска развития миомы матки, выделены так называемые «защитные» факторы, способные снизить риск развития миомы матки, – это использование пероральных и инъекционных контрацептивов [62].

Поскольку противозачаточные средства повышают концентрацию эстрогена и прогестерона в организме, то в развитии миомы матки, по-видимому, участвуют и другие механизмы, и патогенез базируется не только на гормональных изменениях [76; 206].

Особое внимание в этиопатогенезе миомы матки уделяется генетике и эпигенетике, которые связаны с непосредственными механизмами инициации и прогрессирования опухолевого роста [139]. В последние годы геномные, генетические и эпигенетические исследования выявили несколько распространенных мутаций [166]. С помощью секвенирования были выявлены повторяющиеся и в значительной степени взаимоисключающие генетические изменения (так называемые драйверы), ответственные за формирование миоматозных узлов в миометрии.

В целом, идентификация различных мутаций, приводящих к миоме, позволила определить генетическую стратификацию этих опухолей с выделением как минимум 4-х молекулярных подтипов, вероятно, отражающих различные пути онкогенеза. При миоме матки обнаружено 4 основных драйверных мутации [120]. Среди них наиболее распространенными (45–90 % случаев миомы матки в зависимости от этнической принадлежности) являются соматические мутации в гене *Xq13*, кодирующем медиаторную субъединицу РНК-полимеразы II, или субъединицу медиаторного комплекса 12 – MED12 [146]. Кроме того, у пациенток с миомой матки наблюдались повторяющиеся делеции и перестройки хромосом 6p21, 7q22, 22q и 1p. Однако эти мутации сочетаются с другими генетическими изменениями, что позволяет предположить, что они представляют собой вторичные события, ограниченные субпопуляцией опухолевых клеток. Остальные случаи миомы матки объясняются генетическими изменениями, ведущими к сверхэкспрессии «high mobility group A» HMGA2, нарушению локуса COL4A5-COL4A6 и двуаллельной потере в белке, кодирующем фермент фумаратгидратазу цикла трикарбоновых кислот [205].

Субъединица медиаторного комплекса 12 (MED12) была идентифицирована как наиболее распространенная генетическая мутация при миоме матки, причем в

опухолях у женщин различного расового и этнического происхождения, что указывает на то, что MED12 является доминирующим универсальным фактором развития миомы матки [91]. Тем не менее, данные метаанализа [170] показывают, что мутации MED12 чаще встречаются у женщин африканского происхождения, чем у женщин других рас. Комплекс MED12 представляет собой транскрипционный регулятор из 26 субъединиц, который соединяет регуляторные последовательности ДНК с комплексом инициации РНК-полимеразы II [145]. Специфичность мутаций MED12 к миоме предполагает, что мутировавший MED12 может быть терапевтической мишенью [152].

Помимо доказательства высокой частоты встречаемости, несколько дополнительных результатов позволяют предположить, что мутации MED12 являются истинными движущими силами миоматозной трансформации. Так, целевая экспрессия мутантного трансгена MED12 в матке мышей оказалась достаточной для индукции образования узлов в миометрии, обеспечивая прямое генетическое доказательство причинно-следственной связи заболевания [144].

Хотя генная основа высокочастотных мутаций MED12 при миоме матки остается неясной, не вызывает сомнения то, что однажды возникнув эти мутации взаимодействуют с дополнительными компонентами окружающей среды, включая гормональные, ангиогенные и регуляторные факторы роста, стимулируя прогрессирование опухоли [137].

Для выявления взаимосвязей между наличием мутации MED12 и характеристиками узлов миомы, а также клиническими особенностями пациентки, был применен комплексный молекулярный и клинический анализ. Показано, что мутации MED12 имеют корреляционные связи с меньшим размером, традиционной гистологией опухоли и увеличением количества узлов в матке. Так, миоматозные узлы, в которых отсутствуют мутации MED12, характеризуются более крупными размерами [185]. Мутации MED12 положительно коррелируют с субсерозной (по сравнению с интрамуральной) локализацией и обратно коррелируют с паритетом [151]. Наблюдение о том, что миома матки с положительной мутацией MED12 связана с субсерозным

расположением, подтверждено еще в одном крупном ретроспективном исследовании [180], включившем 361 образец узлов 234 пациенток после миомэктомии, средний возраст которых составил 34 года, и также показавшем, что частота мутаций MED12 при миоме матки у женщин фертильного возраста сопоставима с женщинами в перименопаузе.

Важно отметить, что миома матки с положительной мутацией MED12 по сравнению с опухолями без мутации MED12 демонстрирует явно большую клеточную гетерогенность. В этом отношении миоматозный узел, хоть исходно моноклональный, тем не менее, гетерогенный по клеточному составу и состоит преимущественно из трансформированных гладких миоцитов и фибробластов, а также менее многочисленных сосудистых гладкомышечных клеток, эндотелиоцитов и клеток инфильтрата. В экспериментальном материале показано, что опухоли с мутацией MED12 по сравнению с опухолями MED12-WT, сверхэкспрессирующими негистоновые белки хромосом HMGA (об этом генетическом факторе речь далее), содержат значительно больше коллаген-продуцирующих опухолеассоциированных фибробластов, которые также вносят весомый вклад в избыточные уровни компонентов внеклеточного матрикса [28; 65].

Примечательно, что только трансформированные гладкие миоциты подвержены мутации MED12, что указывает на предшествующую дивергенцию от общего предшественника до приобретения специфичных для типа клеток мутаций, или, по другой версии, на внеопухолевое происхождение опухолеассоциированных фибробластов. Одна из экспериментальных работ показала, что в культивируемых *in vitro* опухолях с мутацией MED12 гладкомышечные клетки растут в ответ на прогестерон, который не влияет на опухолеассоциированные фибробласты, которые вместо этого растут в ответ на эстрогены [178]. Тот факт, что миома матки с положительной мутацией MED12 содержит одинаковое количество гладкомышечных клеток и опухолеассоциированных фибробластов, которые по-разному реагируют на стероидные гормоны, может объяснить удивительное наблюдение о том, что

эстрогены сами по себе могут ослаблять регрессию, но не способствовать росту прогестерон-зависимых ксенотрансплантатов опухоли с мутацией MED12 [57]. Наличие опухолиассоциированных фибробластов, по-видимому, может также объяснить быстрое исчезновение гладкомышечных клеток с мутацией MED12 из первичных культур миомы матки. Таким образом, мутантные клетки MED12 с дефицитом роста могут быть подавлены опухолиассоциированными фибробластами, для которых изначально были оптимизированы стандартные условия культивирования.

Никакой связи между мутациями MED12 и бесплодием пациенток, курением, ИМТ, воспалительными заболеваниями органов малого таза и хламидиозом, гипертонией, заболеваниями щитовидной железы, диабетом, применением пероральных контрацептивов или семейным анамнезом миомы матки не выявлено [151]. В целом, эти данные подтверждают значимость мутаций драйвера MED12 в патогенезе и клинической картине миомы матки.

Еще один доказанный генетический фактор у 40–50 % пациенток с миомой матки – сверхэкспрессия «high mobility group A» (HMGA2) [47]. Избыточная экспрессия HMGA2 является вторым по распространенности генетическим фактором миомы после MED12 [112]. Это семейство белков включает в себя родственные негистоновые хромосомные белки HMGA1 и HMGA2, которые регулируют транскрипцию путем изменения структуры хроматина [59; 102]. Уровни экспрессии HMGA2 повышены в миоматозных узлах по сравнению с миометрием: так, анализ 20 образцов миомы с помощью ПЦР выявил сверхэкспрессию мРНК HMGA2 по сравнению с тканями миометрия [112]. Миома матки с абберациями HMGA2 демонстрирует значительную активацию протоонкогенного гена плеоморфной аденомы 1 (PLAG1), что позволяет предположить, что HMGA2 запускает патогенез миомы матки посредством активации гена PLAG1 [119].

В целом, MED12 и HMGA2 являются двумя наиболее распространенными в популяции генами, способствующими росту до 80–90 % всех лейомиом [119]. Наряду с этим, существуют противоречивые данные о взаимосвязи между

HMGA2 и MED12. В то время как одно исследование, проведенное [143], продемонстрировало, что сверхэкспрессия HMGA2 была обнаружена только в миоматозных узлах без мутации MED12, в другой работе обнаружено, что избыточная экспрессия HMGA2 и мутации MED12 часто сосуществуют [112]. Необходимы дальнейшие исследования о том, каким образом HMGA2 и MED12 способствуют онкогенезу в миометрии - независимо или в тандеме [107].

Еще две значимые для миомы мутации: одна из них – в кодирующем субстрат инсулинового рецептора-4, локализованном рядом с COL4A5, является одним из доказанных экспрессируемых генов при одном из подтипов миомы матки. Делеции в гене COL4A5/COL4A6 являются редким подтипом, составляющим около 2 % случаев миомы матки [182]. А также мутации фумаратгидратазы на хромосоме 1 также были обнаружены при миоме матки. Дефицит этого фермента обнаруживают в 1,6 % случаев миомы матки, наиболее заметно увеличивая экспрессию генов, участвующих в гликолизе, а также активируя гены-мишени ядерного фактора 2 – NRF2 [119].

Наряду с генетическими факторами, в патогенезе миомы матки важна эпигенетика – т.е. фенотипические модификации, вызванные изменением экспрессии генов, которые не вызваны изменениями в последовательности ДНК. Существует три основных механизма эпигенетической регуляции: а) метилирование ДНК, опосредованное ДНК-метилтрансферазами, а также активное и пассивное деметилирование ДНК, б) модификация гистоновых белков и в) микроРНК [93; 193].

Аберрантное метилирование ДНК, связанное с аберрантной экспрессией генов, является одной из отличительных характеристик миомы матки. Обнаружено десять генов – ALX1, CBLN1, CORIN, DUSP6, FOXP1, GATA2, IGLON5, NPTX2, NTRK2 и STEAP4, которые гиперметилированы, в то время как два гена – PART1 и PRL – гипометилированы [114]. Несколько генов были вовлечены в опухолегенез миомы посредством исследования метилированных или деметилированных участков ДНК. Деметилирование приводит к повышенной экспрессии генов, тогда как метилирование приводит к снижению экспрессии

генов. Так, деметилирование гена HMGA2 связано с повышенной экспрессией HMGA2 [120]. Таким образом, онкогенез не может быть объяснен исключительно генетическими изменениями, поскольку в него вовлечены и эпигенетические процессы. Вся эпигенетика, вовлеченная в регуляцию активности генов, включая метилирование ДНК, модификацию гистонов, некодирующую РНК, нарушена в патогеномике миомы матки.

1.2 Состояние цитокиновой сети в сыворотке крови женщин с миомой матки

В патогенезе миомы матки участвует системная и местная хроническая воспалительная реакция активированных клеток иммунной системы. Достаточно давно были проведены исследования, показавшие, что иммунные клетки и секретируемые ими цитокины и хемокины могут влиять на развитие миомы матки и микроокружение опухоли [35]. По современным представлениям, в миометрии в условиях хронического системного воспаления реакции иммунитета обостряются, тем самым напрямую или косвенно индуцируя пролиферацию трансформированных клеток будущих миоматозных узлов и фиброз, которые лежат в основе формирования и роста опухоли. Были проведены многочисленные исследования с акцентом на молекулярных событиях и сосредоточением внимания на медиаторах воспаления, продуцируемых различными клетками. При миоме матки обнаружено изменение содержания значительного количества цитокинов и хемокинов с провоспалительными и профибротическими свойствами [56; 75].

Цитокины – это белки с низкой молекулярной массой ($\approx 6\text{--}70$ кДа), секретируемые лимфоцитами, макрофагами, натуральными киллерами (NK-клетками), тучными и стромальными клетками, которые участвуют в иммунном ответе и действуют как важные медиаторы в коммуникационной сети иммунной системы. Содержание факторов роста и цитокинов частично регулируется стероидными гормонами яичников, играющими решающую роль в формировании и росте миомы матки. Цитокины отвечают за динамическую

регуляцию созревания, роста и реагирования иммунных клеток и являются важными детерминантами биологических процессов в организме в условиях нормы и патологии [27].

Характеристика инфильтрирующих узлы и циркулирующих в крови иммунных клеток у женщин с миомой матки представлена в научных исследованиях [196; 201]. В миоматозных узлах и в окружающем их миометрии обнаружено больше CD68-позитивных макрофагов, чем в визуально интактном миометрии на расстоянии не менее 1,5 см от капсулы узла; при этом никаких различий в количестве CD45-позитивных лейкоцитов и тучных клеток не наблюдалось [159]. К тому же, уровни белков иммунного контроля PD-L1 были повышены при миоме матки по сравнению с перифокальным миометрием [161]. Исследование образцов крови продемонстрировало, что у пациенток с миомой матки по сравнению со здоровыми женщинами количество циркулирующих CD4+CD8+Т-клеток, регуляторных Т-клеток (Treg, CD4+) и Т-хелперных клеток было заметно увеличено, тогда как количество натуральных киллеров (NK) и дельта-гамма ($\gamma\delta$) Т-клеток (CD4-CD8-) было снижено [58].

Один цитокин может секретироваться различными клетками инфильтрата и стромы и может действовать на несколько типов клеток, вызывая широкий спектр биологической активности [175]. К цитокинам относят факторы некроза опухоли (TNF), интерлейкины (IL), лимфокины, монокины, интерфероны (IFN), колониестимулирующие факторы и факторы роста [183]. В зависимости от секретирующих их клеток цитокины классифицируют на ряд категорий: цитокины типа 1, продуцируемые CD4+ Т-хелперами 1 (Th1): IL-2, IL-12, IFN- γ и TNF- β ; и цитокины типа 2, продуцируемые CD4+ Th2 клетками: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13 [175].

В зависимости от их эффектов на клетки-мишени цитокины также можно классифицировать как провоспалительные или противовоспалительные. Провоспалительные цитокины, включая IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α и интерфероны, среди прочих, способствуют воспалительным реакциям и стимулируют иммунокомпетентные клетки. Напротив, противовоспалительные

цитокины, такие как IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13, антагонист рецептора IL-1 (IL-1RA) и TGF- β , подавляют иммунные клетки и уменьшают воспаление [39].

Воспалительный ответ контролируется, в первую очередь, цитокинами, которые вызывают реакцию острой фазы для защиты от раздражения, травмы и инфекции. Эта реакция начинается с высвобождения провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ и TNF- α из клеток одного типа или из разных клеток. Кроме того, эти цитокины могут попадать в системный кровоток, вызывая активацию иммунных клеток и значительные изменения в физиологическом статусе, такие как лихорадка и реакция острой фазы [150].

Провоспалительные цитокины, высвобождаемые макрофагами, имеют решающее значение для защиты от инфекции. Макрофаги являются первой линией защиты, играя важную роль в иницировании адаптивных иммунных реакций, высвобождая при этом несколько провоспалительных цитокинов, включая IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, IFN- α/γ и TNF- α . Соответственно, эти цитокины также напрямую вызывают воспалительную активность в макрофагах: IL-1 оказывает прямое цитостатическое и цитотоксическое действие *in vitro*; IL-6 считается основным медиатором иммунных и воспалительных реакций; IL-12 усиливает реакцию Т-клеток; а интерфероны опосредуют защиту от вирусной инфекции. Эти цитокины представляют собой сеть, поскольку они координированно высвобождаются из активированных макрофагов и модулируют иммунный ответ [75].

Чрезмерная провоспалительная реакция может привести к хроническому воспалению и нарушить биологический гомеостаз, вызывая патологические процессы, старение и заболевания, связанные со старением [33]. Во время роста и распространения опухолей провоспалительные цитокины, такие как IL-1, IFN- γ и TNF- α , индуцируют хемокины, которые привлекают нейтрофилы, которые являются ключевыми факторами в образовании активных форм кислорода и канцерогенезе [79]. Кроме того, провоспалительные цитокины индуцируют молекулы адгезии и металлопротеиназы, которые допускают специфические механизмы инвазии опухоли.

В отличие от них, противовоспалительные цитокины представляют собой ряд иммунорегуляторных молекул, которые подавляют избыточную воспалительную реакцию провоспалительных цитокинов, например, антагонисты рецепторов IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13 и TGF- β . Так, IL-10 является мощным противовоспалительным цитокином с иммунорегуляторными функциями, который подавляет выработку нескольких провоспалительных цитокинов. IL-10 также оказывает противовоспалительное действие на эозинофилы, базофилы и тучные клетки и, таким образом, играет важную роль при аллергизации [89]. Определенные противовоспалительные цитокины могут эффективно подавлять артрит, воздействуя на врожденный иммунитет или препятствуя активации В- или Т-лимфоцитов [37].

Важно отметить, что некоторые цитокины оказывают плеiotропные эффекты, например, IL-6, обладающий как про-, так и противовоспалительными свойствами. IL-6 вырабатывается активированными макрофагами и другими иммунными клетками при воспалении. Одновременно с этим, IL-6 подавляет дифференцировку Th1-лимфоцитов (клеточный иммунный ответ) и способствует дифференцировке Th2-лимфоцитов и активации В-клеток, что приводит к доминированию гуморального иммунного ответа [165].

При связывании IL-6 с его рецептором IL-6R, образуется комплекс IL-6-IL-6R, который далее в рамках внутриклеточной передачи сигналов связывается с gp130, или сигнальной субъединицей β IL-6R. Путь JAK/STAT и сигнальный каскад RAS-зависимой митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) являются основными путями, участвующими в передаче этого сигнала в клетке. Активация внутриклеточной сигнализации gp130 также запускает отрицательную обратную связь через супрессор цитокиновой сигнализации 3, что в конечном итоге приводит к прекращению передачи сигнала [165].

Помимо иммунных реакций, плеiotропный цитокин IL-6 участвует в воспалении, кроветворении, эмбриональном развитии и других процессах. Семейство этого цитокина включает в себя также IL-11, IL-27, онкостатин М (OSM), цилиарный нейротрофический фактор (CNTF), ингибирующий лейкоз

фактор (LIF), кардиотрофин 1 (СТ-1), кардиотрофиноподобный цитокиновый фактор 1 (CLCF1) [111]. Применительно к патогенезу миомы матки, важно отметить, что IL-6 способствует увеличению биосинтеза коллагеновых белков матрикс-продуцирующими клетками. Так, в клетках миоматозных узлов IL-6 активирует STAT-3 и увеличивает количество структурного коллагена-1 внеклеточного матрикса, в то время как в клетках миометрия существенного эффекта IL-6 не обнаружено [141]. Использование модуляторов JAK/STAT-3 в трансформированных миоцитах также значительно влияло на продукцию коллагена 1-го типа. Кроме того, наблюдалось увеличение синтеза гликопротеина фибронектина в ответ на модуляторы JAK/STAT-3. Сообщалось также, что выработка коллагена в перитонеальной ткани человека сильно стимулируется инъекцией IL-6 [127].

Один и тот же цитокин может секретироваться разными клетками и иметь как провоспалительную, так и противовоспалительную активность в зависимости от микроокружения и состояния цитокиновой сети, вызывая множественные иммунные реакции. Следовательно, динамический и постоянно меняющийся баланс между про- и противовоспалительными цитокинами играет важную роль в иммунной системе, опосредуя и модулируя воспаление и другие процессы в организме, в т. ч. аутоиммунные. Провоспалительные цитокины способствуют инициированию и персистенции аутоиммунного воспаления, тогда как противовоспалительные цитокины способствуют регрессии воспаления и затуханию острых фаз аутоиммунного заболевания [149].

В целом, принимая во внимание врожденный и адаптивный иммунитет, как провоспалительные, так и противовоспалительные цитокины имеют важное биологическое и клиническое значение для дифференцировки и активации иммунных клеток, воспаления, ангиогенеза, онкогенеза, старения и других процессов в организме.

В инициации и прогрессировании миоматозного процесса в миометрии играют роли различные факторы роста: сосудисто-эндотелиальный (VEGF), эпидермальный (EGF), гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста

(HB-EGF), тромбоцитарный (PDGF), инсулиноподобный (IGF), трансформирующие факторы роста TGF- α и TGF- β , а также факторы роста фибробластов (FGF) [207]. Для регуляции роста узлов важны и другие сигнальные молекулы, что было показано достаточно давно. Поскольку уровень мРНК моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP-1) выше в миометрии по сравнению с узлами, и т. к. эстрогены и прогестины снижают выработку белка MCP-1, было сделано предположение, что MCP-1 может обладать противоопухолевой активностью при лейомиоме [174].

Наиболее важными характеристиками трансформированных миоцитов и опухолеассоциированных фибробластов миоматозных узлов, по современным представлениям, является высокая способность к пролиферации и синтезу коллагеновых белков; кроме того, описаны изменения в иммунном микроокружении [121].

Поскольку формирование миоматозных узлов в наибольшей мере свойственно женщинам в позднем репродуктивном и перименопаузальном возрасте, то клеточный инфильтрат миометрия можно рассматривать как присущий возраст-зависимым физиологическим и патологическим процессам, в частности, старению и связанному с ним секреторному фенотипу иммунных клеток (SASPs). В результате SASPs считается одними из основных факторов развития миомы матки [166]. Наиболее заметными проявлениями SASPs, связанными со старением, являются повышенная выработка интерлейкинов IL-6, IL-8, IL-1, хемокинового лиганда 20 (CCL-20) и трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β). При старении изменяются синтез и деградация коллагена, что влияет, в том числе, на характеристики спаечного процесса [81].

Считается, что SASP индуцируют миому, влияя на иммуносупрессию, главным образом через лиганд запрограммированной смерти 1 (PD-L1) и синтез коллагена. Белок запрограммированной клеточной гибели 1, т. е. PD-1 был идентифицирован как ген, ассоциированный с апоптозом, в ходе сортировки Т-клеток в тимусе [31]. PD-L1 экспрессируется на Т-, В-, миелоидных клетках и натуральных киллерах (NK) [110]. Т-лимфоциты, экспрессирующие PD-1, являются

уникальными в развитии признаков клеточного старения как в условиях *in vivo*, так и *ex vivo*. Это связано со снижением перехода G1/S-фазы клеточного цикла и экспрессии белка p16INK4a в Т-клетках, которые в норме часто активируются. Кроме того, было продемонстрировано, что эти Т-клетки накапливают повреждения ДНК и иницируют сигнальный путь p38MAPK, что приводит к избирательной сверхэкспрессии p16INK4a и гибели [156].

При наличии инфекции и воспаления IL-8, как один из основных компонентов секреторного фенотипа SASP, играет роль в хемоаттракции нейтрофилов. Интерлейкин-8 (называемый также хемокином IL-8 (CXCL8)) является фактором, способствующим прогрессированию опухолей с помощью нескольких механизмов, включая (а) стимулирование транспортировки иммуносупрессивных клеток в микроокружение опухоли, (б) стимулирование «мезенхимализации» опухоли и (в) повышение выживаемости популяций трансформированных стволовых клеток внутри опухоли [117].

Один из элементов секреторного фенотипа, IL-8 обладает несколькими функциями для развития возраст-зависимых и других патологических процессов. IL-8 индуцирует биосинтез коллагеновых белков в стромальных клетках; в эксперименте IL-8 увеличивал межклеточную коммуникацию через щелевые соединения в культивируемых фибробластах и индуцировал ускоренное созревание грануляционной ткани [88].

Наряду с этим, IL-8 способствует привлечению в опухоль иммуносупрессорных клеток миелоидного происхождения, которые оказывают подавляющее действие на противоопухолевый иммунитет. Эффекты цитокина в этих опухолях можно разделить на прямое и косвенное воздействия. IL-8 оказывает прямое влияние на опухоли, изменяя характеристики самих опухолевых клеток, либо стимулируя пролиферацию, либо заставляя клетки приобретать мигрирующий или мезенхимальный фенотип. IL-8 также модифицирует опухолевое микроокружение (косвенное воздействие), стимулируя рост и распространение опухоли. Привлекая больше иммуносупрессорных клеток для инфильтрации, IL-8 модулирует микроокружение и способствует ангиогенезу в

опухоли [101].

Семейство IL-1 включает в себя 10 рецепторов и 11 цитокинов; из них наиболее исследованными представителями семейства являются IL-1 β и IL-18. Антагонист рецептора IL-1 (IL-1Ra) и антагонист рецептора IL-36 (IL-36Ra) являются двумя специфическими членами этой группы из четырех противовоспалительных цитокинов, в то время как IL-37 и IL-38 неспецифичны и обычно снижают врожденный иммунитет [123].

IL-1, как один из основных SASP, индуцирует эффекты PD-L1. Терапия антителами к PD-L1 усиливает противомеланомную активность [116]. Нейтрализация IL-1 β резко повышает противоопухолевую эффективность анти-PD-1 и была связана с усиленной опухолевой инфильтрацией CD8⁺ Т-клеток в исследованиях с использованием животных моделей [217].

Одним из эффектов IL-1 является увеличение синтеза коллагена. Стимулируя синтез IL-6 и фактора роста тромбоцитарного происхождения (PDGF), IL-1 α может стимулировать пролиферацию фибробластов и образование коллагена у пациенток с системным склерозом [216].

Хемокиновый лиганд 20 (CCL20), Exodus-1 и воспалительный белок макрофагов-3 α экспрессируются в различных тканях человека и иммунных клетках, при этом печень, легкие и лимфатические узлы являются основными объектами изучения. CCL20 секретируется эндотелиальными клетками, нейтрофилами, клетками Th17, В-клетками, NK-клетками, дендритными клетками и макрофагами [134; 166]. При раке толстой кишки, молочной железы и предстательной железы – среди других видов рака – многочисленные исследования идентифицировали CCL20 и его рецептор CCR6 как прогностические маркеры и возможные мишени для вмешательства. Продукция опухолевыми клетками CCL20 способна трансформировать клетку в более злокачественную форму [55].

Хемокиновый лиганд 20, как один из основных компонентов секреторного фенотипа иммунокомпетентных клеток при старении (SASP), индуцирует эффекты PD-L1. Например, при раке молочной железы ассоциированные с

опухолью нейтрофилы, активированные опухолевым CCL20, способствуют иммуносупрессии Т-клеток посредством лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1) [202]. Снижение экспрессии CCL20 способствовало ответу пациентов на терапию, направленную против PD-L1, предотвращая пагубное влияние повышенного уровня TGF- β на выживаемость при раке легкого [55]. А при раке шейки матки группа с избыточной экспрессией CCL20 имела повышенное соотношение M2 / M1, меньше CD8⁺ Т-клеток, меньшую экспрессию CD107a и большую экспрессию PD-1 CD8⁺ Т-клеток, при этом Tregs не показали существенной разницы [70].

Относительно миоматозного процесса, хемокиновый лиганд 20 увеличивает синтез коллагена. Экспрессия гена коллагена I типа и белка эффективно подавляется нокдауном гена siRNA CCL20. Более того, толщина стромы и синтез коллагена I типа были снижены в самоорганизующихся эквивалентах кожи, когда ген CCL20 в фибробластах был подавлен [54].

TGF- β 1, один из основных компонентов SASP, усиливает эффекты PD-L1. Уровни опухолевого TGF- β и циркулирующее экзосомное содержание PD-L1 в значительной степени связаны [198]. В одном из исследований представлены доказательства, что пациентам с распространенным немелкоклеточным раком легкого может быть полезна иммунотерапия против PD-1, если у них более высокие уровни TGF- β [162].

TGF- β 1 контролирует несколько клеточных механизмов, которые изменяют микроокружение опухоли. TGF- β 1 регулирует фундаментальные процессы иммунного гомеостаза, заживления ран, васкулогенеза и развития клеток и тканей [77]. TGF- β функционирует как иммуносупрессивный цитокин, который способствует пролиферации иммунных клеток, дифференцировке, индукции толерантности и гомеостазу [32; 171]. Макрофаги M2 экспрессируют более высокие уровни TGF- β и других противовоспалительных цитокинов. Под влиянием TGF- β усиливается синтез коллагена [185]. TGF- β 1 усиливает связанный с клетками синтез и секрецию коллагена I типа, а также экспрессию мРНК COL1A1 в фибробластах сердца [199]. TGF- β заметно повышает экспрессию

подмножества генов, связанных с фиброзом, включая CTGF и FGF-2, как в миообластах, так и в миотубах. За этим следовало увеличение экспрессии коллагена Col1a1 [184].

Как известно, миоматозные узлы в матке – это эстроген- и прогестеронозависимые опухоли, которые не развиваются до наступления менархе и уменьшаются или, по крайней мере, не растут после менопаузы. В связи с этим предложена оригинальная концепция торможения/уменьшения опухоли после менопаузы, обусловленная, во-первых, снижением уровня прогестерона, поскольку существует отрицательная корреляция между уровнем прогестерона в крови и его рецептором [212]. Во-вторых, эстрогены очень важны для синтеза коллагена [85; 211], и после менопаузы уровень эстрогенов снижается, синтез коллагена уменьшается, и, таким образом, миома может регрессировать. В целом, показано возможное влияние старения на прогрессирование миомы матки. Секреторный фенотип клеток иммунной системы (SASPs) с увеличением продукции IL-6, IL-1, CCL-20 и TGF- β индуцировал иммуносупрессию в иммунном микроокружении. Кроме того, именно SASP сопровождается индукцией синтеза коллагена, который всегда присутствует или доминирует в матриксе миоматозных узлов.

В России приоритет в исследовании цитокиновой сети в сыворотке крови женщин с миомой матки принадлежит академику РАН В. И. Коненкову и его сотрудникам. Были исследованы концентрации ряда цитокинов и факторов роста (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF и PDGF) в сыворотке крови женщин с миомой матки относительно женщин без миомы европеоидного происхождения методом проточной флуориметрии. Статистическую значимость имело снижение концентраций проангиогенных факторов VEGF и PDGF в 3 и в 6 раз соответственно. Концентрации IL-5, IL-7 и G-CSF были статистически значимо сниженными; кроме того, выявлена тенденция к снижению IL-9 и FGF, оказывающих стимулирующее воздействие на гемопоэз и ангиогенез. Снижение концентрации G-CSF прямо коррелировано с изменениями концентраций таких цитокинов, как IL-5, IL-7 и IL-9 (коэффициенты корреляции соответственно 0,723,

0,637 и 0,504). В целом, в сыворотке крови у женщин с миомой матки выявлено снижение содержания ряда регуляторных молекул [23].

При исследовании провоспалительного цитокинового профиля в сыворотке крови женщин с миомой тела матки выявлена тенденция к снижению концентраций IL-1 β и TNF- α и отсутствие различий в содержании IL-6, IL-8 и IL-12p70 по сравнению со значениями здоровых женщин. Концентрация IFN- γ была значительно снижена. Снижение концентрации факторов активации воспаления и ангиогенеза носит неблагоприятный характер в условиях миоматозного процесса в репродуктивной сфере [24].

Изучение уровня цитокинов с противовоспалительной активностью – интерлейкинов IL-4, IL-10, IL-13 – и антагониста рецептора IL-1 β (IL-1RA) в сыворотке крови женщин с миомой матки методами мультиплексного анализа выявило значительное снижение концентрации IL-4 ($p < 0,000001$) и IL-1RA ($p = 0,00002$). Концентрации двух других цитокинов IL-10 и IL-13 были близки к нормативным показателям. Таким образом, снижение противовоспалительной компоненты цитокиновой сети может также являться одним из факторов, способствующих развитию хронических воспалительных процессов инфекционного характера у пациенток с миомой матки [19].

1.3 Генетические факторы регуляции активности цитокинов

Изучение межлокусных взаимодействий генов-кандидатов в формировании любой патологии человека имеет большое значение и для фундаментальных исследований, и для практической медицины, поскольку эти результаты могут быть использованы для выделения групп риска и для проведения профилактических мероприятий, на что нацелена современная медицина. В большинстве исследований усилия сосредоточены на однонуклеотидных полиморфизмах генов цитокинов при злокачественных опухолевых заболеваниях [42; 45; 87; 188].

Миома матки представляет собой социально значимое заболевание, которое

неблагоприятно влияет на здоровье женщин в целом и на репродуктивное здоровье, в частности. В связи с широкой распространенностью патологии проведение иммуногенетических исследований было начато относительно недавно с появлением соответствующих методов исследования и по-прежнему представляет большой интерес и открывает широкие перспективы [97; 173]. Изучение ассоциаций комбинаций аллелей и генотипов анализируемых генов, в т. ч. генов, регулирующих активность цитокинов, в самом скором времени позволит прогнозировать формирование и скорость развития миоматозных узлов.

Среди возможных генетических маркеров, которые могли бы быть использованы в качестве прогностических инструментов для оценки повышенного риска развития миомы матки – достаточно большой спектр полиморфизмов генов цитокинов. В одной из работ изучены цитокины Th1/Th2 у 102 пациенток с миомой матки по сравнению женщинами контрольной группы без миомы. Была обнаружена связь между полиморфизмами промотора гена IL4 в позициях –590 С/Т и –33 С/Т и риском лейомиомы. Генотип СС IL4 –590 и в позиции –33 встречался реже в группе пациенток, чем в контрольной группе ($p = 0,03$). Помимо IL-4, наблюдали различное распределение генотипов гена TNF α –308 А/Г. Частота генотипа АА была выше в группе более молодых (≤ 35 лет) пациенток ($p = 0,02$). Таким образом, исследование предполагает, что некоторые полиморфизмы генов цитокинов, особенно генов IL-4 и TNF α , могут быть связаны с повышенным риском развития миомы матки [186].

Возможность роли полиморфизма генов определенных цитокинов в патогенезе миомы матки была предложена в нескольких работах более ранних лет [122; 208]. Большую роль в иммуногенетике играют расовые и этнические характеристики изучаемых когорт, что было продемонстрировано в работе М. А. Varão et al. [195]. Поскольку ген цитохрома Р-450 1А1 (CYP1A1) играет важную роль в метаболизме эстрогенов и, следовательно, является потенциальным маркером миомы, выполнено исследование случай-контроль, по итогам которого авторы не смогли продемонстрировать никакой связи между полиморфизмом MSP I CYP1A1 и риском миомы у бразильских женщин, отметив

значение отбора пациенток.

Впоследствии такой подход был продемонстрирован в метаанализе 9 статей для определения связи между полиморфизмами CYP1A1 MspI и Ile462Val и риском миомы матки. Полиморфизм CYP1A1 Ile462Val был высоко достоверно связан с риском миомы, однако полиморфизм MspI – не связан. При анализе подгрупп с учетом расы значительно повышенный риск был обнаружен у азиатов и европеоидов. В итоге, полиморфизм CYP1A1 Ile462Val был значительно связан с риском миомы [71].

В одном из Российских исследований у 109 пациенток изучена связь между полиморфизмом генов интерлейкинов и миомой матки [18]. Для этого авторами выбраны 6 полиморфных локусов генов интерлейкинов – A/C IL10 rs1800872, C/G IL6 rs1800795, T/C IL5 rs2069812, C/T IL4 rs2243250, T/C IL1 β rs16944, C/T IL1 α rs1800587. В результате проведенного исследования установлена значимая роль молекулярно-генетических маркеров A/C IL10 rs1800872, T/C IL5 rs2069812, C/T IL4 rs2243250, T/C IL1 β rs16944, C/T IL1 α rs1800587 в развитии миомы матки. Факторами риска развития миомы матки следует считать генотип TT rs1800587 IL1 α (ОШ = 5,70, p = 0,017), а также сочетание полиморфных вариантов T rs2243250 IL4, T rs1800587 IL1 α и T rs16944 IL1 β (ОШ = 2,60, p_{perm} = 0,012), T rs1800587 IL1 α , C rs2069812 IL5 и T rs16944 IL1 β (ОШ = 2,71, p_{perm} = 0,009), T rs1800587 IL1 α , C rs1800872 IL10 и T rs16944 IL1 β (ОШ = 2,73, p_{perm} = 0,003). В итоге, впервые выявлены полиморфные локусы генов A/C IL10 rs1800872, T/C IL5 rs2069812, C/T IL4rs 2243250, T/C IL1 β rs16944, C/T IL1 α rs1800587, которые ассоциированы с формированием миомы матки [18].

Иммуногенетические исследования цитокинов у женщин с миомой матки практически единичны. При этом большинство работ содержат результаты молекулярно-биологических исследований. Проведено секвенирование РНК на предмет сравнения ткани лейомиомы и перифокального миометрия в одном и том же клиническом наблюдении (т. е. дифференциальную экспрессию) у женщин белой (n = 7) и черной (n = 12) рас. Анализ показал, что 95 генов были минимально изменены у белых, но были значительно изменены более чем в

1,5 раза (больше или меньше) у черных пациенток. Был выбран 21 новый ген для подтверждения в 69 парных фибромиомах с помощью qRT-PCR: кодирование транскриптов для дифференциальной экспрессии FRAT2, SOX4, TNFRSF19, ACP7, GRIP1, IRS4, PLEKHG4B, PGR, COL24A1, KRT17, MMP17, SLN, CCDC177, FUT2, MYO5B, MYOG, ZNF703, CDC25A и CDCA7 было значительно выше, в то время как экспрессия DAB2 и CAV2 была значительно ниже в миомах у чернокожих или латиноамериканских женщин по сравнению с узлами у белых пациенток. Вестерн-блотт выявил большую дифференциальную экспрессию PGR-A и общего прогестерона (PGR-A и PGR-B) в опухолях у чернокожих по сравнению с опухолями у белых пациентов. Таким образом, идентифицирован набор генов, уникально экспрессируемых в зависимости от расы/этнической принадлежности, которые могут формировать основные механизмы расовых отличий фибромиом. Среди них имеются гены MMP, продукты которых влияют на фиброз миоматозного узла [191].

Актуальны биоинформатические исследования участия генов-кандидатов цитокинов в формировании миом у женщин. Генотипирование 15 молекулярно-генетических маркеров цитокинов проведено у 120 пациенток с лейосаркомой и миомой матки с крупными узлами и 107 больных с миоматозными узлами малых размеров. В результате исследования установлено, что генетическими факторами риска миомы при крупных миомах матки являются два сочетания генетических вариантов: G SDF-1, CC IL-1 β , A RANTES (OR = 5,56) и A RANTES с генотипом CC IL-1 β (OR = 4,60). 12 из 15 изученных полиморфных локусов в различных сочетаниях (выявлено 8 значимых сочетаний) имеют протективное значение при формировании крупных миом при раке тела матки (OR = 0,09–0,31) [49].

IL-17 – это семейство провоспалительных цитокинов. Исследована роль их функциональных полиморфизмов для риска рака. Был проведен поиск в онлайн-базах данных для выявления подходящих исследований случай-контроль. Было выявлено 9 подходящих исследований случай-контроль IL-17A G-197A и 7 исследований IL-17F 7488T/C, включая 3 181 случай и

4 005 контролей. Объединенный анализ показал, что вариант аллеля IL-17A-197A был связан с повышенным риском рака (GA/AA против GG, OR = 1,27, 95 % ДИ: [1,15; 1,41], гетерогенность $P = 0,374$; и A против G, OR = 1,30, 95 % ДИ: [1,17; 1,45], гетерогенность $P = 0,021$). Для IL-17F 7488T/C гомозиготный генотип 7488CC значительно увеличивал риск рака (CC против TC/TT, OR = 1,36, 95 % ДИ: [0,97; 1,91], гетерогенность $P = 0,875$; и CC против TT, OR = 1,39, 95 % ДИ: [1,03; 1,88], гетерогенность $P = 0,979$), особенно для рака желудка. Вывод – вариант аллеля IL-17A-197A и генотип IL-17F 7488CC были связаны с повышенным риском рака, особенно для рака желудка [190].

Изучена роль полиморфизмов гена IL-27 у пожилых 422 пациентов с синдромом Гийена – Барре относительно контрольной группы 395 здоровых субъектов. Образцы периферической крови проанализированы с помощью метода ПЦР в отношении 2-х однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) IL-27, а именно, rs153109 и rs785575. Были оценены корреляции SNP IL-27 с тяжестью заболевания, исходом заболевания, уровнем антител к GM1 и инфекцией *Campylobacter jejuni*. Уровни IL-27 в сыворотке были проанализированы с помощью ИФА. Установлено, что однонуклеотидный полиморфизм rs153109 чаще встречается у пациентов с синдромом Гийена-Барре с аллелями GG и G и связан с более тяжелым течением болезни, более худшими клиническими исходами и более высокими уровнями IL-27 [103].

Нарушение метаболизма коллагена в соединительной ткани может быть связано с полиморфизмом генов, регулирующих синтез коллагена и формирование внеклеточного матрикса [194].

Показано, что однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в промоторных областях MMP-2 и MMP-9 приводят к изменению уровня экспрессии генов и, таким образом, могут быть связаны с предрасположенностью к различным заболеваниям. Так, минорные SNP –735 C/T и –1 306 C/T MMP-2 гена вызывают снижение активности промотора из-за нарушения элемента, связывающего фактор транскрипции Sp1, а на транскрипционную активность MMP-9 влияет SNP –1 562 C/T в промоторной области [158]. Аналогично, в промоторе MMP-3 выявлен

функциональный полиморфизм (rs3025039), в котором один аллель имеет серию из шести аденозинов (6А), а другой – только пять повторов (5А). При этом промоторы ММР-3, содержащие аллель 5А, обладают почти на 50 % более высокой активностью по сравнению с таковыми с аллелем 6А, поскольку предполагаемый белок-репрессор транскрипции предпочтительно связывается с промотором, содержащим последовательность 6А, и снижает экспрессию гена [43].

В целом, на сегодняшний день опубликованы результаты иммуногенетических исследований сигнальных молекул в сыворотке крови при миоме матки. Выявлены множественные ассоциации между более высокой частотой полиморфизмов генов медиаторов воспаления при миоме матки, включая интерлейкины IL-1 β , IL-4, TNF- α [200; 186], IL-6 [124], IL-10 [197] и рецептор IL-12b [122].

1.4 Резюме

Миома матки как доброкачественная опухоль женской половой системы широко распространена – до 70 %. Нарушение гормонального фона в раннем возрасте перепрограммирует стволовые клетки миометрия, тем самым увеличивая риск развития миомы матки. Факторами риска являются возраст, раса, ожирение, паритет, гипертония, дефицит витамина D и другие, которые действуют чаще всего комбинированно. Патогенные мутации 2-го экзона в MED12 способствуют образованию миоматозных узлов, а также молекулярные механизмы: метаболизм половых гормонов, факторы роста, эпигенетическая и эпитранскриптомная регуляция. Несмотря на высокую распространенность, лежащие в ее основе механизмы изучены недостаточно. Современный уровень исследований базируется на геномных и иммуногенетических исследованиях патогенеза, включающих различные гены, факторы роста, цитокины, хемокины и микроРНК.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клиническая характеристика пациенток с миомой матки и контрольной группы

Проведено клиническое исследование и хирургическое лечение 109 пациенток в возрасте от 23 до 61 лет с диагнозом «миома матки» (D25 по МКБ-10). Критериями включения в исследование были диагностические критерии, сформулированные в «Клинических рекомендациях «Миома матки», одобренных Научно-практическим Советом Минздрава России в 2020 г. [11]. Согласно этому нормативному документу, «диагноз миомы матки устанавливается на основании жалоб, анамнестических данных, физикального обследования, данных ультразвукового исследования и МРТ (по показаниям) органов малого таза». Исходя из данных рекомендаций, анамнестические данные не имеют выраженного дифференциально-диагностического значения: «Течение миомы матки может быть бессимптомным и симптомным. Симптомы заболевания: аномальные маточные кровотечения, боли внизу живота различного характера и интенсивности, болезненные и обильные менструации, бесплодие при отсутствии других причин, невынашивание беременности, нарушение функции смежных органов (дизурические расстройства, запоры), диспареуния и др.» Указанные признаки с учетом результатов УЗИ и информированного согласия пациенток служили критериями включения в исследование.

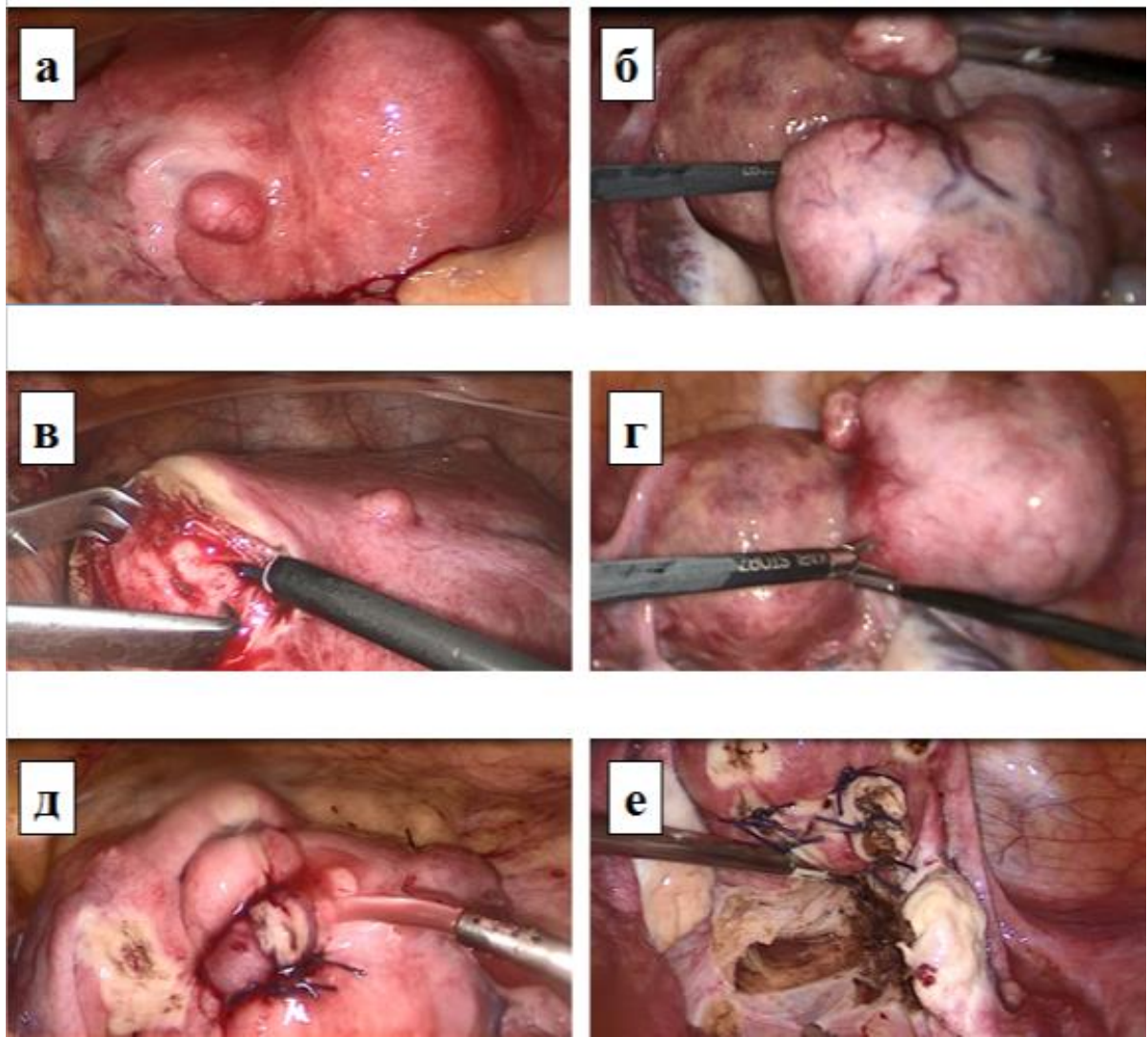
Критерии исключения: беременность, аутоиммунные, тяжелые соматические, опухолевые и другие заболевания в стадии декомпенсации или обострения.

Информативными диагностическими признаками являлись рекомендованные «ультразвуковое исследование органов малого таза (УЗИ), в качестве основного метода скрининга и первичной диагностики миомы матки, и данные магнитно-резонансной томографии органов малого таза (МРТ) у пациенток с сочетанной патологией, с большими размерами опухоли, при наличии

сдавления смежных органов у пациенток, планирующих реализацию репродуктивной функции для дифференциальной диагностики с аденомиозом, выбора объема и доступа при планировании реконструктивно-пластических операций» [11].

В клиническом статусе пациенток, результаты иммуногенетического исследования которых вошли в основную группу, учитывались следующие признаки: возраст, рост, вес, индекс массы тела, дистрофия, длительность менструации, обильные менструальные кровотечения, гормональная терапия до операции, общее количество беременностей, количество родов, медицинских абортов, выкидышей, внематочных беременностей, количество миоматозных узлов, субмукозная локализация узлов, размеры узла, кровоток в узлах (индекс резистентности), состояние эндометрия / эндоцервикса, патология эндоцервикса, наличие хронического эндометрита, полипов эндометрия, гиперплазия эндометрия без атипии, наружного генитального эндометриоза, аденомиоза, экстрагенитального эндометриоза, бесплодия, кисты яичника, доброкачественного новообразования яичника, параовариальной кисты, дисплазии шейки матки, аномалии развития матки, киста бартолиновой железы; данные общего анализа крови.

Всем пациенткам по показаниям проведена миомэктомия лапароскопическим доступом (Рисунок 1); в послеоперационном периоде осложнений не было.



Примечание: а – множественная миома тела матки. Вылущено 6 миоматозных узлов. Рана ушита послойно; б – атипично расположенный субсерозный узел. Эндометриоз позадиматочного пространства. Миомэктомия и иссечение эндометриоидного инфильтрата в пределах здоровых тканей; в – интерстицио-субсерозный миоматозный узел большого размера ($d = 8$ см) вылущен без вскрытия полости матки. Рана ушита послойно; г – субсерозная миома матки; д – интракорпоральный шов на матке; е – шов на матке после удаленной миомы перешеечной локализации.

Рисунок 1 – Лапароскопическая картина хирургического лечения миомы матки
(из личного архива автора)

Контрольную группу формировали из 92 женщин аналогичного возраста без ММ и других гинекологических заболеваний, что было установлено в рамках ежегодных профилактических осмотров на основе клинического и

инструментального обследования.

Исследование одобрено Этическим комитетом НИИКЭЛ – филиал ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (протокол № 115 от 24.12.2015) и Комитетом по этике ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 107 от 31.05.2018).

2.2 Иммунологические методы исследования

2.2.1 Выделение ДНК из периферической крови пациенток

Забор крови производился с использованием вакуумной системы забора крови, содержащей в качестве антикоагулянта КЗ-ЭДТА. Полученную цельную кровь аликвотировали в микропробирки по 0,5 мл и хранили при -70°C . Геномную ДНК выделяли из цельной венозной крови. Для очистки ДНК-содержащих клеток крови от эритроцитов к 500 мкл крови добавляли буфер, лизирующий эритроциты (RCLB): 0,32 М сахарозы; 10 мМ Трис- HCl («Sigma», USA), pH 7,5; 5 мМ MgCl_2 ; 1 % Тритон X-100 («Sigma X100»). Центрифугировали в течение 1 мин при 12 000 об/мин, тщательно отбирали супернатант, содержащий лизат эритроцитов. Клеточную и ядерную мембраны лейкоцитов лизировали в растворе, содержащем 1 М Трис- HCl , pH 7,5; 0,5 мМ ЭДТА pH 8,0 («Sigma», USA); 0,5 % SDS («Sigma», USA) и 100 мкг/мл протеиназы К («Boehringer», USA), инкубируя в течение 1 часа при 56°C . После инкубации к раствору добавляли 100 мкл 6 М NaCl , интенсивно встряхивали в течение 15 сек для преципитации белков. Затем центрифугировали при 12 000 об/мин в течение 6 мин, после чего надосадочную жидкость переносили в другую пробирку, где проводили экстракцию ДНК абсолютным этиловым спиртом. После экстракции ДНК промывали 70 % этиловым спиртом и растворяли в стерильной дистиллированной воде до концентрации 100–300 мкг/мл. Концентрацию и чистоту выделенной ДНК определяли спектрофотометрическим методом, измеряя оптическую плотность при длинах волн 260 и 280 нм, причем 1 о. е. соответствовала 50 мкг ДНК. Выделенную ДНК замораживали и хранили при -20°C .

2.2.2 Микроанализ концентрации цитокинов и хемокинов

Концентрации 24 цитокинов и хемокинов в сыворотке крови оценивали методом проточной флюориметрии на 2-лучевом лазерном автоматизированном анализаторе Bio-Plex Assay System (Bio-Rad, США) с использованием коммерческой тест-системы, (определяемый динамический диапазон 2–32 000 пкг/мл) в соответствии с инструкцией фирмы производителя Bio-Plex Pro Rat Cytokone 24-Plex Assay (Bio-Rad, США) после построения калибровочной кривой по соответствующим стандартам. Однократно замороженную сыворотку крови размораживали перед исследованием до комнатной температуры, осадок удаляли центрифугированием (10 000 об/мин в течение 10 мин) при 4 °C. Полученные данные обрабатывали в программе «Bio-Plex Manager Software 4.1». Концентрацию цитокинов выражали в пг/мл.

2.2.3 Иммуноферментный анализ

В других сериях исследования концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на анализаторе для планшетов EL × 800 (BioTek, Тайвань) в лунках при длине волны 450 нм с использованием пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента и стандартизованных наборов TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 и VEGF-A производства АО «Вектор-Бест» (Россия) по протоколу производителя.

2.2.4 Типирование структуры генов цитокинов

Генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP – single nucleotide polymorphism) TNF-863C/A, TNF-308G/A, TNF-238G/A, IL1B-31T/C, IL6-174C/G, IL8-251T/A, IL17A-197G/A в указанных полиморфных позициях проводили методом RT-PCR (Real-Time ПЦР) с использованием

интеркалирующего красителя SYBER GREEN (Litex, Россия) на амплификаторе «ДТ-96» (ДНК-Технология) согласно инструкции фирм-производителей. С образцом выделенной ДНК параллельно проводились две реакции амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Результаты считались положительными, если значение FAM Ct был менее 27, и позволяли дать три типа заключения: гомозигота по аллели 1, гомозигота по аллели 2, гетерозигота. В случае гетерозиготы разница между Ct двух параллельных образцов не превышала 1,5 цикла.

2.3 Методы статистического анализа данных

Проверку на нормальность закона распределения проводили с помощью W-критерия Шапиро – Уилка. Для количественных непрерывных показателей, при нормальном распределении, производился расчет средних значений (M) и стандартного отклонения (SD) с представлением в формате M (SD). При отсутствии нормального распределения рассчитывали медиану и интерквартильный размах с представлением в формате Me (Q1 0,25; Q3 0,75). Для сравнения количественных показателей в независимых группах применяли ранговый U-критерий Манна – Уитни. Для обнаружения связи между исследуемыми показателями проводили корреляционный анализ путем вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена (rs) с последующей графической визуализацией и анализом структуры корреляционных связей методом корреляционных графов с помощью биоинформационной программной платформы с открытым исходным кодом Cytoscape 3.10.2 (NRNB, США).

Обработку и статистический анализ результатов проводили с помощью многофункциональных программ – IBM SPSS Statistics 23, SNPstats и Arlequin 3.5 с использованием стандартных методов генетико-статистического анализа (расчет частоты встречаемости аллелей, отдельных генотипов и их комбинаций). Частоту аллелей генов вычисляли методом прямого подсчета. Частоту встречаемости отдельных генотипов и их комбинаций определяли как процентное отношение

индивидов, несущих генотип (комбинацию генотипов), к общему числу обследованных. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга [3].

Оценку силы ассоциации генов, генотипов и их комбинаций с ММ проводили по показателю OR (odds ratio) с расчетом 95 % доверительного интервала (95 % Confidence Interval). Для оценки прогностической ценности отдельных генотипов и их комбинаций рассчитывали такие биоинформационные показатели, как специфичность (Sp), предсказательная ценность положительного результата теста или вероятность развития заболевания у индивидуума с биомаркером (PPV), предсказательная ценность отрицательного результата теста или вероятность отсутствия заболевания у индивидуума без биомаркера (NPV) [172]. Для обработки количественных лабораторных показателей применяли дескриптивный статистический анализ и методы непараметрической статистики [6]. Уровень значимости различий частот распределения генетических признаков в группах сравнения определяли по двустороннему критерию точного метода Фишера с учетом поправки Бонферрони на множественные сравнения, рассчитанной одношаговым методом [16]. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Концентрации цитокинов и хемокинов в сыворотке крови женщин с миомой матки и контрольной группе

3.1.1 Концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-12P70 и IFN- γ) в сыворотке крови пациенток

При сравнении количественных характеристик исследованных цитокинов отмечена значительная дисперсия практически всех регуляторных факторов в сыворотке крови обследованных женщин. Это подтверждается как значениями минимальных и максимальных показателей (Таблица 1), так и значительными различиями в показателях средних величин и медианных критериев.

Таблица 1 – Концентрации цитокинов с провоспалительной активностью в сыворотке крови женщин с миомой матки

Показатели, пг/мл	$M \pm m$	SD	min	max	Mo	Me (Q1; Q3)
IL-1	2,31+0,42	2,49	0,66	14,81	1,32	1,47 (1,09; 2,97)
IL-6	16,19 $\pm$ 2,92	17,55	0,75	89,93	0,75	9,47 (6,42; 18,92)
IL-8	30,60 $\pm$ 5,13	30,77	6,69	157,74	6,69	23,43 (15,02; 33,58)
IL-12p70	26,01+5,64	33,81	0,67	148,70	0,67	18,02 (8,42; 18,02)
IFN- γ	52,37 $\pm$ 8,15	48,92	15,60	314,53	15,60	41,39 (29,54; 41,39)
TNF- α	32,32 $\pm$ 2,11	12,66	19,01	83,58	19,87	30,42 (24,16; 34,54)
Примечание: Mo – мода; SD – стандартное отклонение; $M \pm m$ – среднее $\pm$ ошибка среднего.						

Кроме того, выявлены значительные различия в абсолютных значениях содержания цитокинов с провоспалительной активностью в сыворотке крови женщин с ММ. Так, концентрация IFN- γ была практически в 25 раз выше, чем концентрация IL-10 в тех же образцах. Полученные нами результаты сопоставляли с нормативными значениями здоровых женщин европейского происхождения,

полученных лабораторией, которая использовала аналогичную тест-систему фирмы «Bio-Rad» [48].

Согласно этим данным, концентрация IL-1 в сыворотке крови здоровых женщин составляет $(4,30 \pm 0,59)$ пг/мл, что выше полученных нами значений. Однако достоверным это различие было только при использовании одновыборочного метода оценки – $p < 0,05$ ($p = 0,037$), тогда как двухвыборочный критерий составил $p = 0,107$, что не позволяет сделать окончательный вывод о достоверном снижении уровня IL-1 в сыворотке крови при развитии ММ. Еще меньший уровень достоверности выявлен нами при исследовании концентрации в сыворотке крови IL-6. Его концентрация в группе здоровых женщин $(24,90 \pm 3,57)$ пг/мл была практически полностью идентична полученным нами данным $(24,68 \pm 8,96)$ пг/мл).

У женщин с ММ выявлена незначительная тенденция к снижению концентрации IL-8. Его концентрация была недостоверно снижена до $(37,95 \pm 8,88)$ пг/мл по сравнению с $(44,20 \pm 4,78)$ пг/мл у женщин контрольной группы. Схожий результат получен нами и при исследовании концентрации IL-12p70 в сыворотке крови женщин с ММ, который является гетеродимером с биологической активностью, стимулирующей рост, функцию Т-клеток. Его концентрация была также недостоверно снижена до $(38,19 \pm 13,35)$ пг/мл по сравнению с $(53,40 \pm 7,82)$ пг/мл у здоровых женщин.

Согласно имеющимся данным, концентрация TNF- α в сыворотке крови здоровых женщин составляет $(68,70 \pm 19,39)$ пг/мл, что несколько выше полученных нами данных – $(42,24 \pm 10,13)$ пг/мл. Как и в случае с IL-1, одновыборочный метод оценки показал статистически значимый уровень – $p < 0,05$ ($p = 0,013$), а двухвыборочный критерий – $p = 0,22$. В связи с этим сделать окончательный вывод о достоверном снижении уровня TNF- α в сыворотке крови при развитии ММ нельзя.

Наиболее значимые различия получены нами при анализе данных о концентрации IFN γ в сыворотке крови женщин с ММ. IFN- γ является активатором макрофагов и индуктором высвобождения молекулы главного комплекса

гистосовместимости класса II, продуцируется преимущественно НК-клетками, но не цитотоксическими врожденными лимфоидными клетками [40]. Нормативное содержание IFN- γ в сыворотке здоровых женщин – $(822,70 \pm 139,84)$ пг/мл, нами получены более низкие почти в 10 раз значения – $73,46 \pm 22,53$ ($p = 0,0000005$).

IFN- γ как эффекторный цитокин Th 1 является ключевым регулятором промотирования Т-клеток и активации макрофагов через JAK-киназу. IFN- γ активирует макрофаги к фенотипу M1, который характеризуется высоким уровнем продукции таких провоспалительных цитокинов, как IL-1R, IL-12, IL-23 и TNF- α ; высоким уровнем продукции активного азота и кислорода, способствующим высокой активности воспалительного процесса [106]. Кроме того, IFN- γ способен ингибировать дифференцировку регуляторных Т-клеток (Treg) и CD4⁺Т-хелперов 2-го класса (Th2) [106]. Эти данные подтверждаются и результатами корреляционного анализа связи динамики концентраций цитокинов с провоспалительной активностью (Таблица 2).

Таблица 2 – Корреляционные зависимости между показателями концентраций провоспалительных цитокинов в сыворотке крови пациенток с миомой матки

Показатели	IL-10	IL-6	IL-8	IL-12p70	TNF- α	IFN- γ
IL-10	1	$r = 0,481$	$r = 0,708$	$r = 0,408$	$r = 0,715$	$r = 0,561$
		$p = 0,003$	$p = 0,000$	$p = 0,014$	$p = 0,000$	$p = 0,000$
IL-6	$r = 0,481$	1	$r = 0,542$	$r = 0,430$	$r = 0,751$	$r = 0,526$
	$p = 0,003$		$p = 0,001$	$p = 0,009$	$p = 0,000$	$p = 0,001$
IL-8	$r = 0,708$	$r = 0,542$	1	$r = 0,531$	$r = 0,612$	$r = 0,474$
	$p = 0,000$	$p = 0,001$		$p = 0,001$	$p = 0,000$	$p = 0,003$
IL-12p70	$r = 0,408$	$r = 0,430$	$r = 0,531$	1	$r = 0,356$	$r = 0,322$
	$p = 0,014$	$p = 0,009$	$p = 0,001$		$p = 0,033$	$p = 0,055$
TNF- α	$r = 0,561$	$r = 0,526$	$r = 0,474$	$r = 0,322$	1	$r = 0,671$
	$p = 0,000$	$p = 0,001$	$p = 0,003$	$p = 0,055$		$p = 0,000$
IFN- γ	$r = 0,715$	$r = 0,751$	$r = 0,612$	$r = 0,356$	$r = 0,671$	1
	$p = 0,000$	$p = 0,000$	$p = 0,000$	$p = 0,033$	$p = 0,000$	

Так, возрастание уровня продукции IFN- γ сильно коррелировало с увеличением концентраций, функционально связанных с ним IL-1R, IL-12 и

TNF- α . Возрастание концентрации IL-12p70 достоверно коррелировало с увеличением концентраций IFN- γ и TNF- α в сыворотке крови женщин с ММ. Обращает на себя внимание и общая сильная корреляция между изменениями концентраций всех исследованных нами цитокинов с провоспалительной активностью при наличии ММ у женщин.

Анализ полученных нами результатов по исследованию концентраций цитокинов с провоспалительной и проангиогенной активностью в сыворотке крови женщин позволяет предположить, что эти показатели являются отражением сложных системных изменений тканевых процессов, происходящих при формировании доброкачественного опухолевого процесса в мышечном слое матки. Нами установлено однотипное и скоррелированное, хотя и в разной степени выраженное, снижение уровня всех циркулирующих провоспалительных цитокинов, особенно заметное на примере IFN- γ . Интерфероны всех типов представляют собой группу плейотропных цитокинов, которые играют важную роль в межклеточных взаимодействиях при ответах врожденного и приобретенного иммунитета, включая защиту от вирусных и бактериальных инфекций, а также от опухолевого роста [103, 106].

Особое внимание было уделено анализу содержания цитокинов в зависимости от клинических параметров пациенток с ММ.

Результаты проведенного анализа с помощью ранговых критериев не выявили достоверной связи асимптоматической значимости между концентрациями сывороточных цитокинов и возрастом пациенток. Изменение рубежного возраста, разделяющего обследованных пациенток на примерно равновеликие по численности сопоставляемые группы с 40 лет до 44 лет не изменил заключения об отсутствии таких зависимостей (Таблица 3).

Не меньший интерес представляет вопрос о возможной связи исследуемых показателей от индекса массы тела (ИМТ). Проведенный анализ также не выявил статистически значимых зависимостей (Таблица 4).

Таблица 4 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с нормальным и повышенным показателем ИМТ

ИМТ		N (количество пациенток)			Средний ранг		Сумма рангов	
IL-1	до 25	61			44,13		2 692,0	
	более 25	27			45,33		1 224,0	
	всего	88			—		—	
IL-4	до 25	60			44,52		2 671,0	
	более 25	27			42,85		1 157,0	
	всего	87			—		—	
IL-6	до 25	62			46,54		2 885,5	
	более 25	26			39,63		1 030,5	
	всего	88			—		—	
IL-8	до 25	60			41,82		2 509,0	
	более 25	28			50,25		1 407,0	
	всего	88			—		—	
IL-10	до 25	61			43,40		2 647,5	
	более 25	27			46,98		1 268,5	
	всего	88			—		—	
TNF-α	до 25	61			44,27		2 700,5	
	более 25	27			45,02		1 215,5	
	всего	88			—		—	
VEGF	до 25	57			42,09		2 399,0	
	более 25	31			48,94		1 517,0	
	всего	88			—		—	
Статистические критерии ^а								
Показатель		IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF-α	VEGF
U Манна – Уитни		801,0	779,0	679,5	679,0	756,5	809,5	746,0
W Вилкоксона		2 692,0	1 157,0	1 030,5	2 509,0	2 647,5	2 700,5	2 399,0

Продолжение таблицы 4

Статистические критерии ^а							
Показатель	IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	VEGF
Z	–0,204	–0,284	–1,157	–1,442	–0,606	–0,127	–1,201
Асимптотическая значимость (2-сторонняя)	0,839	0,776	0,247	0,149	0,544	0,899	0,230
Примечание: а – группирующая переменная : показатель ИМТ							

Представленные в таблице 4 результаты свидетельствуют об отсутствии связи между показателями ИМТ и концентрациями всех исследованных цитокинов в сыворотке крови.

Далее нами была исследована зависимость концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с различным сроком от момента постановки диагноза ММ менее и более 5 лет. Эти данные, представленные в таблице 5, также не выявили статистически значимых закономерностей.

Таблица 5 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток со сроком от момента постановки диагноза более и менее 5 лет

Длительность		N (количество пациенток)	Ранги	
			Средний ранг	Сумма рангов
IL-1	до 5 лет	52	46,37	2 411,0
	более 5 лет	37	43,08	1 594,0
	Всего	89	—	—
IL-4	до 5 лет	51	44,08	2 248,0
	более 5 лет	37	45,08	1 668,0
	Всего	88	—	—
IL-6	до 5 лет	52	44,78	2 328,5
	более 5 лет	37	45,31	1 676,5
	Всего	89	—	—
IL-8	до 5 лет	51	45,60	2 325,5
	более 5 лет	38	44,20	1 679,5
	Всего	89	—	—

Продолжение таблицы 5

Длительность		N (количество пациенток)	Ранги					
			Средний ранг	Сумма рангов				
IL-10	до 5 лет	51	45,19	2 304,5				
	более 5 лет	38	44,75	1 700,5				
	Всего	89	—	—				
TNF-α	до 5 лет	51	45,23	2 306,5				
	более 5 лет	38	44,70	1 698,5				
	Всего	89	—	—				
VEGF	до 5 лет	42	38,43	1 614,0				
	более 5 лет	36	40,75	1 467,0				
	Всего	78	—	—				
Статистические критерии ^а								
Показатель		IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF-α	VEGF
U Манна – Уитни		891,0	922,0	950,5	938,5	959,5	957,5	711,0
W Вилкоксона		1 594,0	2 248,0	2 328,5	1 679,5	1 700,5	1 698,5	1 614,0
Z		–0,591	–0,182	–0,096	–0,253	–0,079	–0,095	–0,451
Асимптотическая значимость (2-сторонняя)		0,554	0,856	0,924	0,800	0,937	0,924	0,652
Примечание: ^а – группирующая переменная: длительность заболевания.								

Аналогичные данные получены нами по результатам клинико-иммунологического анализа возможной связи между наличием признаков гиперплазии миометрия и исследуемыми показателями концентраций цитокинов в сыворотке крови (Таблица 6).

Примечание: ^a – группирующая переменная: гиперплазия эндометрия.

Аналогичные данные получены нами по результатам клинико-иммунологического анализа возможной связи между наличием спонтанных выкидышей, беременностей, родов и медицинских аборт в анамнезе и исследуемыми показателями концентраций цитокинов в сыворотке крови (Таблицы 7, 8, 9 и 10).

Таблица 7 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием или отсутствием выкидышей в анамнезе

Выкидыши		N (количество пациенток)	Ранги					
			Средний ранг	Сумма рангов				
IL-1	нет	83	44,90	3 726,5				
	есть	6	46,42	278,5				
	всего	89	—	—				
IL-4	нет	82	44,68	3 664,0				
	есть	6	42,00	252,0				
	всего	88	—	—				
IL-6	нет	82	44,97	3 687,5				
	есть	7	45,36	317,5				
	всего	89	—	—				
IL-8	нет	81	44,96	3 642,0				
	есть	8	45,38	363,0				
	всего	89	—	—				
IL-10	нет	83	45,50	3 776,5				
	есть	6	38,08	228,5				
	всего	89	—	—				
TNF- α	нет	83	45,78	3 799,5				
	есть	6	34,25	205,5				
	всего	89	—	—				
VEGF	нет	70	38,34	2 684,0				
	есть	8	49,63	397,0				
	всего	78	—	—				
Статистические критерии ^a								
Показатель		IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	VEGF
U Манна – Уитни		240,5	231,0	284,5	321,0	207,5	184,5	199,0

Продолжение таблицы 7

Статистические критерии ^a							
Показатель	IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	VEGF
W Вилкоксона	3 726,5	252,0	3 687,5	3 642,0	228,5	205,5	2 684,0
Z	–0,139	–0,248	–0,038	–0,043	–0,679	–1,055	–1,334
Асимптотическая значимость (2-сторонняя)	0,889	0,804	0,970	0,966	0,497	0,291	0,182
Примечание: ^a – группирующая переменная: выкидыши.							

Таблица 8 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием или отсутствием беременностей в анамнезе

Беременности		N (количество пациенток)	Ранги	
			Средний ранг	Сумма рангов
IL-1	не было	28	40,30	1 128,5
	были	61	47,16	2 876,5
	всего	89	—	—
IL-4	не было	26	47,85	1 244,0
	были	62	43,10	2 672,0
	всего	88	—	—
IL-6	не было	27	44,56	1 203,0
	были	62	45,19	2 802,0
	всего	89	—	—
IL-8	не было	26	48,10	1 250,5
	были	63	43,72	2 754,5
	всего	89	—	—
IL-10	не было	27	47,46	1 281,5
	были	62	43,93	2 723,5
	всего	89	—	—
TNF- α	не было	27	39,00	1 053,0
	были	62	47,61	2 952,0
	всего	89	—	—
VEGF	не было	22	38,18	840,0
	были	56	40,02	2 241,0

Продолжение таблицы 8

Беременности		N (количество пациенток)		Ранги				
				Средний ранг		Сумма рангов		
VEGF	всего	78		—		—		
Статистические критерии ^a								
Показатель		IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF-α	VEGF
U Манна – Уитни		722,5	719,0	825,0	738,5	770,5	675, 0	587,0
W Вилкоксона		1 128,5	2 672,0	1 203,0	2 754,5	2 723,5	1 053,0	840,0
Z		−1,162	−0,796	−0,107	−0,726	−0,594	−1,446	−0,322
Асимптотическая значимость (2-сторонняя)		0,245	0,426	0,915	0,468	0,553	0,148	0,747
Примечание: ^a – группирующая переменная: беременности.								

Таблица 9 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием или отсутствием родов в анамнезе

Роды		N (количество пациенток)		Ранги	
				Средний ранг	Сумма рангов
IL-1	не были	38		42,95	1 632,0
	были	51		46,53	2 373,0
	всего	89		—	—
IL-4	не были	37		45,07	1 667,5
	были	51		44,09	2 248,5
	всего	88		—	—
IL-6	не были	39		44,76	1 745,5
	были	50		45,19	2 259,5
	всего	89		—	—
IL-8	не были	37		47,65	1 763,0
	были	52		43,12	2 242,0
	всего	89		—	—
IL-10	не были	38		44,38	1 686,5
	были	51		45,46	2 318,5
	всего	89		—	—
TNF- α	не были	38		39,30	1 493,5

Продолжение таблицы 9

Роды		N (количество пациенток)	Ранги					
			Средний ранг		Сумма рангов			
TNF- α	были	51	49,25		2 511,5			
	всего	89	—		—			
VEGF	не были	32	39,91		1 277,0			
	были	46	39,22		1 804,0			
	всего	78	—		—			
Статистические критерии ^а								
Показатель		IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	VEGF
U Манна – Уитни		891,0	922,5	965,5	864,0	945,5	752,5	723,0
W Вилкоксона		1632,0	2248,5	1745,5	2242,0	1686,5	1493,5	1804,0
Z		–0,647	–0,178	–0,079	–0,816	–0,195	–1,796	–0,132
Асимптотическая значимость (2-сторонняя)		0,518	0,859	0,937	0,415	0,845	0,073	0,895
Примечание: а – группирующая переменная : роды в анамнезе.								

Таблица 10 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием или отсутствием медицинских абортов в анамнезе

Аборты		N (количество пациенток)	Ранги	
			Средний ранг	Сумма рангов
IL-1	не были	63	44,15	2 781,5
	были	26	47,06	1 223,5
	всего	89	—	—
IL-4	не были	61	44,68	2 725,5
	были	27	44,09	1 190,5
	всего	88	—	—
IL-6	не были	63	45,76	2 883,0
	были	26	43,15	1 122,0
	всего	89	—	—
IL-8	не были	62	45,85	2 842,5
	были	27	43,06	1 162,5
	всего	89	—	—

Продолжение таблицы 10

Аборты		N (количество пациенток)	Ранги					
			Средний ранг	Сумма рангов				
IL-10	не были	62	44,80	2 777,5				
	были	27	45,46	1 227,5				
	всего	89	—	—				
TNF- α	не были	62	42,76	2 651,0				
	были	27	50,15	1 354,0				
	всего	89	—	—				
VEGF	не были	53	41,49	2 199,0				
	были	25	35,28	882,00				
	всего	78	—	—				
Статистические критерии ^a								
Показатель		IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	VEGF
U Манна – Уитни		765,5	812,5	771,0	784,5	824,5	698,0	557, 0
W Вилкоксона		2 781,5	1 190,5	1 122,0	1 162,5	2 777,5	2 651,0	882,0
Z		–0,483	–0,10	–0,433	–0,469	–0,112	–1,241	–1,13
Асимптотическая значимость (2-сторонняя)		0,629	0,921	0,665	0,639	0,911	0,215	0,259
Примечание: ^a – группирующая переменная: аборты.								

Исследование зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови от количества миоматозных узлов на момент обследования выявило несколько иную картину (Таблица 11).

Таблица 11 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием одного и более одного миоматозного узла

Количество миоматозных узлов		N	Ранги	
			Средний ранг	Сумма рангов
IL-1	один	35	43,76	1 531,5
	более 1	54	45,81	2 473,5
	всего	89	—	—

Продолжение таблицы 11

Количество миоматозных узлов		N	Ранги					
			Средний ранг	Сумма рангов				
IL-4	один	33	42,91	1 416,0				
	более 1	55	45,45	2 500,0				
	всего	88	—	—				
IL-6	один	35	41,91	1 467,0				
	более 1	54	47,0	2 538,0				
	всего	89	—	—				
IL-8	один	36	41,96	1 510,5				
	более 1	53	47,07	2 494,5				
	всего	89	—	—				
IL-10	один	34	42,19	1 434,5				
	более 1	55	46,74	2 570,5				
	всего	89	—	—				
TNF-α	один	34	40,93	1 391,5				
	более 1	55	47,52	2 613,5				
	всего	89	—	—				
VEGF	один	40	38,60	1 544,0				
	более 1	49	50,22	2 461,0				
	всего	89	—	—				
Статистические критерии ^а								
Показатель		IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF-α	VEGF
U Манна – Уитни		901,5	855,0	837,0	844,5	839,5	796,5	724,0
W Вилкоксона		1 531,5	1 416,0	1 467,0	1 510,5	1 434,5	1 391,5	1 544,0
Z		−0,365	−0,453	−0,907	−0,915	−0,807	−1,170	−2,111
Асимптотическая значимость (2-сторонняя)		0,715	0,651	0,364	0,360	0,420	0,242	0,035
Примечание: а – группирующая переменная : один или более миоматозных узлов.								

При таком клинико-иммунологическом анализе установлено достоверное возрастание концентрации VEGF – фактора роста сосудистого эндотелия у пациенток со множественным миоматозом, что находит свое логическое

обоснование, так как основной функцией этого регуляторного фактора является стимуляция пролиферации эндотелиальной выстилки при активном сосудистом росте, сопровождающем нарастание количества миоматозных узлов в миометрии ($p < 0,05$). Вероятно, дальнейший клинико-иммунологический анализ может показать возможность использования этого показателя в качестве дополнительного диагностического лабораторного признака, указывающего на возможный рост узлов в миометрии в текущий момент.

Как и любой элемент цитокиновой сети, концентрация одного из ее составляющих – VEGF – находится в тесных корреляционных отношениях с концентрациями других составляющих единую сеть цитокинов. Результаты проведенного нами корреляционного анализа, представленного в таблице 12, свидетельствуют о наличии умеренной корреляции концентрации VEGF с концентрацией IL-1 - провоспалительного цитокина, инициирующего активные воспалительные процессы на самых ранних этапах их развития (коэффициент корреляции Спирмена = 0,437; $p < 0,01$). Эти данные свидетельствуют о наличии сочетанных процессов активного воспаления и неоангиогенеза при пролиферативных процессах доброкачественного локального опухолевого роста при ММ.

Таблица 12 – Результаты корреляционного анализа концентраций сывороточных цитокинов у пациенток с наличием более одного узла в миометрии

Показатели		IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	VEGF
IL-1	коэффициент корреляции	1	-0,013	0,536**	0,217	0,10	0,826**	-0,437**
	знач. двусторонняя		0,924	0,00	0,13	0,481	0,00	0,004
	N	54	52	52	50	52	52	42
IL-4	коэффициент корреляции	-0,013	1	0,17	-0,155	0,353**	0,133	-0,112
	знач. двусторонняя	0,924		0,232	0,294	0,008	0,332	0,49
	N	52	55	51	48	55	55	40

Продолжение таблицы 12

Показатели		IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	VEGF
IL-6	коэффициент корреляции	0,536**	0,17	1	0,484**	0,302*	0,535**	-0,199
	знач. двусторонняя	0,00	0,232		0,00	0,031	0,00	0,202
	N	52	51	54	51	51	51	43
IL-8	коэффициент корреляции	0,217	-0,155	0,484**	1	0,151	0,335*	0,185
	знач. двусторонняя	0,130	0,294	0,00		0,307	0,02	0,224
	N	50	48	51	53	48	48	45
IL-10	коэффициент корреляции	0,100	0,353**	0,302*	0,151	1	0,186	-0,065
	знач. двусторонняя	0,481	0,008	0,031	0,307		0,175	0,689
	N	52	55	51	48	55	55	40
TNF- α	коэффициент корреляции	0,826**	0,133	0,535**	0,335*	0,186	1	-0,303
	знач. двусторонняя	0,00	0,332	0,00	0,02	0,175		0,057
	N	52	55	51	48	55	55	40
VEGF	коэффициент корреляции	-0,437**	-0,112	-0,199	0,185	-0,065	-0,303	1
	знач. двусторонняя	0,004	0,490	0,202	0,224	0,689	0,057	
	N	42	40	43	45	40	40	49
Примечание. ** – корреляция значима на уровне 0,01 (двусторонняя); * – корреляция значима на уровне 0,05 (двусторонняя); а – количество узлов более 1.								

Таким образом, у пациенток с ММ в сыворотке крови значительно повышено (в 5,2 раза) содержание провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6. Максимальные значения концентрации IL-1 β выявлены у женщин с ММ и хроническим эндометритом. Изменения концентраций в сыворотке крови IL-6, подчинены тем же закономерностям. Значительное возрастание концентрации данного регуляторного фактора во всей группе пациенток с ММ, с максимальной степенью выраженные среди женщин с патологией эндометрия, выявляемой при гистероскопии и биопсии. Другие клинические показатели (паритет, прерывание

Содержание VEGF в сыворотке крови у пациенток с единичным миоматозным узлом превышало показатель женщин с множественными миоматозными узлами ($p = 0,035$).беременности в анамнезе, прием гормональных препаратов) не влияли на уровень цитокинов.

3.1.2 Концентрации противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-13, IL-1Ra) в сыворотке крови пациенток с миомой матки

Первичный анализ количественных данных показал значительный разброс практически всех переменных, связанных с уровнями изучаемых регуляторных факторов в сыворотке крови. Этот вывод подтверждается статистически значимыми различиями в минимально-максимальных диапазонах, средних и медианах сывороточных уровней всех цитокинов (Таблицы 13 и 14).

Таблица 13 – Концентрации цитокинов с противовоспалительной активностью и природного антагониста рецептора IL-1 β в сыворотке крови женщин с миомой матки

Статистический показатель		IL-1Ra	IL-4	IL-10	IL-13
Среднее		85,48	4,66	18,97	13,15
Стандартная ошибка среднего значения		19,90	0,21	10,70	2,73
Среднеквадратическое отклонение		119,42	1,28	64,20	16,41
Минимум		0,01	3,1	0,01	0,01
Максимум		639,69	8,0	374,14	62,76
Мода		19,70	4,3	0,01	0,65
Медиана		48,91	4,27	3,01	5,30
Процентили:	25 (Q1)	23,31	3,71	0,98	1,54
	75 (Q3)	80,50	5,38	8,20	20,84

Таблица 14 – Результаты корреляционного анализа концентраций цитокинов с противовоспалительной активностью в сыворотке крови женщин с ММ

Показатели	IL-1Ra	IL-4	IL-10	IL-13
IL-1Ra	1	0,538	0,736	0,410
		0,001	< 0,001	0,013
IL-4	0,538	1	0,547	0,815
	0,001		0,001	< 0,001
IL-10	0,736	0,547	1	0,466
	< 0,001	0,001		0,004
IL-13	0,410	0,815	0,466	1
	0,013	< 0,001	0,004	
Примечание: верхняя строка – значения коэффициента корреляции Спирмена; нижняя строка – уровень достоверности (значимости) коэффициента корреляции.				

Чтобы сравнить наши результаты с уровнями противовоспалительных цитокинов у женщин без ММ, мы использовали нормативные значения большой выборки здоровых женщин европеоидной расы, полученные в лаборатории «Bio-Rad» [48]. Авторы исследовали корреляцию между концентрацией цитокинов в сыворотке крови и полом, возрастом, этнической принадлежностью участников, временными точками отбора проб и даже различными типами чашек. Результаты были проанализированы с использованием программного обеспечения Bio-Plex Manager версии 6.2 (Bio-Rad) и признаны подходящими в качестве нормативных значений для здоровых женщин европеоидной расы.

Несмотря на то, что 25 из 27 цитокинов (кроме MCP-1 и TNF- α) не имели различий в концентрациях между мужчинами и женщинами, в сравнительном анализе мы использовали данные 94 здоровых женщин европеоидной расы. Наши результаты показали, что у женщин с ММ значительно снижена концентрация в сыворотке крови такого ключевого противовоспалительного цитокина, как IL-4, который выполняет множество биологических функций, включая переключение синтеза В-клеток с помощью IgG1, IgG4 и IgE, активацию макрофагов, влияние на действия эпителиальных и гладкомышечных клеток и подавление IL-1 β , IL-6,

TNF- α , синтез IL-8. Этот регуляторный белок, наряду с IL-15 и IL-13, принадлежит к семейству цитокинов, продуцируемых клетками Th2 и ILC2s, экспрессирующими транскрипционный фактор GATA3 [36; 51].

Рецептор IL-4 также связывается с IL-13, что может способствовать многим перекрывающимся функциям этого цитокина и IL-13. Их согласованные действия влияют на процессы отложения коллагена и фиброза тканей, играющие роль в развитии ММ [46]. IL-13 превращает макрофаги в фенотип M2, в котором отсутствует воспалительная активность клеток M1 [109]. У женщин с ММ уровень IL-4 в сыворотке был значительно ниже ($4,66 \pm 0,77$) пг/мл по сравнению со здоровыми женщинами европеоидной расы ($36,0 \pm 2,27$) пг/мл ($p < 0,000001$).

Кроме того, сывороточные уровни IL-13 в сравниваемых группах женщин были практически одинаковыми ($13,15 \pm 2,73$) пг/мл и ($14,1 \pm 1,85$) пг/мл соответственно, $p = 0,757$). Когда мы использовали тот же метод для исследования концентрации IL-13 в сыворотке женщин контрольной группы, мы получили аналогичные результаты ($15,01 \pm 1,98$) пг/мл).

Как следует из таблицы 14, существует сильная прямая корреляция между концентрациями этих двух цитокинов в сыворотке крови (коэффициент корреляции Спирмена 0,815; $p < 0,0001$).

У женщин с ММ значительно снижена концентрация в сыворотке крови IL-1Ra, который связывается с рецепторами IL-1 α и IL-1 β , что значительно снижает их провоспалительную активность. Семейство цитокинов интерлейкина IL-1 включает 11 членов, в том числе 7 провоспалительных агонистов (IL-1 α , IL-1 β , IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ) и 4 определенных или предполагаемых антагониста (антагонист IL-1R (IL-1Ra), IL-36Ra, IL-37 и IL-38), обладающих противовоспалительной активностью [192].

В нашем исследовании концентрация белка IL-1Ra в сыворотке крови женщин с миомой матки и здоровых женщин составила ($85,49 \pm 19,83$) пг/мл и ($305,5 \pm 45,76$) пг/мл соответственно ($p = 0,00002$). Можно предположить, что недостаточная продукция этого регуляторного фактора может приводить к повышению провоспалительной активности самого IL-1 β , несмотря на то, что, по

нашим данным, у женщин с миомой матки его сывороточная концентрация ($2,31 \pm 0,42$) пг/мл) также была ниже, чем у практически здоровых женщин ($4,3 \pm 0,59$) пг/мл, $p = 0,006$).

Наши результаты кажутся неоднозначными, поскольку у пациенток с миомой матки уровень IL-10 в сыворотке был выше ($18,98 \pm 10,7$ пг/мл) по сравнению со здоровым контролем ($2,70 \pm 0,64$ пг/мл) ($p = 0,13$). Благодаря сильным противовоспалительным свойствам, IL-10 играет ключевую роль в ограничении иммунного ответа организма на чужеродные антигены и необходим для противодействия гипериммунной реакции и поддержания нормального гомеостаза тканей. IL-10 продуцируется различными клетками, включая Т-хелперы, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, В-клетки, цитотоксические Т-клетки, NK-клетки, нейтрофилы и эозинофилы, эпителиальные клетки и кератиноциты, а также опухолевые клетки.

Иммуносупрессивная активность IL-10 опосредована гетеродимерным рецептором IL-10 (IL-10R), состоящим из двух различных субъединиц (IL-10R1 и IL-10R2). Хотя комплекс рецепторов IL-10 экспрессируется в различной степени во многих других типах клеток, моноциты и макрофаги, по-видимому, являются основной мишенью для IL-10. Лигирование рецепторов активирует передачу сигналов JAK/STAT, что приводит к серьезным изменениям в профиле экспрессии иммуномодулирующих генов, которые служат для ингибирования высвобождения провоспалительных медиаторов и одновременно усиливают ингибирующую функцию этих клеток. Также IL-10 может усиливать общий противовоспалительный эффект за счет высвобождения таких противовоспалительных молекул, как IL-1Ra, растворимого рецептора TNF и IL-27 [50; 131].

3.1.3 Сывороточные уровни факторов роста и ангиогенеза (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF и PDGF) у женщин с миомой матки

При сравнении количественных характеристик исследованных цитокинов

обращает на себя внимание значительная дисперсия практически всех регуляторных факторов в сыворотке крови обследованных женщин. Это заключение подтверждается как значениями минимальных и максимальных показателей, представленных в таблице 15, так и значительными различиями в показателях средних величин и медианных критериев для всех исследованных цитокинов.

Таблица 15 – Концентрации факторов роста гемопозза и ангиогенеза в сыворотке крови женщин с миомой матки

Статистические показатели		IL-5	IL-7	IL-9	FGF- β	G-CSF	VEGF	PDGF
Среднее		2,22	8,16	89,75	46,32	54,26	79,72	4 212,52
Стандартная ошибка среднего значения		0,39	0,75	4,84	3,97	3,50	8,35	388,62
Среднеквадратическое отклонение		2,35	4,51	29,06	23,82	21,02	50,09	2 331,71
Минимум		0,01	1,82	54,32	22,53	20,20	9,93	1 400,43
Максимум		7,54	22,54	221,13	162,67	95,50	201,28	11 144,54
Мода		0,01	2,80	54,32	22,53	20,20	9,93	1 400,43
Медиана		1,36	7,73	84,14	43,13	51,58	70,39	3757,18
Процентили	Q1	0,01	4,24	72,56	33,96	36,88	35,96	2 499,72
	Q3	4,21	11,22	98,05	49,26	69,66	115,84	5 046,98

Кроме того, привлекают внимание значительные различия в абсолютных значениях содержания исследованных ростовых факторов в сыворотке крови женщин с ММ. Так, если содержание IL-5 характеризуется величиной $(2,23 \pm 0,39)$ пг/мл, то концентрация PDGF в тех же сыворотках достигает уже величины $(4\ 212,53 \pm 388,62)$ пг/мл, то есть практически в тысячи раз выше. Речь здесь, конечно, идет об абсолютных значениях концентраций белков, а не сравнительной активности этих регуляторных факторов, которую можно сопоставить лишь в соответствующих клеточных тест-системах.

Переходя к вопросу о сопоставлении полученных результатов со значениями исследованных показателей у женщин без ММ, мы обратились к нормативным

значениям, полученным на значительной выборке практически здоровых женщин европеоидного происхождения, полученных лабораторией «Bio-Rad» [48]. В этих исследованиях проведен тщательный анализ результатов исследования цитокинов в сыворотке крови в зависимости от пола, возраста, этнической принадлежности обследованных лиц, от времени исследования и даже от использования различных пластиковых планшетов при исследовании полученного образца сыворотки крови. Результаты этих исследований, статистический анализ которых проведен с помощью программного обеспечения Bio-Plex Manager software v. 6.2, признаны пригодными в качестве нормативных значений. Несмотря на то, что результаты исследования 25 из 27 цитокинов (за исключением MCP-1 и TNF- α) не выявили гендерных различий, для сопоставления нами использованы данные исследования сывороток группы из 94 здоровых женщин [48].

Результаты проведенного исследования показали наличие тенденции к снижению в сыворотке крови женщин с ММ таких ростовых факторов, оказывающих стимулирующее воздействие на процессы гемопоэза и ангиогенеза, как IL-9 и FGF. Хотя при оценке полученных различий с помощью одностороннего критерия Стьюдента получены значения $p = 0,0001$ и $0,052$ соответственно, при использовании более точного двустороннего критерия эти различия утрачивают значения достоверности ($p = 0,314$).

Гораздо более значимые результаты получены при сопоставлении полученных данных об уровне остальных пяти исследованных ростовых факторов в сыворотке крови женщин с ММ. Так, концентрация IL-5 с его способностью воздействовать на активность эозинофильных клеток снижена до $(2,23 \pm 0,39)$ пг/мл по сравнению с $(8,0 \pm 1,68)$ пг/мл, характерной для содержания в сыворотке крови здоровых женщин европеоидного происхождения ($p = 0,001$).

Еще более значимым оказалось снижение содержания в сыворотке крови женщин с ММ такого плеiotропного лимфопоэтического фактора, как IL-7. Его средняя концентрация в сыворотке крови обследованных нами пациенток составила $(8,16 \pm 0,75)$ пг/мл, что значительно ниже присущего здоровым женщинам уровня концентрации $(59,5 \pm 14,62)$ пг/мл ($p = 0,0006$).

Сходным образом характеризуются и результаты определения в сыворотке крови женщин с ММ гранулоцитарного колониестимулирующего фактора GM-CSF. Его концентрация в сыворотке крови женщин с ММ составляет $(54,26 \pm 3,5)$ пг/мл, что достоверно ниже, чем аналогичный показатель, установленный для практически здоровых женщин $(93,7 \pm 9,33)$ пг/мл ($p = 0,0001$).

Поскольку рост опухолевой массы как злокачественного, так и доброкачественного характера сопровождается развитием процессов ангиогенеза и васкулогенеза, особое внимание при исследовании ростовых факторов обращено на такие проангиогенные факторы, как VEGF и PDGF. Их концентрация в сыворотке крови женщин с ММ также оказалась значительно сниженной, соответственно, в 3 и в 6 раз. Концентрация фактора роста сосудистого эндотелия VEGF в сыворотке крови женщин с ММ составляет $(79,72 \pm 8,35)$ пг/мл, тогда как в сыворотке крови женщин контрольной группы его уровень составил $(263,3 \pm 22,95)$ пг/мл ($p < 0,00$).

Аналогичным образом изменена и концентрация в сыворотке крови женщин с ММ тромбоцитарного фактора роста PDGF. Усредненный показатель его содержания составляет $(4\ 212,53 \pm 388,62)$ пг/мл, тогда как в группе здоровых женщин он определяется в концентрации $(27\ 537,4 \pm 2\ 676,95)$ пг/мл ($p < 0,00$).

Снижение концентрации сывороточного G-CSF оказалось не только значительно выраженным (практически в 2 раза) относительно здоровых женщин, но тесно коррелировало с изменениями концентраций таких факторов, как IL-5, IL-7 и IL-9, коэффициент корреляции которых составляет соответственно 0,723, 0,637 и 0,504 (Таблица 16).

Таблица 16 – Результаты корреляционного анализа концентраций факторов роста гемопоэза и ангиогенеза в сыворотке крови женщин с миомой матки

Показатели	IL-5	IL-7	IL-9	FGF- β	G-CSF	VEGF	PDGF
IL-5	1	0,524	0,464	0,288	0,723	0,332	0,308
		0,001	0,004	0,089	< 0,001	0,048	0,068

Продолжение таблицы 16

Показатели	IL-5	IL-7	IL-9	FGF-β	G-CSF	VEGF	PDGF
IL-7	0,524	1	0,393	0,551	0,637	0,567	0,700
	0,001		0,018	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
IL-9	0,464	0,393	1	0,387	0,504	0,304	0,419
	0,004	0,018		0,020	0,002	0,071	0,011
FGF-β	0,288	0,551	0,387	1	0,484	0,318	0,416
	0,089	< 0,001	0,020		0,003	0,059	0,012
G-CSF	0,723	0,637	0,504	0,484	1	0,438	0,488
	< 0,001	< 0,001	0,002	0,003		0,008	0,003
VEGF	0,332	0,567	0,304	0,318	0,438	1	0,436
	0,048	< 0,001	0,071	0,059	0,008		0,008
PDGF-BB	0,308	0,700	0,419	0,416	0,488	0,436	1
	0,068	< 0,001	0,011	0,012	0,003	0,008	
Примечание: верхняя строка – значения коэффициента корреляции Спирмена; нижняя строка – уровень значимости коэффициента корреляции.							

Таким образом, можно заключить, что, по нашим данным, при развитии ММ отмечается значительное возрастание содержания ростовых факторов, участвующих в процессах гемопоэза и ангиогенеза, в тканях миометрия и растущей лейомиомы, что сопровождается, снижением в той или иной степени концентраций этих регуляторных белков в сыворотке крови.

3.1.4 Концентрации хемокинов CCL (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES и EOTAXIN) у женщин с миомой матки

Одноэтапный анализ сывороточных уровней 5 хемокинов в одном образце показал, что они имели разнонаправленные изменения. Особого внимания заслуживает значительный разброс сывороточной концентрации этих регуляторных факторов. Это наблюдение подтверждается как минимальными, так и максимальными концентрациями цитокинов, представленными в Таблице 17, и значительными различиями их среднего и медианного уровней.

Таблица 17 – Концентрации CCL-хемокинов в сыворотке крови женщин с миомой матки

Статистический показатель		Eotaxin	MCP-1	MIP-1 α	MIP-1 β	RANTES
Среднее		86,40	38,85	5,08	152,41	15 479,43
Стандартная ошибка среднего значения		6,85	6,70	1,03	14,39	1 010,56
Среднеквадратическое отклонение		41,09	40,23	6,17	86,38	6 063,37
Минимум		15,25	0,01	1,31	52,56	2 343,54
Максимум		221,35	154,49	34,44	458,05	26 753,76
Мода		15,25	0,01	1,31	52,56	2 343,54
Медиана		81,18	31,96	2,81	139,62	16 087,22
Процентили:	25 (Q1)	59,37	7,16	2,29	94,15	9 997,79
	75 (Q3)	108,88	58,73	5,83	176,98	20 315,50

Особого внимания заслуживают статистически значимые различия абсолютных сывороточных концентраций хемокинов с провоспалительной активностью у пациенток с ММ, выраженные в пикограммах на 1 мл. Например, медиана уровня MIP-1 α составляет 2,81 (2,29; 5,83) пг/мл, а медиана уровня RANTES в той же пробе достигает 15 479 пг/мл, т. е. в 5 000 раз выше. Речь, конечно же, идет об абсолютных концентрациях белка, а не о сравнительной активности этих регуляторных факторов, которые можно сравнивать только с помощью клеточных тест-систем.

Чтобы сравнить наши результаты с исследованиями женщин без патологии, мы обратились к нормативным значениям из выборки 94 здоровых женщин европеоидной расы, полученным Центром иммунологии человека, аутоиммунитета и воспаления Национальных институтов здравоохранения США, сотрудничающих с разработчиком набора 27-plex тест-системы «Bio-Rad» [48]. Авторами показано, что концентрация хемокинов в сыворотке крови не была значимо связана с возрастом у женщин в возрасте 40 лет, как и у участниц нашего исследования. Референсные концентрации [M (SD)] 5 хемокинов были следующими: MCP-1 – 55,40 (45,43), MIP-1 α – 15,10 (21,52), MIP-1 β – 173,50 (105,23), RANTES – 11 848,90 (7 298,92), а Eotaxin – 257,40 (209,01).

Результаты этих исследований были получены с помощью Bio-Plex Manager 6.2 статистического обеспечения и были признаны референтными значениями для здоровых женщин европеоидной расы. Поэтому термин «уровень у здоровых женщин» будет относиться к концентрациям 5 хемокинов, взятым из вышеуказанного источника литературы и представленным как среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD).

Наиболее стабильными были сывороточные концентрации MIP-1 β как у здоровых женщин, так и у женщин с ММ с практически одинаковыми уровнями ($p = 0,24$). Сывороточные уровни эотаксина, MCP-1 и MIP-1 α у женщин с ММ были статистически значимо ниже, чем у здоровых женщин ($p < 0,001$, $p = 0,04$ и $p < 0,001$ соответственно). Наибольшие различия наблюдались в концентрациях MIP-1 α и эотаксин, которые были почти в 3 раза ниже у женщин с ММ. Эти данные, вероятно, свидетельствуют о низкой активности воспалительных или эозинофильно-аллергических процессов, происходящих в миометрии при развитии ММ, поскольку хемокин CCL11 и представители его подсемейства CC24 и CCL26 являются хемоаттрактантами для эозинофилов [209].

Также можно предположить, что снижение уровня MIP-1 α приводит к недостаточной активации Т-лимфоцитов, что в свою очередь может служить одним из факторов недостаточного контроля над пролиферацией миоцитов, а недостаточный уровень такого сильного хемотаксического фактора, как MCP-1, приводит к снижению интенсивности миграции клеток с антиген презентирующей функцией в очаги плохо контролируемых очагов пролиферативной активности миоцитов. Сопутствующее снижение активности этих важнейших регуляторных процессов может способствовать нарушению нормального течения ремоделирования миометрия при ММ.

Противоположные результаты наблюдались в концентрациях RANTES в сыворотке крови, которые были значительно выше ($p = 0,01$) у женщин с ММ. Учитывая важную роль этого белка в рекрутировании и дифференцировке моноцитов в артериальной стенке, можно предположить, что повышение уровня RANTES в сыворотке может отражать активацию неоангиогенеза в растущих

очагах ММ. Кроме того, комплекс CCL5 и его рецептора CCR5 участвует в рекрутировании регуляторных иммунных клеток в опухоль, вызывая локальную иммуносупрессию и способствуя опухолевой прогрессии.

Разнонаправленный характер изменений исследуемых цитокинов при ММ подтверждают и результаты корреляционного анализа, представленные в Таблице 18.

Таблица 18 – Результаты корреляционного анализа концентраций CCL-хемокинов в сыворотке крови женщин с миомой матки

Показатели	Eotaxin	MCP-1	MIP-1 α	MIP-1 β	RANTES
Eotaxin	1	0,318	0,466	0,389	–0,075
		0,059	0,004	0,019	0,665
MCP-1	0,318	1	0,154	0,050	0,560
	0,059		0,370	0,773	< 0,001
MIP-1 α	0,466	0,154	1	0,859	–0,406
	0,004	0,370		< 0,001	0,014
MIP-1 β	0,389	0,050	0,859	1	–0,443
	0,019	0,773	< 0,001		0,007
RANTES	–0,075	0,560	–0,406	–0,443	1
	0,665	< 0,001	0,014	0,007	
Примечание: верхняя строка – значения коэффициента корреляции Спирмена; нижняя строка – уровень достоверности (значимости) коэффициента корреляции.					

Эти данные показывают, что у пациенток с ММ повышение концентрации RANTES в сыворотке крови сопровождается снижением сывороточных уровней эотаксина, MIP-1 α и MIP-1 β (отрицательные корреляции). В то же время снижение концентрации хемокинов CCL2, CCL3, CCL4 и CCL11 прямо коррелировало друг с другом.

Показатели содержания в сыворотках крови женщин с ММ таких хемокинов, как Eotaxin, MCP-1 и MIP-1 α , оказались статистически значимо более низкими в сравнении с данными, полученными при исследовании образцов здоровых женщин. Концентрация сывороточного MIP-1 β идентична в обеих

группах сравнения. Концентрация RANTES оказалась достоверно повышена в сыворотке крови женщин с ММ. Разнонаправленный характер изменений исследуемых хемокинов при ММ, подтверждается результатами корреляционного анализа, из которых следует, что повышение уровня концентрации RANTES, сопровождается снижением содержания в сыворотке крови пациенток с ММ Eotaxina, MIP-1 α и MIP-1 β . При этом снижение концентраций хемокинов CCL2, CCL3, CCL4 и CCL11 прямо коррелирует между собой.

В целом, можно сделать вывод, что развитие ММ связано с нарушением функционирования хемокиновой сети, проявляющимся разнонаправленными и коррелирующими изменениями сывороточных концентраций хемокинов CCL.

3.2 Баланс цитокинов, регулирующих активность воспаления, в сыворотке крови пациенток с миомой матки

Результаты ИФА выявили значительное превышение концентраций IL-1 β в сыворотке крови пациенток с ММ относительно женщин контрольной группы. Так, медиана содержания этого цитокина в сыворотке крови пациенток составило 51,43 (39,66; 62,50) пг/мл, что значительно превышает контрольные значения (почти 6-кратно), полученные при исследовании сывороток крови здоровых женщин, как в наших исследованиях ($p < 0,001$), так и в работах других лабораторий при использовании тех же тест-систем фирмы «Вектор Бест» [22; 25]. При исследовании сывороток крови здоровых женщин нами определены «нормативные значения» для данного цитокина – 9,00 (6,32; 12,96) пг/мл (Таблица 19).

Таблица 19 – Концентрации цитокинов (пг/мл) с провоспалительной и противовоспалительной активностью в сыворотке крови пациенток с миомой матки и женщин контрольной группы

Показатели	Контрольная группа (n = 92)	Пациентки с ММ (n = 109)	p
IL-1	9,00 (6,32; 12,96)	51,43 (39,66; 62,50)	< 0,001
IL-6	1,93 (0,95; 3,00)	8,93 (4,95; 14,11)	< 0,001
IL-4	2,42 (0,97; 5,86)	4,09 (2,36; 6,94)	< 0,001
IL-10	8,18 (5,33; 0,65)	7,76 (5,43; 10,78)	0,804
Примечание: данные представлены как медианы и интерквартильный размах: Me (Q ₀₂₅ ; Q ₀₇₅); p – статистическая значимость по U-критерию Манна – Уитни (двусторонняя).			

Клинико-иммунологический анализ всей группы обследованных нами пациенток с ММ выявил зависимость уровня концентрации IL-1 в сыворотке крови от состояния эндометрия, установленного по результатам предоперационной гистероскопии. В группу пациенток с патологическими изменениями вошли женщины с установленными признаками хронического эндометрита, с полипами эндометрия и с гиперплазией эндометрия без атипии (Таблица 20).

Таблица 20 – Концентрации цитокинов (пг/мл) с провоспалительной и противовоспалительной активностью в сыворотке крови пациенток с миомой матки в зависимости от изменений эндометрия по результатам гистероскопии

Содержание цитокинов, пг/мл	Результаты гистероскопии		p
	ММ без патологии эндометрия (n = 42)	ММ с хроническим эндометритом (n = 67)	
IL-1	45,98 (32,31; 54,11)	51,16 (40,62; 65,36)	0,049
IL-6	6,22 (3,88; 11,67)	9,67 (5,22; 14,60)	0,045
IL-4	3,92 (2,22; 6,94)	4,25 (2,44; 7,05)	0,611
IL-10	6,72 (5,17; 9,31)	7,93 (6,12; 11,81)	0,251
Примечание: данные представлены как медианы и интерквартильный размах: Me (Q ₀₂₅ ; Q ₀₇₅); p – статистическая значимость по U-критерию Манна – Уитни (двусторонняя).			

Из результатов, представленных в таблице 20, следует, что более высокие значения концентрации IL-1 выявляются в группе женщин с различными вариантами патологии эндометрия ($p = 0,049$), что, очевидно, связано с развитием воспалительного процесса при хроническом эндометрите. Хотя нельзя не отметить, что имеет место значительное увеличение концентрации этого цитокина с провоспалительной активностью и при неосложненной ММ, что вероятно, характеризует повышенную пролиферативную активность самого миометрия.

Из представленных данных следует также, что изменение концентраций в сыворотке крови второго исследованного цитокина с провоспалительной активностью – IL-6 – подчинены тем же закономерностям. Значительное возрастание концентрации данного регуляторного фактора во всей группе пациенток с ММ ($p < 0,001$) максимально выражено среди пациенток с хроническим эндометритом. Можно с уверенностью констатировать, что более чем 4-кратное превышение концентрации IL-6 в сыворотке крови пациенток над его содержанием в сыворотке крови женщин контрольной группы свидетельствует о нарастании провоспалительной активности обоих цитокинов при ММ (см. Таблицу 20).

Синхронность в изменениях концентраций обоих провоспалительных цитокинов в сыворотке крови подтверждается и результатами корреляционного анализа, показывающего наличие заметной положительной связи между концентрациями IL-1 и IL-6, как у здоровых женщин ($r_s = 0,58$, $p < 0,01$), так и, особенно, у пациенток с ММ ($r_s = 0,63$, $p < 0,01$).

Как видно из таблицы 19, абсолютное содержание цитокинов с противовоспалительной активностью отличается от нормативных значений гораздо в меньшей степени. Концентрация IL-4 в сыворотке крови пациенток составляет 4,09 (2,36; 6,94) пг/мл, что лишь незначительно, хотя и статистически значимо, превышает значения в сыворотке женщин без ММ. Эти наши данные подтверждаются и результатами исследований в других отечественных лабораториях, использующих реактивы фирмы АО «Вектор-Бест» [22; 25]. Исключением является лишь концентрация IL-10 в сыворотке крови здоровых

женщин, которая составила 8,18 (5,33; 10,65) пг/мл, что несколько превышает нормативные значения, опубликованные в работе [22]. Однако необходимо отметить, что данные нашей лаборатории получены на значительно больших выборках исследованных сывороток крови, как здоровых женщин, так и пациенток с ММ.

Характерно, что в как случае с IL-4, так и IL-10 отсутствовали различия в концентрациях обоих представителей противовоспалительной части цитокиновой сети с наличием и отсутствием патологических изменений в эндометрии, что свидетельствует об изолированном преобладании про- воспалительной активности над противовоспалительной при ММ.

Корреляционный анализ также выявил наличие прямой связи между концентрациями обоих цитокинов с противовоспалительной активностью, как в контрольной группе ($r_s = 0,70$, $p < 0,01$), так и у пациенток с ММ ($r_s = 0,42$, $p < 0,01$). Результаты сравнительного анализа данных по концентрациям анализируемых цитокинов в сыворотках крови женщин основной и контрольной групп представлены в Таблице 21.

Так, пролиферация миоцитов при развитии ММ сопровождается статистически значимым возрастанием сывороточных концентраций цитокинов TNF- α , IL-1, IL-4, IL-6 и хемокина IL-8 с высоким уровнем значимости различий с контрольной группой ($p < 0,001$). Обращает на себя внимание, что среди этой группы регуляторных факторов содержатся цитокины с различным и зачастую альтернативным характером воздействия на интенсивность процессов воспаления, ангиогенеза, фиброгенеза и ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса. Скорее всего, это свидетельствует о сложном характере нарушений в балансе регуляторных процессов цитокиновой сети при гиперплазии трансформированных клеток миометрия.

Таблица 21 – Результаты непараметрического корреляционного анализа концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с миомой матки и контрольной группы

Цитокины		Миома матки						
		TNF- α	IL-1	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	VEGF
Контрольная группа	TNF- α	1	0,797**	0,193	0,664**	0,328**	0,149	-0,211
	IL-1	0,551**	1	-0,041	0,634**	0,335**	0,042	-0,281*
	IL-4	0,686**	0,536**	1	0,191	-0,008	0,422**	-0,094
	IL-6	0,446**	0,584**	0,465**	1	0,411**	0,248*	-0,194
	IL-8	0,033	0,235*	0,226*	0,112	1	0,107	0,203
	IL-10	0,608**	0,680**	0,698**	0,549**	0,046	1	-0,162
	VEGF	-0,009	0,208	0,082	0,283**	-0,016	0,165	1
Примечание: значения выше диагонали представляют собой коэффициенты корреляций у пациенток с миомой матки, а ниже диагонали – в контроле; * – корреляция статистически значима на уровне $< 0,05$; ** – на уровне $< 0,01$.								

Не подчиняется этой общей тенденции стабильный уровень сывороточной концентрации IL-10 ($p = 0,804$) – цитокина с выраженными противовоспалительными свойствами [23]. Своим закономерностям подчиняются и изменения концентрации VEGF, уровень которого значимо снижен у пациенток с ММ по отношению к группе сравнения ($Me = 344,74$ и $496,84$ пкг/мл соответственно). На наш взгляд, это может свидетельствовать о стремлении системы регуляции ограничить кровоснабжение новых миоматозных узлов с центрами пролиферативной активности миоцитов и препятствовать неограниченной прогрессии заболевания. Это предположение подтверждается при сравнении сывороточной концентрации VEGF среди пациенток с единичным миоматозным узлом с концентрацией этого фактора среди женщин с множественными миоматозными узлами. В этом случае концентрация VEGF значимо возрастала с $315,63$ ($218,94$; $397,25$) до $383,78$ ($266,39$; $482,48$) пкг/мл ($p = 0,035$).

С целью создания общей сравнительной картины динамики изменений

уровней концентрации всех исследованных семи цитокинов, нами использован метод расчета индексов изменений их значений, представляющий собой частное от деления медианных значений, выявленных в группе пациентов с ММ, на аналогичный показатель, характерный для группы сравнения. Этот условный индекс показывает, во сколько раз меняется исследуемый показатель при развитии ММ, и позволяет на одной диаграмме сопоставить степень и направленность изменений для целого ряда признаков (Рисунок 2).

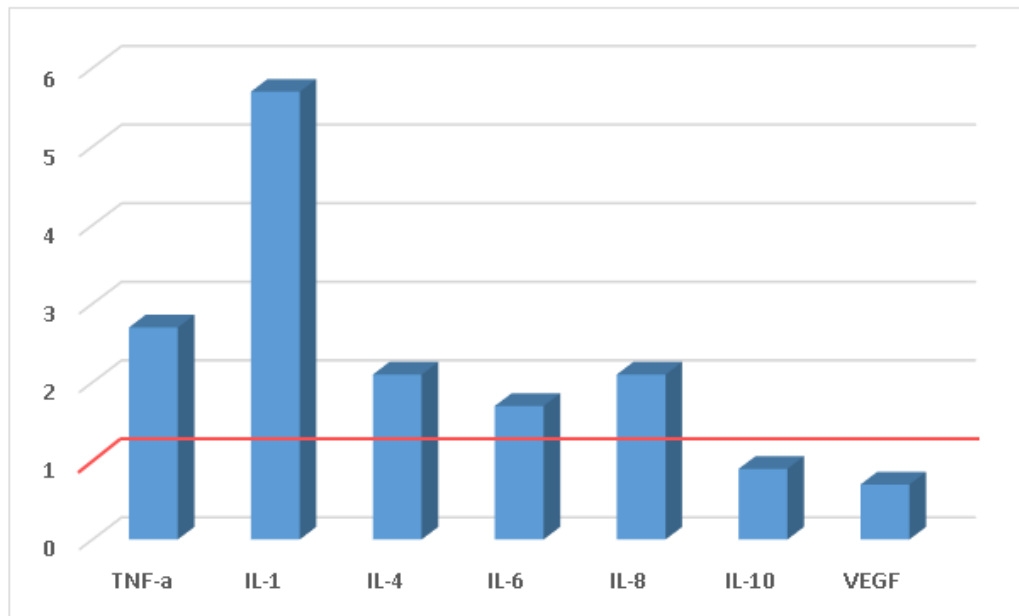


Рисунок 2 – Индексы изменений концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с миомой матки относительно женщин контрольной группы. Красная линия (уровень 1 по оси абсцисс) — медианы концентраций цитокинов у женщин контрольной группы

Из данных, представленных на рисунке 1, обращает на себя внимание максимальный уровень преобладания концентрации сывороточных цитокинов с активационными функциями (TNF-α, IL-1, IL-6 и хемокина IL-8), тогда как концентрация цитокинов с противовоспалительной активностью меняется незначительно (например, IL-10).

Наряду с количественными характеристиками уровня концентрации

цитокинов в сыворотке крови, значительной информативностью обладают показатели взаимосвязей между измеряемыми параметрами, являющимися показателями сетевого характера функциональной активности цитокинов и хемокинов. Наибольшей информативностью в этом плане обладают показатели корреляционного анализа (см. Таблицу 21).

При таком анализе обращают на себя внимание тесные корреляционные отношения между концентрациями цитокинов с провоспалительной активностью у здоровых женщин. Так, показатели концентрации TNF- α тесно коррелируют с концентрациями IL-1 и IL-6 ($r_s = 0,551$ и $0,446$ соответственно, $p < 0,01$); два последних показателя тесно связаны между собой ($r_s = 0,584$; $p < 0,01$). Столь же тесно коррелируют между собой концентрации цитокинов с противовоспалительной активностью IL-4 и IL-10 ($r_s = 0,698$; $p < 0,01$). Для концентрации VEGF характерно отсутствие статистически значимых корреляционных отношений с большинством показателей исследованных цитокинов. Выявленные тесные корреляционные отношения обладают выраженной устойчивостью и повторяются с небольшими вариациями и в группе пациенток с ММ. При этом в группе пациенток с миомой матки выявлены прямые корреляции: между TNF- α и IL-1 ($r_s = 0,797$, $p < 0,01$); между TNF- α и IL-6 ($r_s = 0,664$, $p < 0,01$); между IL-1 и IL-6 ($r_s = 0,634$, $p < 0,01$).

Для сравнительного анализа структуры корреляционных связей концентраций цитокинов в сыворотке крови контрольных женщин и пациенток с ММ нами проведена графическая визуализация корреляционных матриц, представленных в Таблице 21, в виде двух корреляционных графов (Рисунок 3) с последующим выделением из них групп тесно коррелирующих факторов (плеяд), характерных для обеих выборок обследованных и ортогональных (не коррелирующих между собой) информативных функциональных агрегаций, специфичных для каждой альтернативной группы обследованных.

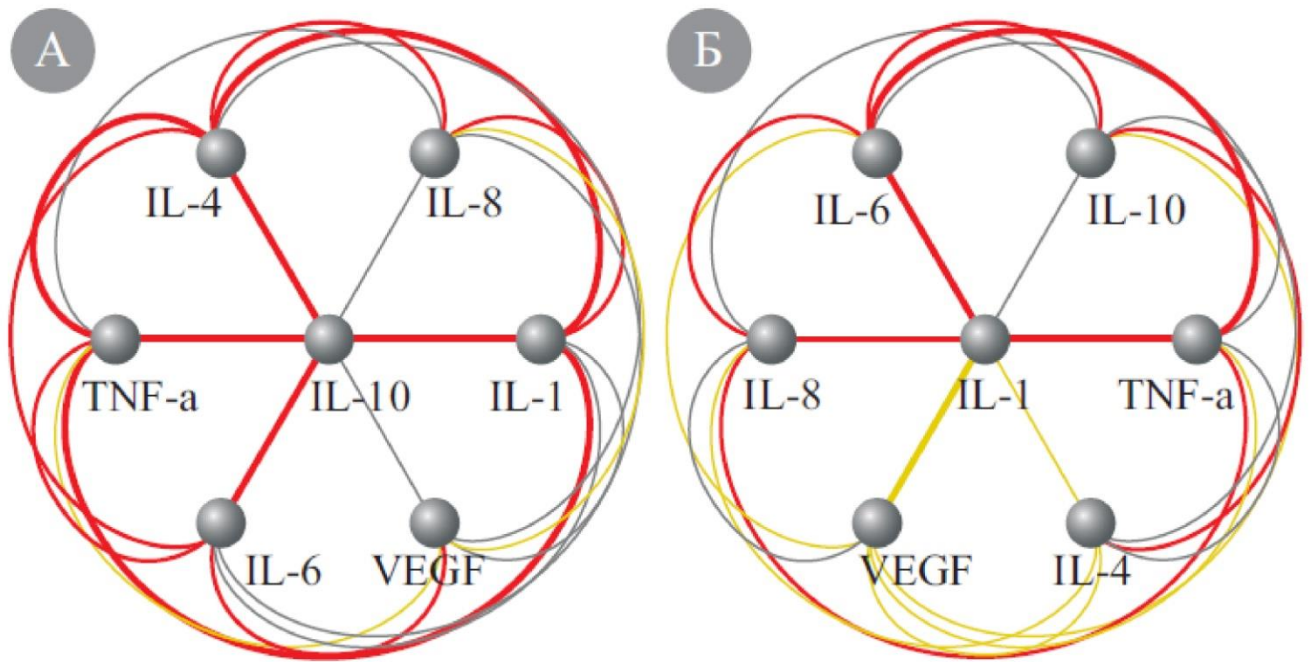


Рисунок 3 – Корреляционный граф положительных (красные линии) и отрицательных (желтые линии) связей концентраций цитокинов в сыворотке крови женщин контрольной группы (А) и пациенток с миомой матки (Б)

Обе коррелограммы представлены в виде расширенной до сети «звезды» с дополнительными боковыми связями, но принципиально разными центральными элементами: при ММ это концентрация провоспалительного цитокина IL-1, а у женщин контрольной группы – концентрация противовоспалительного цитокина IL-10.

Так как корреляционные связи между концентрациями цитокинов образуют разнообразные фигуры графов, непосредственный сравнительный анализ корреляционных матриц представляет значительную трудность. Для выделения главных зависимостей, на наш взгляд, целесообразно прибегнуть к такому методу многомерной статистики, как метод корреляционных плеяд, позволяющий сократить размерность факторного пространства корреляционной матрицы.

Используя метод выделения максимальных взаимосвязей между признаками в корреляционном графе, нам удалось получить три варианта корреляционных плеяд – группу корреляций, общих для женщин основной группы и группы

сравнения, представленных шестью парами положительных корреляций (IL-1 – IL-6; IL-1 – IL-8; IL-4 – IL-10; IL-6 – IL-10; TNF- α – IL-1; TNF- α – IL-6) со значениями коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s) от 0,34 до 0,80 ($p < 0,01$).

Наряду с этим получены две группы ортогональных коррелограмм – одна характерна только для здоровых женщин (6 уникальных положительных корреляций: IL-1 – IL-4; IL-1 – IL-10; IL-4 – IL-6; IL-4 – TNF- α ; IL-6 – VEGF; IL-10 – TNF- α) с диапазоном значений r_s в пределах 0,30–0,69 ($p < 0,01$), а вторая группа специфична только для пациенток с ММ: три разнонаправленные корреляции – IL-6 – IL-8 ($r_s = 0,41$, $p < 0,01$), TNF- α – IL-8 ($r_s = 0,33$, $p < 0,01$) и IL-1 – VEGF ($r_s = -0,30$, $p < 0,05$).

Важной особенностью представленных выше двух ортогональных групп корреляционных плеяд является их различная функциональная направленность – все парные корреляции у здоровых женщин представлены комбинациями про- и противовоспалительных цитокинов (сбалансированные пары), тогда как для миомы матки характерны комплексы из коррелирующих пар только провоспалительных цитокинов (разбалансированные пары).

Одним из наиболее значимых результатов проведенного исследования является установление факта значительного повышения при ММ сывороточной концентрации IL-6, которая в 4,5 раза превышает медианное значение этого показателя, характерного для здоровых женщин. Обычно данные такого рода трактуют как свидетельство усиления провоспалительной активности цитокиновой сети. Однако необходимо отметить, что IL-6 обладает достаточно широким воздействием на течение таких процессов в организме, как метаболизм и регенерация тканей, ремоделирование кроветворения в костной ткани, липидный баланс, поляризация макрофагов из M1- в M2-фенотип, пролиферация кишечного эпителия и т. д. [128]. Вероятно, с этим отчасти связаны неоднозначные результаты терапевтического применения многочисленных препаратов с анти-IL-6 активностью: клазакизумаба, сирукумаба, силтуксимаба, олокизумаба и т. п. [126].

Еще более выраженное возрастание концентрации IL-1 в сыворотке крови

установлено среди пациенток с ММ. Его медианное значение превышает условно «нормативные» значения более чем в 5 раз. Члены семейства IL-1 играют центральную роль в иммунной системе. Они активно участвуют в регуляции реакций врожденного иммунитета и индукции реакций адаптивного иммунитета. Целая группа цитокинов, рецепторов и вспомогательных белков составляют это сложное семейство. Их активация и экспрессия уравниваются различными регуляторными механизмами, нарушение которых приводит к патологическим воспалительным реакциям. Образующаяся провоспалительная среда включает IL-1R, IL-12, IL-23, IL-6, TNF, CCL1, CXCL1, CXCL2, CXCL8 и GM-CSF.

В отличие от других цитокинов семейства IL-1, цитокины IL-36 продуцируются в качестве предшественников, но не содержат сайта расщепления каспазой. После секреции они активируются протеазами, присутствующими во внеклеточных нейтрофильных ловушках, такими как эластаза, катепсин G и протеиназа 3, а также катепсином S. Кроме того, секретируются ингибиторы протеазы α_1 -антитрипсин и α_1 -антихимотрипсин (кодируемые генами *SERPINA1* и *SERPINA3*), которые ингибируют процессинг цитокинов IL-36 нейтрофильными протеазами и, таким образом, регулируют воспалительную реакцию [132].

Возрастание сывороточной концентрации TNF- α в группе пациенток с ММ почти в 3 раза также является значимым моментом. Функциональная значимость этого цитокина чрезвычайно широка и одним из заметных ее проявлений является опосредование выживания клеток и провоспалительного ответа TNF- α через NF- κ B и белок-активатор (AP-1). Кроме того, TNF- α инициирует сигнальные пути гибели клеток, опосредованные Fas и каспазой.

Для обеспечения инфильтрации иммунных клеток в локальный очаг воспаления, например, при травматическом повреждении, необходима вазодилатация.

Мощными вазодилататорами являются NO и простагландины, такие как простагландин PGI₂ или PGE₂, который может быть индуцирован TNF- α через iNOS и способствовать повышению уровня циклооксигеназы 2-го типа (ЦОГ-2). Кроме того, экспрессия молекул адгезии E-селектина или ICAM-1, которая

способствует экстравазации моноцитов и нейтрофилов, регулируется TNF- α . Антагонисты TNF- α (этанерцепт, инфликсимаб или адалимумаб) оказались высокоэффективными для лечения аутоиммунных заболеваний, таких как псориаз, болезнь Крона или ревматоидный артрит [52; 135].

В группе пациенток с ММ в 2 раза повышена концентрация хемокина IL-8. IL-8 (CXCL8) представляет собой провоспалительный хемокин, член семейства СХС-хемокинов, продуцируемый при воспалительных состояниях. Наиболее заметная роль IL-8 заключается в привлечении нейтрофилов к местам воспаления, а также в содействии росту и дифференцировке моноцитов-макрофагов, выживанию эндотелиальных клеток, пролиферации и ангиогенезу [125]. Биологические эффекты IL-8 индуцируются при взаимодействии с его трансмембранными рецепторами CXCR1 и CXCR2, связанными с G-белком, и активации воспалительных путей, опосредованных Akt (протеинкиназой B).

IL-6, IL-8 и соответствующие им рецепторы экспрессируются в эндометрии на протяжении всего менструального цикла. IL-6 и IL-8 преимущественно локализуются в эпителиальных и железистых клетках эндометрия. IL-6R и gp130 экспрессируются в железистых клетках эндометрия, а CXCR1 и CXCR2 локализуются на поверхности эпителия эндометрия, в железистых клетках эндометрия и, в меньшей степени, на стромальных клетках. И IL-6, и IL-8 демонстрируют паттерн экспрессии, зависящий от менструального цикла, что указывает на их роль в физиологии эндометрия. Сочетанные изменения сывороточных концентраций IL-6, IL-8 и TNF- α могут служить биомаркером развития патологического процесса, связанного не только с развитием патологии эндометрия матки, но и рака яичника, а также с инициацией развития гепатоцеллюлярной карциномы [64; 78; 117; 167].

Что касается изменений концентраций цитокинов с противовоспалительной активностью, их изменения при ММ или небольшие (IL-4), или незначимы (IL-10). Не совсем объяснимы результаты, показывающие достоверное снижение концентрации в сыворотке крови стимулятора ангиогенеза VEGF при ММ ($p < 0,001$). При нарастании мышечной массы матки и формировании

миоматозных узлов следовало бы ожидать появления признаков усиления неоангиогенеза, формирования новых сосудистых сетей и увеличения площади сосудистого эндотелия. Это предположение подтверждается при сравнении сывороточной концентрации VEGF среди пациенток с единичным выявленным миоматозным узлом и концентрации этого фактора у женщин с множественными миоматозными узлами.

В этом случае концентрация VEGF, как было показано выше, значимо возрастает с 315,63 (218,94; 397,25) до 383,78 (266,39; 482,48) пг/мл ($p = 0,035$). Однако вопрос о причинах снижения концентрации VEGF в сыворотке крови во всей группе пациенток с ММ остается открытым. Дальнейшего анализа требует и отсутствие статистически значимых позитивных корреляционных связей изменений концентраций VEGF со всеми исследованными цитокинами. Одной из гипотез, возможно проясняющей этот момент, может служить наличие в структуре рецептора VEGFR1 короткого растворимого белка sFlt-1, способного захватывать VEGF и подавляющего ангиогенез, связывая PlGF, экспрессия которого возрастает при опухолевом росте [63]. Данные по экспрессии PlGF при ММ нами в литературе не обнаружены.

Результаты проведенного исследования показывают значительные изменения таких значимых параметров функционирования цитокиновой сети, как концентрации исследуемых цитокинов в сыворотке крови при миоматозной трансформации миометрия. Значительное повышение концентраций ряда цитокинов выявлено непосредственно в периферической крови. Вероятно, это косвенно свидетельствует о системном характере нарушений регуляции синтеза цитокинов, но и об изменении характера их регуляторного воздействия на функционал многочисленных клеток взаимодействующих тканевых структур матки.

Результаты исследования указывают на то, что развитие опухолевых процессов в мышечной ткани сопровождается значительным (в разы) повышением концентраций цитокинов в кровеносном русле, что существенным образом влияет на характер функциональных связей в исследованном фрагменте

общей цитокиновой сети, что наглядно иллюстрируется изменениями графических элементов в корреляционном графе с выделением двух альтернативных ортогональных групп корреляционных плеяд, выявляемых у здоровых женщин и у пациенток с ММ.

3.3. Распределение вариантов генов цитокинов IL1 (rs1143627), IL-4 (rs2243250), IL-6 (rs1800795), TNF- α (rs1800630, rs1800629, rs361525), IL-8 (rs4073), IL-10 (rs1800896, rs1800872), VEGF (rs3025039) среди здоровых женщин и пациенток с миомой матки. Анализ информативности комбинаций SNP генов в разработке персонализированных критериев прогноза генетической предрасположенности к развитию миомы матки

При исследовании особенностей распределения и структуры отдельных генотипов и полилокусных комбинаций 10 полиморфных позиций генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов были проанализированы 2 402 комплексных генотипов, представленных комбинациями из 2–8 полиморфизмов генов цитокинов, 587 из которых оказались статистически значимыми после коррекции на множественные сравнения (поправка Бонферрони). Часть полилокусных комбинаций с наибольшей силой ассоциации с заболеванием, представлены в Таблице 22.

При сопоставлении частот встречаемости, выявленных нами, комбинированных генетических признаков в сравниваемых группах с наличием или отсутствием ММ, выявляются две группы показателей. Одна из этих групп с преимущественной частотой распространена среди пациенток с ММ (позитивные ассоциации с заболеванием в количестве 10 биомаркеров из 587), тогда как другая группа распространена лишь среди женщин с отсутствием клинических и инструментальных признаков данного заболевания (негативные ассоциации с заболеванием в количестве 577 биомаркеров).

Доминирующими последовательностями в комбинациях, формирующих предрасположенность к развитию ММ, оказались двух-четырёх-локусные

высокоспецифичные генетические паттерны (10 генных цепей разной размерности), в частности: [TNF-308:IL17-197: GG-AA] (OR = 7,03, SP = 97,96, $p_{\text{cor}} = 0,0162$); [IL10-1082:IL17-197: AG-AA] (OR = 10,78, SP = 98,98, $p_{\text{cor}} = 0,0423$); [TNF-308:IL6-174:IL10-592:IL10-1082: GG-GC-CC-AG] (OR = 12,81, SP = 98,98, $p_{\text{cor}} = 0,0414$).

Таким образом, используя метод выделения максимальных взаимосвязей между признаками в корреляционном графе, получены три варианта корреляционных плеяд – группу корреляций, общих для здоровых и больных женщин, представленных шестью парами положительных корреляций (IL-1 – IL-6; IL-1 – IL-8; IL-4 – IL-10; IL-6 – IL-10; TNF- α – IL-1; TNF- α – IL-6) и две группы ортогональных коррелограмм – одна характерна только для здоровых женщин (IL-1 – IL-4; IL-1 – IL-10; IL-4 – IL-6; IL-4 – TNF- α ; IL-6 – VEGF; IL-10 – TNF- α) а вторая группа – специфична только для пациенток с ММ (IL-6 – IL-8), TNF- α – IL-8 и IL-1 – VEGF.

Таблица 22 – Комбинации полиморфизмов генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, позитивно и негативно ассоциированные с развитием миомы матки среди российских женщин европеоидного происхождения

Комбинации полиморфизмов генов	Генотипы	ММ (n = 180)	Контроль (n = 98)	OR	OR's 95 %CI	SP	PPV	NPV	p_cor
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Генетические маркеры предрасположенности к развитию миомы матки (позитивные ассоциации)									
TNF-308:IL17-197	GG-AA	12,78	2,04	7,03	1,62–30,49	97,96	92,00	37,94	0,0162
TNF-238:IL17-197	GG-AA	13,33	2,04	7,38	1,71–31,95	97,96	92,31	38,10	0,0171
IL4-590:IL17-197	CC-AA	7,78	0,00	8,89	1,16–68,35	100	100	37,12	0,0252
IL6-174:IL10-592	CC-CA	11,67	2,04	6,34	1,45–27,64	97,96	91,30	37,65	0,0468
IL6-174:IL10-1082	GC-AG	25,00	10,20	2,93	1,41–6,12	89,80	81,82	39,46	0,0243
IL10-1082:IL17-197	AG-AA	10,00	1,02	10,78	1,42–82,01	98,98	94,74	37,45	0,0423
TNF-308:TNF-238:IL17-197	GG-GG-AA	10,56	0,00	12,22	1,62–92,50	100,0	100,0	37,84	0,0054
TNF-308:IL6-174:IL10-1082	GG-GC-AG	20,00	6,12	3,83	1,55–9,46	93,88	85,71	38,98	0,0330
IL6-174:IL10-592:IL10-1082	GC-CC-AG	15,00	3,06	5,59	1,65–18,93	96,94	90,00	38,31	0,0494
TNF-308:IL6-174:IL10-592:IL10-1082	GG-GC-CC-AG	11,67	1,02	12,81	1,70–96,76	98,98	95,45	37,89	0,0414
Генетические маркеры резистентности к развитию миомы матки (негативные ассоциации)									
IL6-174:IL10-592:IL10-1082	CC-CC-AG	2,22	26,53	0,06	0,02–0,19	97,78	86,67	70,97	0,0026
TNF-238:IL6-174:IL10-592:IL10-1082	GG-CC-CC-AG	2,22	25,51	0,07	0,02–0,20	97,78	86,21	70,68	0,0047
IL4-590:IL6-174:IL10-592:IL10-1082	CC-CC-CC-AG	0,56	26,53	0,02	0,00–0,12	99,44	96,30	71,31	0,0056
IL4-590:IL6-174:IL10-592:IL17-197	CC-CC-CC-GA	1,11	24,49	0,03	0,01–0,15	98,89	92,31	70,63	0,0055
IL4-590:IL6-174:IL10-1082:IL17-197	CC-CC-AG-GA	1,67	24,49	0,05	0,02–0,18	98,33	88,89	70,52	0,0062

Продолжение таблицы 22

[illegible]

Из представленных в Таблице 12 данных можно заметить преобладание таких генетических комплексов, частота которых значительно снижена среди пациенток с ММ относительно контрольной группы. Это свидетельствует о том, что среди женщин без ММ преобладают комбинации SNP цитокиновых генов с протективным эффектом, т. е. которые связаны с устойчивостью к развитию ММ. Среди этой группы признаков, которые можно условно отнести к группе «резистентных», число входящих в их состав SNP несколько шире, чем в группе признаков «предрасположенности». Среди них уже чаще встречаются SNP хемокина IL-8 и полиморфизмы цитокинов с противовоспалительной активностью – IL-4 и IL-10: [IL6-174:IL8-251:IL10-592:IL10-1082: CC-TA-CC-AG] (OR = 0,02, SP = 100,00, p_cor = 0,0062); [IL4-590:IL6-174:IL8-251:IL10-592: IL10-1082: CC-CC-TA-CC-AG] (OR = 0,02, SP = 100,00, p_cor = 0,0107).

Учитывая большое число биомаркеров резистентности, которые выявляются в контрольной группе, можно вынести предварительное заключение об отсутствии у носителей данных композиций полиморфизмов, являющихся генетическими факторами риска развития ММ.

При сопоставлении комбинированных вариантов SNP полиморфизмов гена TNFA в исследуемых позициях промоторного региона –238 G\A, –308 G\A и –863 C\A с полиморфизмом генов других провоспалительных цитокинов, установлен ряд достоверных ассоциативных связей. Прежде всего, обращают на себя внимание устойчивые позитивные связи гомозиготных генотипов TNF-238 GG и TNF-308 GG с IL17A-197 AA (OR = 7,03; p = 0,0162, OR = 7,38; p = 0,171 соответственно) в группе пациенток с ММ в сопоставлении с группой сравнения. Еще более выражена позитивная ассоциативная связь гомозиготной комбинации TNF-308 GG \TNF-238 GG\ IL17A-197 AA среди пациенток с ММ (OR = 12,22; p = 0,0054).

При этом комбинация гомозиготного генотипа в другой полиморфной позиции TNF-863 CC с SNP гомозиготными вариантами генов провоспалительных цитокинов IL-6-174 GG и IL-17-197 GG значимо резко снижена у пациенток с ММ (OR = 0,24; p = 0,0286). Причем в негативно ассоциированные с заболеванием

комбинации включены и другие гены цитокинов в исследуемых полиморфных позициях: IL1B-31 G\T; IL6-174 G\C; IL8-251 A\T и IL17-197 A\G (см. Таблицу 22). В этих протективных комплексах ген IL6 в полиморфной позиции –174 представлен гомозиготным вариантом CC, гены IL8-251, IL1B-31 и IL-17-197 – гетерозиготными вариантами.

Данные о распределении SNP –197 G/A гена IL17A среди различных этнических групп значительно разнятся. Мы провели сопоставление своих результатов с опубликованными результатами по другим странам и убедились, что данные нашей лаборатории близки к среднеевропейским [179; 218], тогда как среди монголоидов этот вариант чрезвычайно редок. Ввиду того, что данные о распределении данного полиморфизма гена IL17A среди здоровых женщин европеоидного происхождения Сибирского Федерального округа России в литературе нами не обнаружены, можно рассматривать полученные нами данные как контрольные для последующих исследований.

Частота распределения гомозиготного варианта AA гена IL17A в нашей общей выборке населения СФО составляет 0,090, а среди русских женщин – еще меньшую величину (0,048). Наряду с этим обращает на себя внимание значительное повышение частоты встречаемости данного гомозиготного варианта среди русских пациенток с ММ (OR = 4,33; $p = 0,0096$ с учетом поправки Бонферрони (Таблица 23). Практически частота данного генотипа возрастает относительно контроля более чем в 4 раза.

Еще больше частота распространения варианта AA гена IL17A при ММ возрастает при комбинировании с гомозиготными GG вариантами гена TNFA в полиморфных позициях TNF-308 и TNF-238, с которыми активность IL-17A находится в синергических отношениях. Парная комбинация вариантов AA-GG генов IL17A-197 и TNF-308 выявляется в 12,78 % случаев с ММ против 2,04 % в группе сравнения (OR = 7,03; $p_{\text{cor}} = 0,0162$). Парная комбинация вариантов AA-GG генов IL17A-197 и TNF-238 выявляется среди пациенток в 13,33 % случаев против 2,04 % в группе сравнения (OR = 7,38; $p_{\text{cor}} = 0,0171$).

Таблица 23 – Частота распространения (в %) полиморфизмов гена IL17A в составе комбинаций с вариантами генов провоспалительных цитокинов TNFA, IL1B, IL6 и IL8 у пациенток с миомой матки и в контрольной группе

Комбинации полиморфизмов генов	Генотипы	Миома матки (n = 180)		Контроль (n = 98)		OR	OR's 95 %CI	P(tnF ₂)	p_cor
		n	%	n	%				
IL17-197	AA	28	15,56	4	4,08	4,33	1,47–12,73	0,0032	0,0096
IL17-197:TNF-308	AA-GG	23	12,78	2	2,04	7,03	1,62–30,49	0,0018	0,0162
IL17-197:TNF-238	AA-GG	24	13,33	2	2,04	7,38	1,71–31,95	0,0019	0,0171
IL17-197:IL1B-31	GA-TC	34	18,89	37	37,76	0,38	0,22–0,67	0,0009	0,0081
IL17-197:TNF-863:IL6-174	GG-CC-GG	8	4,44	16	16,33	0,24	0,10–0,58	0,0013	0,0286
IL17-197:TNF-308:TNF-238	AA-GG-GG	19	10,56	0	0,00	12,22	1,62–92,50	0,0003	0,0054
IL17-197:IL1B-31:IL6-174	GA-TC-CC	6	3,33	21	21,43	0,13	0,05–0,33	0,0001	0,0026
IL17-197:IL1B-31:IL8-251	GA-TC-TA	16	8,89	27	27,55	0,26	0,13–0,51	0,0001	0,0027
IL17-197:IL6-174:IL8-251	GA-CC-TA	5	2,78	20	20,41	0,11	0,04–0,31	0,0001	0,0027
IL17-197:TNF-863:TNF-308:TNF-238	AA-CC-GG-GG	15	8,33	0	0,00	9,54	1,25–73,06	0,0016	0,0496
IL17-197:TNF-863:IL1B-31:IL6-174	GA-CC-TC-CC	6	3,33	17	17,35	0,16	0,06–0,43	0,0001	0,0050
IL17-197:TNF-238:IL1B-31:IL6-174	GA-GG-TC-CC	6	3,33	21	21,43	0,13	0,05–0,33	0,0001	0,0049
IL17-197:TNF-238:IL1B-31:IL8-251	GA-GG-TC-TA	16	8,89	24	24,49	0,30	0,15–0,60	0,0006	0,0288
IL17-197:TNF-238:IL6-174:IL8-251	GA-GG-CC-TA	4	2,22	20	20,41	0,09	0,03–0,27	0,0001	0,0050
IL17-197:IL1B-31:IL6-174:IL8-251	GA-TC-CC-TA	1	0,56	19	19,39	0,02	0,00–0,18	0,0001	0,0068
IL17-197:TNF-863:TNF-238:IL1B-31:IL6-174	GA-CC-GG-TC-CC	6	3,33	17	17,35	0,16	0,06–0,43	0,0001	0,0073
IL17-197:TNF-863:TNF-238:IL6-174:IL8-251	GA-CC-GG-CC-TA	3	1,67	15	15,31	0,09	0,03–0,33	0,0001	0,0075

IL17-197:TNF-863:IL1B-31:IL6-174:IL8-251	GA-CC-TC-CC-TA	1	0,56	15	15,31	0,03	0,00–0,24	0,0001	0,0095
IL17-197:TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL8-251	GA-GG-GG-CC-TA	4	2,22	14	14,29	0,14	0,04–0,43	0,0002	0,0158
IL17-197:TNF-308:IL1B-31:IL6-174:IL8-251	GA-GG-TC-CC-TA	1	0,56	13	13,27	0,04	0,00–0,28	0,0001	0,0096
IL17-197:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL8-251	GA-GG-TC-CC-TA	1	0,56	19	19,39	0,02	0,00–0,18	0,0001	0,0093
IL17-197:TNF-863:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL8-251	GA-CC-GG-TC-CC-TA	1	0,56	15	15,31	0,03	0,00–0,24	0,0001	0,0117
IL17-197:TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL8-251	GA-GG-GG-TC-CC-TA	1	0,56	13	13,27	0,04	0,00–0,28	0,0001	0,0122

Примечания: OR – отношение шансов; OR's 95 %CI – 95 %-й доверительный интервал для OR; P(tmF₂) – статистическая значимость по двустороннему критерию точного метода Фишера; p_{cor} – скорректированное значение P(tmF₂) (с учетом поправки Бонферрони).

Во всех остальных случаях выявления статистически значимых различий в распространении самых различных комбинаций полиморфизмов гена IL17A в позиции –197 G/A, их численность среди пациенток с ММ оказывается сниженной и представлена гетерозиготными вариантами GA.

Сортировка иммуногенетических SNP-комплексов, представленных в Таблице 23, по величине OR, позволила выявить группу высокоспецифичных комплексных генетических признаков, положительная предсказательная ценность которых (PPV) достигает 100 % (Таблица 24).

Таблица 24 – Высокоспецифичные альтернативные комплексы иммуногенетических маркеров предрасположенности и резистентности к развитию миомы матки

Комбинации полиморфизмов генов цитокинов	Генотипы	OR	SE	SP	PPV	NPV
Биомаркеры предрасположенности к миоме матки						
IL17-197	AA	4,33	15,6	95,9	87,5	38,2
IL17-197:TNF-308	AA-GG	7,03	12,8	98,0	92,0	37,9
IL17-197:TNF-238	AA-GG	7,38	13,3	98,0	92,3	38,1
IL17-197:TNF-308:TNF-238	AA-GG-GG	12,22	10,6	100	100	37,8
IL17-197:TNF-863:TNF-308:TNF-238	AA-CC-GG-GG	9,54	8,3	100	100	37,3
Биомаркеры резистентности к развитию миомы матки						
IL17-197:IL1B-31:IL6-174:IL8-251	GA-TC-CC-TA	0,02	19,4	99,4	95,0	69,4
IL17-197:TNF-863:IL1B-31:IL6-174: IL8-251	GA-CC-TC-CC-TA	0,03	15,3	99,4	93,8	68,3
IL17-197:TNF-308:IL1B-31:IL6-174: IL8-251	GA-GG-TC-CC-TA	0,04	13,3	99,4	92,9	67,8
IL17-197:TNF-238:IL1B-31:IL6-174: IL8-251	GA-GG-TC-CC-TA	0,02	19,4	99,4	95,0	69,4
IL17-197:TNF-863:TNF-238:IL1B-31: IL6-174:IL8-251	GA-CC-GG-TC-CC-TA	0,03	15,3	99,4	93,8	68,3

Продолжение таблицы 24

Комбинации полиморфизмов генов цитокинов	Генотипы	OR	SE	SP	PPV	NPV
IL17-197:TNF-308:TNF-238:IL1B-31: IL6-174:IL8-251	GA-GG-GG-TC-CC-TA	0,04	13,3	99,4	92,9	67,8
Примечание: OR – отношение шансов; SE – чувствительность; SP – специфичность; PPV – предсказательная ценность наличия маркера (вероятность развития заболевания у субъекта с маркером); NPV – предсказательная ценность отсутствия маркера (вероятность отсутствия заболевания у субъекта без маркера).						

Так, например, комбинация из трех вариантов генов IL17-197:TNF-308:TNF-238 в позициях AA-GG-GG не только широко распространена среди пациенток с ММ (OR = 12,22; $p_{\text{cor}} = 0,0054$), но и ни в одном случае не выявлена в контрольной группе здоровых женщин (SP = 100 %), что означает, высокую вероятность развития заболевания у индивидуума с данным биомаркером.

С другой стороны, выявляется группа высокоспецифичных комплексных генетических признаков (SP > 99 %), частота которых среди пациенток с ММ значимо ниже (менее 0,1 %), чем среди здоровых женщин. Выявление таких признаков у конкретной женщины, позволяет отнести ее в группу условно резистентных к развитию ММ с вероятностью (PPV) от 93 % до 95 %. В этой же группе «резистентных» генетических комплексов относительно высока и предсказательная ценность отрицательного результата теста (NPV), т. е. вероятность отсутствия заболевания у субъекта без маркера достигает 69,4 %.

Таким образом, в результате проведенного исследования, нам удалось выявить две альтернативные группы комплексных иммуногенетических маркеров, позволяющих стратифицировать группу здоровых женщин по признаку «предрасположенности или резистентности» к развитию ММ. Одни здоровые женщины, имеющие в своем генотипе гомозиготные варианты AA гена IL17A в точке полиморфизма -197 G/A изолировано или в комплексе с генотипом GG гена TNF, являются «компрометированными» по наличию высокого риска развития ММ. Тогда как группа женщин, в генотипе которых присутствует гетерозиготный

вариант GA гена IL17A в сочетании с SNP ряда других исследованных нами вариантов генов провоспалительных цитокинов может быть отнесена к группе устойчивых к развитию ММ.

Полученные результаты, на наш взгляд, могут быть научным обоснованием для разработки инновационных методов прогноза развития и ранней диагностики такого социально-значимого полигенного заболевания как ММ. Важно отметить, что частоты проанализированных нами генов противовоспалительных цитокинов IL4-590T\C, IL10-592 A\G и IL10-1082 A\G не различаются в сопоставляемых группах женщин и не включены ни в позитивно ассоциированные с заболеванием комплексы, ни в протективные.

При оценке предполагаемой информативности выявленных изменений для использования в прогностических целях, можно обратить внимание на такие признаки, как TNF-308 GG: TNF-238 GG:IL17-197 AA, которые не выявлены ни в одном случае в группе сравнения среди 98 женщин контрольной группы, но довольно часто выявляется среди пациенток с ММ (OR = 12,22; $p = 0,0003$). Специфичность выявления этого показателя составляет 100 %, а величина прогностического коэффициента достигает 13,3, что предполагает вероятность правильности прогноза 99,9 %.

При этом среди негативно ассоциированных с ММ (протективных) признаков, таких показателей с сопоставимой информативностью и прогностической значимостью гораздо больше. В качестве примера можно привести комплексный признак TNF-238 GG:IL1B-31 TC:IL6-174 CC:IL8-251 TA:IL17-197 GA, частота которого в группе пациенток с ММ составляет 1 случай из 180 пациенток, тогда как среди здоровых женщин он распространен достаточно широко (OR = 0,02; $p = 0,0001$). Специфичность выявления 99,44 %, при абсолютной величине прогностического коэффициента 15,4.

Сортировка выявленных комплексных генетических признаков по величине позитивной и негативной силе ассоциаций с заболеванием ММ, позволила выявить группу высокоспецифичных комплексных генетических биомаркеров, положительная предсказательная ценность которых (PPV) достигает 100 %. Так,

например, комбинации из двух вариантов генов IL4-590:IL17-197 в позициях CC-AA или трех вариантов генов TNF-308:TNF-238:IL17-197 в позициях GG-GG-AA не только характерны для пациенток с ММ, но и не выявлены ни в одном случае в контрольной группе ($SP = 100 \%$, $p_{\text{cor}} < 0,05$), что означает высокую прогностическую ценность данных биомаркеров в отношении развития ММ у конкретного индивидуума.

С другой стороны, выявляется группа высокоспецифичных комплексных генетических признаков ($SP > 98 \%$), частота которых среди пациенток с ММ статистически значимо ниже, чем в контрольной группе. Выявление таких признаков у конкретной женщины позволяет отнести ее в группу условно резистентных к развитию ММ с вероятностью (PPV) от 87 % до 100 %. В этой же группе «резистентных» генетических комплексов относительно высока и предсказательная ценность отрицательного результата теста (NPV), т. е. вероятность отсутствия заболевания у субъекта без маркера достигает 71,31 % ($p_{\text{cor}} = 0,0056$).

Важно отметить, что относительно низкие значения показателя NPV в большинстве случаев обусловлены невысокой частотой встречаемости в популяции комплексных биомаркеров. Однако этот общий недостаток сложных генетических маркеров может быть скомпенсирован более широким их набором в прогностической матрице за счет поиска новых генетических композиций, патогенетически связанных с развитием ММ.

В нашем исследовании представлен анализ результатов исследования 10 SNP генов цитокинов, которые, естественно, не охватывают весь цитокиновый геном, однако включает наиболее изученные гены цитокинов с провоспалительной и противовоспалительной активностью. При анализе полученных нами данных обращает на себя внимание широкое представительство во многих SNP-комбинациях вариантов гена TNFA. Цитокин, кодируемый этим геном, участвует в развитии воспаления и апоптоза, играет важную роль в различных нарушениях иммунной системы и участвует как в развитии, так и в прогрессировании опухолевого роста. Имеются данные, что наличие генотипа TC

и аллеля С в позиции -1031T/C (rs1799964) связано с предрасположенностью к ММ. Аллель С -1031T/C способствует повышенной транскрипции, экспрессии и продукции TNF- α [96], что может индуцировать развитие миоматозных узлов.

Помимо этого, часть исследованных цитокинов обладает и проангиогенной активностью, что является важным в формировании миоматозных узлов, увеличения мышечной массы матки при ММ, требующих роста кровеносной сети и активации процессов неоангиогенеза и неоваскулогенеза. Такой активностью обладает IL-6, стимулирующий неоваскулогенез [125]. IL-8 (хемокин CXCL) также способен стимулировать ангиогенез путем индукции миграции и пролиферации CXCR2-экспрессирующих эндотелиальных клеток, образующих новые кровеносные сосуды [53].

Необходимо также учесть, что представленные нами данные получены при исследовании группы российских женщин европеоидного происхождения, проживающих в Сибирском регионе РФ. Это важно ввиду высокой зависимости как распространения самого заболевания ММ, так и характера распределения частот генов цитокинов и их полиморфных вариантов, от географических и этнических факторов [30; 138]. Эти зависимости с одной стороны затрудняют расширение полученных данных на всю группу пациенток, с другой стороны – актуализируют разработку персонифицированных стратегий прогноза, ранней диагностики и лечения пациентов [136].

Таким образом, сравнительный анализ структуры генетических композитов, проведенный в данном исследовании, позволил установить важное значение не столько отдельных полиморфизмов генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, сколько их определенных композиций в патогенезе развития лейомиомы матки, влияющих на процессы ремоделирования структуры внеклеточного матрикса, развитие фиброза, хронического воспаления и туморогенеза. Становится очевидным, что необходимо продолжать накопление данных и их биоинформационный анализ для выявления высокоинформативных комплексов генетических показателей предрасположенности и резистентности к развитию ММ, что позволит персонифицировать предрасположенность

значительной части пациентов к развитию этого социально-значимого полигенного заболевания для проведения целенаправленных профилактических мероприятий.

Резюме

Таким образом, при исследовании частоты распределения 10 SNP генов цитокинов TNF-863C/A, TNF-308G/A, TNF-238G/A, IL17-197A/G, IL1B-31T/C, IL6-174C/G, IL8-251T/A и противовоспалительных цитокинов IL4-590 C/T, IL10-592 A/C, IL-10-1082 A/G в группах сравнения с применением поправки Бонферрони на проверку гипотез для устранения эффекта множественных сравнений, выявило 39 достоверных различий с уровнем значимости менее 0,05.

Анализ распределения аллельных вариантов гена TNFA при сопоставлении комбинированных вариантов SNP полиморфизмов гена TNFA в исследуемых позициях промоторного региона -238 G\A, -308 G\A и -863 C\A выявил устойчивые позитивные связи гомозиготных генотипов TNF-238 GG и TNF-308 GG с IL17A-197 AA в группе пациенток с ММ в сопоставлении с группой сравнения. Еще более выражена позитивная ассоциативная связь гомозиготной комбинации TNF-308 GG \TNF-238 GG\ IL17A -197 AA среди пациенток с ММ.

Частота распределения гомозиготного варианта AA гена IL17A в общей выборке населения СФО составляет 0,090, а среди русских женщин составляет еще меньшую величину 0,048. Наряду с этим обращает на себя внимание значительное повышение (в 4 раза) частоты встречаемости этого гомозиготного варианта AA среди русских пациенток с ММ до величины 0,155 ($p = 0,0096$).

Среди цитокинов, SNP генов которых представлены в описываемой группе факторов риска развития ММ, присутствуют исключительно представители факторов с провоспалительными и проангиогенными функциями, концентрации которых значительно повышены в сыворотке крови пациенток с ММ. К таким признакам следует отнести комбинации SNP генов IL17-197AA; TNF-308:IL17-197 GG-AA; TNF-238:IL17-197GG-AA и TNF-308: TNF-238:IL17-197GG-GG-AA.

К наиболее значимым «защитным» комбинациям SNP генов цитокинов можно отнести признак IL1B-31:IL6-174:IL8-251:IL17-197TC-CC-TA-GA; TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL8-251:IL17-197GG-TC-CC-TA-GA; TNF-863:IL1B-31:IL6-174:IL8-251:IL17-197CC-TC-CC-TA-GA; TNF-863:TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL8-251:IL17-197CC-GG-TC-CC-TA-GA; TNF-308:IL1B-31:IL6-174:IL8-251:IL17-197GG-TC-CC-TA-GA и TNF-308: TNF-238:IL1B-31:IL6-174:IL8-251:IL17-197GG-GG-TC-CC-TA-GA; IL4-590:IL10-592 CC-CC.

При оценке предполагаемой информативности выявленных изменений обращает на себя внимание, что такой признак, как TNF-308 GG: TNF-238 GG:IL17-197 AA, который не был выявлен ни в одном случае контрольной группы из 98 практически здоровых женщин, но довольно часто выявлялся среди пациенток с ММ (OR = 12,22; $p = 0,0003$). Специфичность выявления этого показателя составляет 100 %, а величина прогностического коэффициента достигает 13,3, что предполагает вероятность правильности прогноза 99,9 %. При этом среди негативно ассоциированных с ММ (т. е. протективных) признаков, таких показателей с сопоставимой информативностью и прогностической значимостью гораздо больше.

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Широкое распространение патологии и смещение диагноза «Миома матки» в более молодой возраст по-прежнему привлекает внимание ученых и клиницистов к поиску и решению вопросов предрасположенности к формированию миоматозных узлов в миометрии. Миома матки – доброкачественная моноклональная опухоль, происходящая из гладкомышечных клеток шейки или тела матки, одна из наиболее распространенных доброкачественных опухолей женской половой сферы, которая возникает у 20–40 %, даже до 70 % женщин репродуктивного возраста. Клиническими проявлениями патологии являются бесплодие, невынашивание беременности, спонтанные выкидыши, анемия и болевые синдромы различной интенсивности [4; 5; 82].

Самый важный аспект этиологии миомы матки – инициатор роста опухоли – остается неизвестным, хотя существуют теории инициирования ее туморогенеза. Одна из них подтверждает, что увеличение уровня эстрогенов и прогестерона приводит к росту митотической активности, которая может способствовать формированию узлов миомы, увеличивая вероятность соматических мутаций. Другая гипотеза предполагает наличие врожденной генетически детерминированной патологии миометрия у женщин, страдающих миомой матки, выраженной в увеличении количества эстрогеновых рецепторов в миометрии [11].

Важна еще одна концепция – дисрегуляция процессов контроля за процессами пролиферации, дифференцировки, клеточного деления и, связанных с ними неоагиогенеза и васкулогенеза; активности воспаления, ремоделирования внеклеточного матрикса и фиброгенеза [93; 136]. Все эти процессы регулируются суперсемейством регуляторных биомолекул, продуцируемых различными клетками: цитокинами, хемокинами и факторами роста, образующими сложную регуляторную сеть с аутокринными и паракринными связями, интенсивность продукции которых находится под генетическим контролем, что и составляет элемент основы генетической предрасположенности к развитию миомы не у всех,

а лишь у части женщин [19].

Несмотря на то, что, в основном, эти регуляторные молекулы вступают во взаимодействие со своими рецепторами на плазмолемме близлежащих клеток-акцепторов в тканях в короткодистантном режиме, в некоторых ситуациях они выходят в тканевую жидкость, лимфу и кровь и оказывают свое воздействие на удаленном расстоянии, циркулируя с током лимфы и крови. В таких случаях, мы имеем дело с системным воздействием на клетки-мишени во всех органах и тканях организма.

Цитокины и хемокины представляют собой растворимые низкомолекулярные секреторные белки, которые регулируют развитие лимфоидной ткани, иммунные и воспалительные реакции, контролируя рост, дифференцировку и активацию иммунных клеток [99]. В то время как цитокины представляют собой неструктурные плеiotропные белки или гликопротеины, которые оказывают сложное регуляторное влияние на воспаление и иммунитет, на неоангиогенез, лимфоангиогенез и ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса; хемокины представляют собой большое семейство низкомолекулярных гепаринсвязывающих хемотаксических цитокинов, которые регулируют транспорт лейкоцитов, их пролиферацию, дифференцировку, ангиогенез, фиброгенез и кроветворение [22; 25].

Особое внимание привлекают цитокины с выраженными провоспалительными и, как правило, с проангиогенными свойствами, которые способны вовлекать в системный процесс острофазные белки и клетки, участвующие в местном воспалении и способствующие процессам локального неоангиогенеза и неоваскулогенеза. Хемокины (СХС) являются ангиогенными и активируют опосредованный CXCR2 сигнальный путь в эндотелиальных клетках, также хемокины являются ангиостатическими и являются мощными хемоаттрактантами для мононуклеарных лейкоцитов. Цитокины, такие как TNF (α и β), семейство интерлейкинов 1 (IL-1 α , IL-1 β , антагонист рецепторов IL-1 (IL-1ra) и IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-11, IL-12, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, интерфероны (α , β и γ), а также TGF β продуцируются

различными типами клеток, включая моноклеарные фагоциты, Т- и В-лимфоциты, полиморфно-ядерные нейтрофилы и тучные клетки. По свойствам эти цитокины подразделяются на продуцированные Tregs, Th1, Th2 и Th17. В то время как цитокины Th1, Th2 и Tregs модулируют ангиогенез, клеточные и гуморальные иммунные реакции, цитокины Th17 регулируют воспалительные реакции и аутоиммунитет [53; 72].

Велика роль этих гуморальных факторов и в канцерогенезе. Например, цитокины/хемокины и факторы роста, такие как эпидермальный фактор роста (EGF), IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , RANTES (CCL5), фактор роста фибробластов (FGF), моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 (MCP-1), фактор некроза опухоли (TNF), семейный гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактор роста гепатоцитов (HGF) активируются в микроокружении опухоли и участвуют в ее прогрессировании и метастазировании [164].

Не менее важную роль играет цитокиновая сеть и при контроле за аналогичными процессами в мышечной ткани [169]. Существует даже концепция о наделении значительной части цитокиновой сети собственным обозначением, – «миокины» исходя из их функционала при влиянии на состояние мышечной ткани [154].

Многие факторы могут влиять на количественное измерение содержания цитокинов в биологических жидкостях, такие как 1) качество образца для последующего анализа уровня цитокинов, 2) биологическая природа цитокинов в плане их циркуляции и рецепции, на которые влияют связывающие цитокины белки, ингибиторы и растворимые рецепторы цитокинов, 3) ложно-положительные результаты и 4) стандартизация анализа, которая является узкой проблемой для большинства анализов белков. Кроме того, обработка биологических образцов также оказывает значительное влияние на показатели концентрации цитокинов [176]. Кроме того, короткий период полураспада цитокинов, их связывание с растворимыми рецепторами, а также продукция или потенциальная деградация цитокинов влияют на точность

измерения цитокинов и интерпретации результатов.

Цитокины циркулируют в различных жидкостях организма, при этом кровь близка к внутренней среде человека, отражая состояние отдельных клеток, тканей, органов и организма в целом. Анализ уровней цитокинов в клинических образцах крови, особенно в сыворотки или плазме, важен для диагностики заболеваний, поскольку едва заметное изменение уровней может отражать состояние иммунной функции [118]. Однако известно, что большинство цитокинов имеют короткий период полураспада *in vivo* и подвержены быстрой деградации во время сбора и подготовки образцов. Это приводит к ложным результатам, если не приняты соответствующие процедуры обработки крови.

Несмотря на технические сложности, количественная оценка цитокинов является актуальной областью исследований и может предоставить всестороннюю информацию для диагностики и лечения заболеваний. Современные методы успешно продемонстрировали свой потенциал для обеспечения высокочувствительного и эффективного по времени обнаружения с различными считываниями сигнала как для приложений *in vitro*, так и *in vivo*.

Выводы для количественной оценки цитокинов в клинических анализах включают: 1) надежность анализа: учитывая короткий период полураспада цитокинов, правильная подготовка/обработка образцов имеет важное значение для обеспечения точности и надежности анализа. Понимание фактического статуса цитокинов и потенциальных помех в клинических образцах имеет важное значение для разработки надежных анализов, 2) чувствительность тестов за счет разработки и внедрения биосенсоров с супервысокой чувствительностью и специфичностью [140].

Цитокины образуют сложную сеть цитокинов, а мультиплексные анализы цитокинов предоставляют исчерпывающую информацию о роли иммунной активации и воспаления в патогенезе нескольких болезненных состояний одновременно. Коммерчески доступные наборы цитокинов с высокой пропускной способностью и коротким временем анализа соответствуют требованиям для множественных измерений цитокинов, предлагая огромные преимущества

анализа. Исследования направлены на мониторинг в реальном времени: цитокины подвержены динамическим процессам секреции. Таким образом, анализ цитокинов имеет важное значение для точного определения и характеристики иммунных состояний для клинической диагностики и лечения [75].

Полученные нами результаты показывают, что ММ связана с разнонаправленными изменениями концентрации противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, в основном со значительным снижением концентрации IL-4 и природного антагониста рецептора IL-1 β . Концентрации двух других цитокинов (IL-10 и IL-13), проявляющих аналогичную регуляторную активность при воспалении, близки к таковым у здоровых женщин, хотя оба они имеют тенденцию к повышению и снижению. Связь между ними гораздо слабее – коэффициент корреляции всего 0,46 ($p = 0,04$).

Противовоспалительная активность IL-10 и других противовоспалительных цитокинов делает их перспективными в качестве потенциальной противовоспалительной терапии при лечении заболеваний с выраженными воспалительными или гиперреактивными компонентами. Однако при реализации этой стратегии следует соблюдать значительную осторожность, о чем свидетельствует развитие острого колита на фоне нормальной кишечной флоры у мышей с дефицитом IL-10 [177]. В то же время клинические наблюдения выявили повышение сывороточного уровня IL-10 у женщин в результате лечения ММ [86].

Терапевтическое применение IL-1Ra находится на более продвинутой стадии разработки. В эксперименте введение IL-1Ra улучшило исходы инсульта у молодых и старых крыс с сопутствующими заболеваниями. Кроме того, IL-1Ra не только увеличивает пролиферацию стволовых клеток, но и значительно увеличивает миграцию нейробластов и количество новообразованных нейронов после церебральной ишемии, что указывает на то, что системное введение IL-1Ra улучшает восстановление и способствует нейрогенезу после экспериментального инсульта, подчеркивая однократное еще раз терапевтический потенциал этого препарата [163]. На его основе разработан биофармацевтический препарат Анакинра (Кинерет), рекомбинантный вариант IL-1Ra, одобренный для

клинического применения и показавший высокую эффективность при лечении ревматоидного артрита и других системных воспалительных заболеваний [115].

Наши данные показали лишь относительное снижение уровня IL-1Ra в сыворотке крови у женщин с ММ. Также выявлены значительные изменения концентрации противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, которые могут оказывать неблагоприятное влияние на пролиферацию и дифференцировку клеток миометрия. Эти результаты подчеркивают необходимость дальнейших исследований, направленных на определение возможного патогенетического значения этих изменений и установление потенциальных терапевтических стратегий для коррекции нарушенной функции цитокиновой сети.

Анализ полученных нами результатов по исследованию концентраций цитокинов с провоспалительной и проангиогенной активностью в сыворотке крови женщин позволяет предположить, что эти показатели являются отражением сложных системных изменений тканевых процессов, происходящих при формировании доброкачественного опухолевого процесса в миометрии. Нами установлено однотипное и скоррелированное, хотя и в разной степени выраженное, снижение уровня всех циркулирующих провоспалительных цитокинов, особенно заметное на примере IFN- γ . Можно предположить, что выявленное нами значительное снижение уровня IFN- γ может играть важную роль в развитии ММ.

IFN всех типов представляют собой группу плейотропных цитокинов, которые играют важную роль в межклеточных взаимодействиях при ответах врожденного и приобретенного иммунитета, включая защиту от вирусных и бактериальных инфекций, а также от опухолевого роста. IFN- γ регулирует дифференцировку и функцию многих типов иммунных клеток. Он тесно связан со всеми аспектами Th 1-опосредованных иммунных реакций путем регулирования дифференцировки, активации и гомеостаза Т-клеток. IFN- γ также активирует макрофаги и индуцирует продукцию хемокинов, которые привлекают специфические эффекторные клетки к месту локального воспаления [168]. Описано значительное снижение противовирусного иммунитета у мышей с

нокаутом гена IFN- γ и его рецепторов IFN- γ RI и IFN- γ R2 [203].

Снижение провоспалительной компоненты цитокиновой сети может также быть одним из факторов, способствующих развитию хронических воспалительных процессов инфекционного характера у женщин с ММ.

Сыворотка крови является наиболее доступным для исследования объектом, однако всегда возникает вопрос о том, насколько адекватно отражает содержание того или иного биологически активного вещества в кровеносном русле процессы, происходящие в тканях и в очагах патологических изменений. В связи с этим полученные результаты необходимо сопоставлять с данными, полученными при исследовании тканей миометрия и очагов роста ММ.

Полученные нами данные говорят о снижении концентрации проангиогенных факторов в сыворотке крови, однако это может служить как свидетельством снижения уровня их синтеза, так и свидетельством их активного «потребления» в патологических очагах миометрия.

В литературе, посвященной исследованию факторов роста при развитии ММ, практически отсутствуют сведения о роли IL-5, IL-7 и IL-9 в росте лейомиом, хотя и описаны единичные случаи развития эозинофильной инфильтрации при этом заболевании [210] и выявлены тенденции к снижению уровня IL-7 и IL-9 в плазме афроамериканских женщин с ММ [215]. В этой работе выявлена тенденция к снижению уровня сывороточного G-CSF у женщин с ММ, а также нашли подтверждение используемые нами нормативные для здоровых женщин значения содержания в крови этого ростового фактора, который при использовании метода проточной флуориметрии колеблется в интервале 86–108 пг/мл. Снижение концентрации данного ростового фактора оказалось не только значительно выраженным (практически в 2 раза) относительно здоровых женщин, но тесно скоррелировано с изменениями концентраций таких факторов, как IL-5, IL-7 и IL-9, коэффициент корреляции которых составляет, соответственно, 0,723, 0,637 и 0,504.

Анализ собственных данных при сопоставлении с данными, полученными в отечественных лабораториях с использованием отечественных реагентов одного

производителя, позволяет утверждать, что наличие ММ сопровождается значительным превышением (в 5,2 раза) значений содержания провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6 в сыворотке крови пациенток на фоне менее выраженного повышения (в 1,3 раза) концентраций цитокинов с явной противовоспалительной активностью IL-4 и IL-10.

Необходимо иметь в виду, что повышение уровня провоспалительных цитокинов приводит к целому ряду тканевых эффектов. В частности, IL-1 β повышает уровень экспрессии целого ряда цитокинов, хемокинов и факторов роста, активирует матриксные металлопротеиназы и молекулы адгезии, усиливает инфильтрацию тканей лейкоцитами, активацию тромбоцитов, изменение кровотока, инициирует неоангиогенез и многое другое [69].

IL-6 также оказывает решающее плеiotропное влияние на ремоделирование мышечной ткани, инициируя острофазовый ответ и процессы кроветворения, преимущественно аутокринным или паракринным путем. Активируя гены-мишени, IL-6 не только служит фактором дифференцировки и роста гемопоэтических клеток, В-клеток, Т-клеток, остеокластов и эндотелиальных клеток, но также играет важную роль в росте, дифференцировке, регенерации и деградации периферических лимфоцитов и эндотелиальных клеток. IL-6 активирует и рекрутирует нейтрофилы и моноциты, стимулирует эндотелиальные клетки сосудов секретировать молекулы адгезии и другие факторы воспаления, а также усиливает местную воспалительную реакцию [129]. Системное и местное повышение концентрации IL-6, индуцированное тканевой гипоксией, приводит к состоянию предтромбоза, которое может индуцировать выработку фактора роста тромбоцитов, фактора роста фибробластов, фактора некроза опухоли (TNF- α), фактора, стимулирующего колонии макрофагов, и способствовать пролиферации гладкомышечных клеток [38].

Повышение уровня IL-6, в свою очередь, стимулирует продукцию таких противовоспалительных цитокинов, как IL-1R (антагонист рецептора интерлейкина-1) и IL-10, ингибирует выработку провоспалительного цитокина TNF- α . Снижение экспрессии TNF- α может способствовать пролиферации

мышечных клеток за счет ингибирования внешнего пути апоптоза [61].

При ММ в образцах крови пациенток наблюдалось, хоть и менее значимое, но все же повышение уровня цитокинов IL-4 и IL-10. Последний обычно рассматривается, как противовоспалительный цитокин, содержание которого повышается на поздней фазе воспаления и способствует разрешению воспаления [29].

Противовоспалительные иммунные реакции способствуют восстановлению мышц и, наоборот, воспалительная реакция 1 типа вызывает повреждение мышц и контррегулируется противовоспалительными цитокинами, такими как IL-4 и IL-10. IL-4 представляет собой противовоспалительный цитокин, который может индуцировать иммунный ответ 2-го типа, который впоследствии может способствовать ангиогенезу, восстановлению и ремоделированию мышечной ткани [73]. Полученные данные указывают на необходимость системного подхода к анализу взаимозависимых изменений состояния цитокиновой сети, находящейся под полигенным контролем, при развитии доброкачественных опухолей репродуктивной сферы.

В нашем исследовании представлен анализ результатов исследования 10 SNP генов цитокинов TNF-863C/A, TNF-308G/A, TNF-238G/A, IL17-197A/G, IL1B-31T/C, IL6-174C/G, IL8-251T/A, IL4-590 C/T, IL10-592 A/C, IL-10-1082 A/G, которые, естественно, не охватывает весь цитокиновый геном, однако включает наиболее изученные гены цитокинов с провоспалительной и противовоспалительной активностью.

При анализе данных, представленных в таблице, обращает на себя внимание широкое представительство во многих SNP комбинациях вариантов гена TNF. Цитокин, кодируемый этим геном, участвует в развитии воспаления и апоптоза, играет важную роль в различных нарушениях иммунной системы и участвует как в развитии, так и в прогрессировании опухолевого роста. Имеются данные, что наличие генотипа TC и аллеля C в позиции -1031T/C (rs1799964) связано с предрасположенностью к ММ. Аллель C-1031T/C способствует повышенной транскрипции, экспрессии и продукции TNF- α [96], что может индуцировать

пролиферацию миоцитов и развитие миоматозных узлов. Частота генотипа АА в гене TNFA-308 A/G преобладала в группе более молодых пациенток ($p = 0,02$).

Помимо этого, часть исследованных цитокинов обладает и проангиогенной активностью, что является важным моментом формирования миоматозных узлов, увеличения мышечной массы матки при ММ, требующих роста кровеносной сети и активации процессов неоангиогенеза и неоваскулогенеза. Такой активностью обладает IL6, стимулирующий неоваскулогенез [187].

IL-8 (он же хемокин CXCL) также способен стимулировать ангиогенез путем индукции миграции и пролиферации CXCR2-экспрессирующих неоваскуляризирующих эндотелиальных клеток, образующих новые кровеносные сосуды [125]. TNF- α повышает экспрессию Е-селектина, VCAM-1 и ICAM-1 на поверхностной мембране стромальных клетках костного мозга и микрососудистых эндотелиальных клетках дермы человека, что также индуцирует ангиогенез [53]. Помимо этого, заметная ассоциация наблюдалась между вариантом инсерции/делеции в положении $-2\ 549$ в промоторной области гена фактора роста сосудистого эндотелия VEGF и ММ [187]. Установлено, что лица с гомозиготным генотипом Т и аллелем Т варианта гена VEGF-460 C\T, влияющего на экспрессию гена, проявляют повышенную предрасположенность к развитию ММ [181].

Необходимо также учесть, что представленные данные получены при исследовании группы из 98 российских женщин европеоидного происхождения. Это важно ввиду высокой зависимости как распространения самого заболевания ММ, так и характера распределения частот генов цитокинов и их полиморфных вариантов, от этнических факторов [30; 138]. Эти зависимости с одной стороны затрудняют расширение полученных данных на всю группу пациенток, однако, с другой стороны, актуализируют разработку персональных стратегий прогноза, диагностики и лечения индивидуального пациента [136].

При исследовании этнически близкой нам группы словенских женщин установлено, что генотип ТТ IL13 (rs20541) был достоверно связан со снижением риска ММ по сравнению с генотипами СС и СТ ($p = 0,018$), тогда как аллель G и

генотипы. AG и GG гена IL4R (rs1801275) были связаны с повышенным риском возникновения множественной ММ [157].

К настоящему времени (2024) описано несколько групп генов, варианты которых ассоциируются с предрасположенностью к развитию ММ. Среди них наибольшее внимание привлекают: варианты генов TP53 и p21, варианты гена XRCC1, варианты гена VDR, варианты генов транскрипционных факторов (гена MED12), варианты генов факторов роста (гена фактора роста эндотелия сосудов VEGF, генов IGF и TGF бета), варианты генов метаболизма (ген фумаратгидратазы FH, ген цитохрома P450), варианты генов гормональных рецепторов (ген рецептора эстрогена, ген рецептора прогестерона), варианты генов, участвующих в воспалении (гены интерлейкинов, ген фактора некроза опухоли TNF), варианты генов ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса MMP, TIMP), варианты генов, участвующие в метаболизме фолиевой кислоты [2; 44; 204].

Полученные нами результаты близки к результатам, полученным в ходе исследования группы российских женщин европейской части РФ, показавшим значимую роль молекулярно-генетических маркеров A/C гена IL10 (rs1800872), T/C гена IL5 (rs2069812), C/T гена IL4 (rs2243250), T/C гена IL1B rs16944, C/T IL1A (rs1800587) в развитии ММ. Факторами риска развития ММ, по этим данным, следует считать генотип TT гена IL1A (OR = 5,70, $p = 0,017$); а также сочетание полиморфных вариантов T гена IL4, аллеля T гена IL1A и аллеля T гена IL1B (OR = 2,60, $p = 0,012$); аллеля T гена IL1A, аллеля C гена IL5 и аллеля T гена IL1B (OR = 2,71, $p = 0,009$); аллеля T гена IL1A, аллеля C IL10 и аллеля T IL1B (OR = 2,73, $p = 0,003$). Полученные данные подтверждают важность межлокусных взаимодействий в формировании предрасположенности к ММ [18].

Одним из наиболее значимых результатов проведенного исследования является установление факта значительного повышения при ЛМ сывороточной концентрации IL-6, которая в 4,5 раза превышает медианное значение этого показателя, характерного для здоровых женщин. Обычно данные такого рода трактуют как свидетельство усиления провоспалительной активности цитокиновой сети. Однако необходимо напомнить, что IL-6 обладает достаточно

широким воздействием на течение таких процессов в организме, как метаболизм и регенерация тканей, ремоделирование кроветворения и костной ткани, липидный баланс, поляризация макрофагов из M1- в M2-фенотип, пролиферация кишечного эпителия и т. д. [128]. Вероятно, с этим отчасти связаны неоднозначные результаты терапевтического применения многочисленных препаратов с анти-IL-6 активностью: клазакизумаб, сирукумаб, силтуксимаб, олокизумаб и т. п. [126].

Еще более выраженное возрастание концентрации IL-1 β в сыворотке крови установлено среди пациенток с ММ. Его медианное значение превышает условно «нормативные» значения более чем в 5 раз. Члены семейства IL-1 играют центральную роль в иммунной системе. Они активно участвуют в регуляции реакций врожденного иммунитета и индукции реакций адаптивного иммунитета. Целая группа цитокинов, рецепторов и вспомогательных белков составляют это сложное семейство. Их активация и экспрессия уравниваются различными регуляторными механизмами, нарушение которых приводит к патологическим воспалительным реакциям. Образующаяся провоспалительная среда включает IL-1 β , IL-12, IL-23, IL-6, TNF, CCL1, CXCL1, CXCL2, CXCL8 и GM-KSF. В отличие от других цитокинов семейства IL-1, цитокины IL-36 продуцируются в качестве предшественников, но не содержат сайта расщепления каспазой. После секреции они активируются протеазами, присутствующими во внеклеточных нейтрофильных ловушках, такими как эластаза, катепсин G и протеиназа 3, а также катепсином S. Кроме того, секретируются ингибиторы протеазы α 1-антитрипсин и α 1-антихимотрипсин (кодируемые генами SERPINA1 и SERPINA3), которые ингибируют процессинг цитокинов IL-36 нейтрофильными протеазами и, таким образом, регулируют воспалительную реакцию [132].

Возрастание сывороточной концентрации TNF- α в группе пациенток с ММ почти в 3 раза также является значимым моментом. Функциональная значимость этого цитокина чрезвычайно широка и одним из заметных ее проявлений является опосредование выживания клеток и провоспалительного ответа TNFR-I через NF- κ B и белок-активатор AP-1. Кроме того, TNF- α инициирует сигнальные пути гибели клеток, опосредованные Fas и каспазой.

Для обеспечения инфильтрации иммунных клеток в локальный очаг воспаления, например, при травматическом повреждении, необходима вазодилатация. Мощными вазодилататорами являются NO и простагландины, такие как простагландин PGI₂ или PGE₂, который может быть индуцирован TNF- α через iNOS и способствовать повышению уровня циклооксигеназы 2-го типа (ЦОГ-2). Кроме того, экспрессия молекул адгезии E-селектина или ICAM-1, которая способствует экстравазации моноцитов и нейтрофилов, регулируется TNF- α . Антагонисты TNF- α (этанерцепт, инфликсимаб или адалимумаб) оказались высокоэффективными для лечения аутоиммунных заболеваний, таких как псориаз, болезнь Крона или ревматоидный артрит [52; 135].

В группе пациенток с ММ в 2 раза повышена концентрация хемокина IL-8. IL-8 (CXCL8) представляет собой провоспалительный хемокин, член семейства СХС-хемокинов, продуцируемый при воспалительных процессах. Наиболее заметная роль IL-8 заключается в привлечении нейтрофилов к очагу воспаления, а также в содействии росту и дифференцировке моноцитов-макрофагов, выживанию эндотелиальных клеток, пролиферации и ангиогенезу. Биологические эффекты IL-8 индуцируются при взаимодействии с его трансмембранными рецепторами CXCR1 и CXCR2, связанными с G-белком, и активации воспалительных путей, опосредованных Akt/протеинкиназой B, митоген активируемой протеинкиназой.

IL-6, IL-8 и соответствующие им рецепторы экспрессируются в эндометрии на протяжении всего менструального цикла. IL-6 и IL-8 преимущественно локализуются в эпителиальных и железистых клетках эндометрия. IL-6R и gp130 экспрессируются в железистых клетках эндометрия, а CXCR1 и CXCR2 локализуются на поверхности эпителия эндометрия, железистых клетках эндометрия и, в меньшей степени, на стромальных клетках. И IL-6, и IL-8 демонстрируют паттерн экспрессии, зависящий от менструального цикла, что указывает на их роль в физиологии эндометрия.

Сочетанные изменения сывороточных концентраций IL-6, IL-8 и TNF- α могут служить биомаркером раз вития патологического процесса, связанного не

только с развитием патологии эндометрия матки, но и рака яичника, а также с инициацией развития гепатоцеллюлярной карциномы [1; 9; 117; 167].

Что касается изменений концентраций цитокинов с противовоспалительной активностью, их изменения при ММ или небольшие (IL-4), или незначимы (IL-10).

Не совсем объяснимы результаты о значимом снижении при ММ концентрации в сыворотке крови стимулятора ангиогенеза VEGF ($p < 0,001$). При нарастании мышечной массы матки и формировании миоматозных узлов следовало бы ожидать появления признаков усиления неоангиогенеза, формирования новых сосудистых сетей и увеличения площади сосудистого эндотелия. Это предположение подтверждается при сравнении сывороточной концентрации VEGF среди пациенток с единичным выявленным миоматозным узлом и концентрации этого фактора у женщин с множественными миоматозными узлами. В этом случае концентрация VEGF, как было показано выше, значимо возрастает с 315,63 (218,94; 397,25) до 383,78 (266,39; 482,48) пкг/мл ($p = 0,035$). Однако вопрос о причинах снижения концентрации VEGF в сыворотке крови во всей группе пациенток с ММ остается открытым. Дальнейшего анализа требует и отсутствие статистически значимых позитивных корреляционных связей изменений концентраций VEGF со всеми исследованными цитокинами.

Это может быть связано с наличием в структуре рецептора к VEGFR1 короткого растворимого белка sFlt-1, способного захватывать VEGF и подавляющего ангиогенез, связывая PlGF, экспрессия которого возрастает при опухолевом росте [64; 78]. Данные по экспрессии PlGF при ММ нами в литературе не обнаружены. Уровень сывороточного VEGF значительно возрастает при саркоме матки, что является основанием для включения его в перечень сывороточных биомаркеров дифференциального диагноза с ММ [63].

Результаты проведенного исследования выявили значительные изменения содержания цитокинов в сыворотке крови при миоматозной трансформации миометрия. Значительное повышение концентраций ряда цитокинов выявлено непосредственно в периферической крови. Вероятно, это косвенно свидетельствует о системном характере нарушений регуляции синтеза цитокинов,

и об изменении характера их регуляторного воздействия на функционал многочисленных клеток взаимодействующих тканевых структур матки.

Помимо этого, результаты настоящего исследования указывают на то, что развитие опухолевых процессов в мышечной ткани сопровождается значительным (в разы) повышением концентраций цитокинов в крови, что существенным образом влияет на характер функциональных связей в исследованном фрагменте общей цитокиновой сети, что наглядно иллюстрируется изменениями графических элементов в корреляционном графе с выделением двух альтернативных ортогональных групп корреляционных плеяд, выявляемых у практически здоровых женщин и у пациенток с ММ.

Ангиогенез, при котором новые капилляры прорастают из ранее существовавшего сосуда, является более часто изучаемой и лучше изученной формой формирования сосудов и обычно влечет за собой серию хорошо организованных процессов, управляемых идентифицированными проангиогенными стимулами. Движущей силой этого явления является потребность окружающих тканей в кислороде и питательных веществах, что провоцирует выработку VEGF, факторов роста фибробластов (FGF) и других проангиогенных стимулов несосудистыми клетками [133].

Фактор роста эндотелия сосудов-А (VEGF-A) является ключевым медиатором ангиогенеза, передающим сигнал через семейство тирозинкиназных рецепторов класса IV рецепторов VEGF (VEGFR). Хотя лиганды VEGF-A связываются как с VEGFR1, так и с VEGFR2, они в первую очередь передают сигнал через VEGFR2, что приводит к пролиферации, выживанию, миграции и сосудистой проницаемости эндотелиальных клеток. Различные изоформы VEGF-A возникают в результате альтернативного сплайсинга этого гена в экзоне 8, что приводит к образованию изоформ VEGF. Альтернативные события сплайсинга в экзонах 5–7, в дополнение к недавно выявленным событиям посттрансляционного считывания, производят изоформы VEGF-A, которые различаются по своей биодоступности [148].

Многочисленные доклинические исследования выявили тесную связь

между VEGF и TNF- α , например, TNF- α активирует Etk и VEGFR2 специфически через TNFR2 для усиления передачи сигналов P13K-Akt, что непосредственно приводит к TNF-индуцированной миграции эндотелиальных клеток (EC). TNF- α усиливает экспрессию E-селектина, VCAM-1 и ICAM-1 в стромальных клетках костного мозга и микрососудистых эндотелиальных клетках человека и индуцирует ангиогенез. TNF- α стимулирует эндотелиальные клетки экспрессировать и секретировать MCP-1, который является важным хемокином для рекрутирования макрофагов. Продукция MMP-9 в клетках B-CLL, THP-1 или Jurkat поддерживается аутокринным TNF- α через TNFR1. Кроме того, TNF- α усиливает экспрессию мембранного MMP-1 в клетках, что приводит к усилению активации MMP-2 и клеточной миграции [218].

В низких концентрациях провоспалительный цитокин TNF- α индуцирует миграцию и пролиферацию эндотелиоцитов и формирование сосудоподобных структур. Повышенная продукция макрофагами TNF- α приводит к стимуляции синтеза VEGF клетками и активации неоангиогенеза. К естественным ингибиторам ангиогенеза относят следующие цитокины: фактор пигментного эпителия, ангиостатин, эндостатин, TGF- β , IFN- γ , IFN- α и все тот же TNF- α , который при длительном воздействии на эндотелиоциты тормозит их пролиферацию и запускает апоптоз [83]. Обратная регуляция TNF- α и VEGF описана и при неопластическом ангиогенезе [20].

Эти результаты многое проясняют в клеточных механизмах развития ММ, но не дают ответа на важный вопрос о причинных факторах избирательности развития заболевания у одной части женщин и резистентности к его возникновению у другой части, проживающей в тех же условиях. Вместе с тем хорошо известно, что в этой болезни наблюдается явное расовое неравенство. По оценкам, афроамериканские женщины в три раза чаще заболевают ММ и, как правило, имеют более серьезные симптомы. Существует также семейный анамнез между родственниками первой степени родства и близнецами, а также множественные наследственные синдромы, при которых происходит развитие миомы [66].

Проведенное нами ранее исследование показало (в печати), что варианты полиморфных участков генов VEGFA и TNFA входят в состав большинства полигенных показателей риска (PRS – Polygenic Risk Score), с высокой частотой выявляемых в группе пациенток с ММ и практически не выявляемых в группе здоровых женщин.

Эти данные раскрывают некоторые механизмы генетической предрасположенности к развитию ММ, т. к. прямо указывают на возможность связи развития ММ с генотипом женщины, несущем варианты регуляторных участков генов, обеспечивающих высокий уровень экспрессии этих генов и, соответственно, высокий уровень секреции их белковых продуктов с ангиогенез-модулирующей активностью во внеклеточную среду.

Современные геномные исследования (полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) и полногеномный анализ однонуклеотидного полиморфизма (SNP) выявили варианты, определяющие предрасположенность к ММ, в более чем 50 генах (WNT4, GREB1 (связывание рецептора эстрогена, регулирующего рост 1), TERC (компонент теломеразной РНК), TERT (теломеразная обратная транскриптаза), HMGA1, FOXO1, белок p53 и т. д. Эти гены участвуют в восстановлении повреждений ДНК, поддержании длины теломер, гормональной и паракринной регуляции, апоптозе, развитии мочеполовой системы и раннем менархе. Кроме того, так называемые «защитные» однонуклеотидные варианты, снижающие риск ММ, были обнаружены в интронах следующих генов: KCNMB2 (подсемейство калий-кальциевых каналов, регуляторная бета-субъединица 2 М-субъединицы), FBN2 (фибриллин 2), ESR1 (рецептор эстрогена 1) и CELF4 (член 4 Elav-подобного семейства CGBP).

Исследователи также описали COL6A3 (альфа-3-цепь коллагена VI типа), COL13A (альфа-1-цепь коллагена XIII типа), ARHGAP26 (белок 26, активирующий Rho GTPase), MAN1C1 (член 1 маннозидазы альфа-класса 1C), BET1L (транспортировка Bet1 через везикулярную мембрану Гольджи), варианты гена TNRC6B (тринуклеотидный повтор, содержащий адаптер 6B) и COMT (катехин-О-метилтрансфераза), связанные с накоплением матрикса в ткани узлов,

размером, локализацией и множественной формой ММ [136].

Комплексный анализ собственных и литературных данных позволяет высказать гипотезу о том, что значительная часть генетических факторов риска развития ММ связана с носительством в своем геноме локусов количественных признаков, ассоциированных с высоким уровнем продукции регуляторных факторов модуляции ангиогенеза.

Кроме того, эти данные могут уже сейчас иметь практическое значение не только в качестве основы для разработки прогностических критериев развития ММ на доклиническом этапе, но и в качестве дифференциально диагностических дополнительных лабораторных признаков. В частности, лейомиомы матки, наиболее частые доброкачественные миоматозные опухоли матки, часто невозможно отличить от злокачественных лейомиосарком матки по клиническим критериям. Более того, дифференциация изображений УЗИ/МРТ между обоими объектами часто является сложной задачей из-за их потенциально перекрывающихся особенностей. Поскольку подозрение на лейомиому часто лечится консервативно или с помощью минимально инвазивных методов лечения, ошибочный диагноз лейомиосаркомы как доброкачественной лейомиомы потенциально может привести к значительной задержке лечения, что приведет к увеличению заболеваемости и смертности [26].

За последнее десятилетие был достигнут значительный прогресс в изучении взаимодействия стероидных гормонов, факторов риска, стволовых клеток, генетики и эпигенетики, которые способствуют развитию изучения патогенеза миомы матки. Это позволяет надеяться, что более глубокое понимание этиологии и патогенеза миомы матки приведет к созданию долгосрочных, благоприятных для фертильности и эффективных лекарств для лечения этой распространенной в популяции опухоли [104].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами показано, что ММ сопровождается значительным превышением содержания провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6 в сыворотке крови пациенток на фоне менее выраженного повышения концентраций цитокинов с противовоспалительной активностью IL-4 и IL-10. Это указывает на необходимость системного подхода к анализу взаимозависимых изменений состояния цитокиновой сети, находящейся под полигенным контролем.

Разработан прогностический алгоритм, с помощью «обучающей выборки» позволяющий по результатам исследования полиморфных вариантов генов цитокинов TNFA, IL4 и IL17 выявить два наиболее значимых лабораторных показателя прогноза предрасположенности женщины к развитию ММ с показателем положительного прогностического значения и специфичности 100 % и вероятностью реализации правильного прогноза 95 %.

В сочетании с тремя выявленными показателями прогноза резистентности женщины к развитию ММ алгоритм позволяет формировать группы повышенного риска развития заболевания для диспансерного наблюдения, проведения профилактических мероприятий и выработки рекомендаций по репродуктивному поведению в молодом возрасте.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток с миомой матки в сыворотке крови в 5,2 раза повышено содержание провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6 в сочетании с менее выраженным повышением (в 1,3 раза) концентраций цитокинов с противовоспалительной активностью IL-4 и IL-10. Максимальные значения концентрации IL-1 β и IL-6 выявлены у женщин с миомой матки и патологией эндометрия. Содержание VEGF в сыворотке крови у пациенток с единичным миоматозным узлом было меньше показателя женщин с множественными миоматозными узлами ($p = 0,035$). Для показателей концентрации VEGF характерно отсутствие корреляции с большинством цитокинов. Другие клинические показатели (паритет, прерывание беременности в анамнезе, прием гормональных препаратов) не влияли на уровень цитокинов.

2. У пациенток с миомой матки содержание в сыворотке крови хемокинов Eotaxin, MCP-1 и MIP-1 α статистически значимо более низкое по сравнению с контрольной группой; при этом концентрация MIP-1 β не отличалась. Концентрация RANTES достоверно повышена при миоме матки. Разнонаправленный характер изменений содержания хемокинов при миоме матки подтверждается результатами корреляционного анализа: повышение уровня концентрации RANTES сопровождалось снижением содержания хемокинов Eotaxin, MIP-1 α и MIP-1 β . При этом снижение концентраций хемокинов CCL2, CCL3, CCL4 и CCL11 прямо коррелировало между собой.

3. Методом выделения максимальных взаимосвязей между цитокинами получены три варианта корреляционных плеяд: группа корреляций, общих для всех женщин независимо от наличия миомы матки, представленных шестью парами положительных корреляций (IL-1 β – IL-6; IL-1 β – IL-8; IL-4 – IL-10; IL-6 – IL-10; TNF- α – IL-1 β ; TNF- α – IL-6), а также две группы ортогональных коррелограмм – одна характерна только для женщин без миомы матки (IL-1 β – IL-4; IL-1 β – IL-10; IL-4 – IL-6; IL-4 – TNF- α ; IL-6 – VEGF; IL-10 – TNF- α) и другая – специфична только для пациенток с миомой матки (IL-6 – IL-8), TNF- α – IL-8 и

IL-1 β – VEGF.

4. Среди цитокинов, SNP генов которых представлены в описываемой группе факторов риска развития миомы матки, присутствуют исключительно провоспалительные и проангиогенные, концентрации которых значительно повышены в сыворотке крови пациенток с миомой матки. Это комбинации SNP генов IL17-197AA; TNF-308:IL17-197 GG-AA; TNF-238:IL17-197GG-AA и TNF-308: TNF-238:IL17-197GG-GG-AA. К наиболее значимым «защитным» комбинациям SNP генов цитокинов можно отнести признак IL1B-31 : IL6-174 : IL8-251 : IL17-197 TC-CC-TA-GA; TNF-238 : IL1B-31 : IL6-174 : IL8-251 : IL17-197 GG-TC-CC-TA-GA; TNF-863 : IL1B-31 : IL6-174 : IL8-251 : IL17-197 CC-TC-CC-TA-GA; TNF-863 : TNF-238 : IL1B-31 : IL6-174 : IL8-251 : IL17-197 CC-GG-TC-CC-TA-GA; TNF-308 : IL1B-31 : IL6-174 : IL8-251 : IL17-197 GG-TC-CC-TA-GA и TNF-308 : TNF-238 : IL1B-31 : IL6-174 : IL8-251 : IL17-197 GG-GG-TC-CC-TA-GA; IL4-590 : IL10-592 CC-CC.

5. При оценке информативности выявленных изменений для использования в прогностических целях обращают на себя внимание такие признаки, как TNF-308 GG : TNF-238 GG:IL17-197 AA, который не выявлен ни в одном случае контрольной группы, но довольно часто выявляется среди пациенток с миомой матки (OR = 12,22; p = 0,0003). Специфичность выявления этого показателя составляет 100 %, величина прогностического коэффициента 13,3, что предполагает вероятность правильности прогноза 95 %. При этом среди негативно ассоциированных с миомой матки (протективных) признаков, таких показателей с сопоставимой информативностью и прогностической значимостью гораздо больше.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У женщин репродуктивного возраста с семейным анамнезом по миоме матки необходимо изучать генетическую предрасположенность к развитию миомы матки, что позволит формировать группы риска, персонализированно на раннем доклиническом этапе прогнозировать наличие высокой степени вероятности миоматозного процесса и направлять пациенток на углубленное инструментальное обследование матки.

2. Значительные изменения баланса концентраций цитокинов и хемокинов в сыворотке крови женщин с миомой матки в сочетании с отклонениями в характере распределения SNP генов цитокинов свидетельствуют о возможном участии этих факторов в формировании генетической предрасположенности части женщин к развитию миомы матки, что необходимо учитывать при формировании групп риска.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ИФА	иммуноферментный анализ
ММ	миома матки
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
кДа	килодальтон, мера молекулярного веса белков
РНК	рибонуклеиновая кислота
ЦТЛ	цитотоксические Т-лимфоциты
CD	кластер дифференцировки
CXC, CC, и XC	семейства хемокинов
FGF β	фактор роста фибробластов β
G-CSF	гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
GM-CSF	гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
IL (-1 β , -1Ra, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10, -13, 12p70)	интерлейкины
IL1B	ген IL1- β
INF (- α и - γ)	интерфероны α и γ
MCP-1	моноцитарный хемоаттрактантный белок-1
MHC	главный комплекс гистосовместимости
MIP (-1 α , -1 β)	макрофагальные воспалительные белки, хемокины
NF- κ B	ядерный фактор каппа В
NK	натуральные киллеры
OR	отношение шансов
PDGF	тромбоцитарный фактор роста
RANTES	хемокин, выделяемый Т-клетками при активации
SNP	однонуклеотидный полиморфизм

SP	специфичность показателя
TGF- β	трансформирующий фактор роста
Th	T-хелпер
TLR	толл-подобный рецептор
TNF- α	фактор некроза опухоли
TNFA	ген TNF- α
VEGF	фактор роста эндотелия сосудов
VEGFA	ген VEGF

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ влияния рецептора интерлейкина-27 на инициацию развития гепатоцеллюлярной карциномы / Т. Агаев, Е. К. Титерина, М. В. Хорева [и др.] // Иммунология. – 2024. – № 45 (2). – С. 193–202.
2. Ассоциированность полиморфных вариантов генов цитокинов, фактора роста эндотелия и матричных металлопротеиназ с развитием миомы матки среди русских женщин / Е. Г. Королева, В. И. Коненков, А. В. Шевченко [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2024. – Т. 44, № 2. – С. 113–122.
3. Вейр, Б. Анализ генетических данных. Дискретные генетические признаки / Б. Вейр ; пер. с англ. – Москва : Мир, 1995. – 400 с.
4. Генетические аспекты миомы матки: современный взгляд на проблему / Л. В. Адамян, М. В. Кузнецова, Н. М. Тоноян [и др.] // Проблемы репродукции. – 2023. – № 29 (4–2). – С. 29–39.
5. Гинекология: Национальное руководство / под ред. Г. М. Савельевой [и др.]. – 2-е изд. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 1008 с.
6. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. – Москва : Практика, 1998. – 459 с.
7. Изменения концентраций CCL-хемокинов (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES и Eotaxin) в сыворотке крови женщин с миомой матки / В. И. Коненков, Е. Г. Королева, Н. Б. Орлов [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 8. – С. 107–111.
8. Иммуногистохимические маркеры рецидивирования миомы матки / Н. М. Тоноян, И. Ф. Козаченко, А. В. Асатурова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2022. – № 4. – С. 123–131.
9. Клиническая и прогностическая значимость sPD-1/sPD-L1 при раке яичников / Н. Е. Кушлинский, О. В. Ковалева, А. Н. Грачев [и др.] // Иммунология. – 2024. – № 45 (2). – С. 183–192.
10. Клинические и гистологические особенности миомы матки у женщин репродуктивного возраста в условиях применения селективного

модулятора прогестероновых рецепторов / И. О. Маринкин, Л. А. Пивень, А. В. Волчек [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2020. – № 40 (1). – С. 39–44.

11. Клинические рекомендации. Миома матки. / Л. В. Адамян, Е. Н. Андреева, Ю. С. Абсатарова [и др.]. – Москва: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2020. – 43 с.

12. Маринкин, И. О. Роль нарушений в системе гемостаза и полиморфизма генов в патологии гестационного процесса и перинатального периода / И. О. Маринкин, Т. В. Белоусова, В. А. Плюшкин // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2011. – Т. 9, № 4. – С. 106–110.

13. Миома матки и аденомиоз: Молекулярная характеристика по экспрессии генов стероидных рецепторов / С. В. Шрамко, Л. Ф. Гуляева, Л. Г. Баженова, В. Г. Левченко // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 4. – С. 58–63.

14. Молекулярные механизмы и морфологические проявления редукции лейомиомы под воздействием селективных модуляторов рецепторов прогестерона / Т. А. Демура, З. В. Ревазова, Е. А. Коган, Л. В. Адамян // Архив патологии. – 2017. – № 79 (3). – С. 19–26.

15. Молекулярные механизмы патогенеза миомы матки: Анализ мутаций гена MED12 в российской популяции / М. В. Кузнецова, Д. Ю. Трофимов, Е. Ю. Тихончук [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 10. – С. 85–90.

16. Наркевич, А. Н. Множественные сравнения в биомедицинских исследованиях: проблема и способы решения / А. Н. Наркевич, К. А. Виноградов, А. М. Гржибовский // Экология человека. – 2020. – № 10. – С. 55–64.

17. Особенности экспрессии эндогликозидазы в очагах аденомиоза у пациенток репродуктивного возраста с миомой тела матки / И. О. Маринкин, Л. А. Пивень, Д. А. Соляников [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 11. – С. 79–85.

18. Полиморфизм генов интерлейкинов и риск развития миомы матки /

О. Б. Алтухова, В. Е. Радзинский, С. С. Сиротина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2022. – № 7. – С. 81–87.

19. Противовоспалительная активность цитокинов сыворотки крови (IL-4, IL-10, IL-13) и природного антагониста рецептора IL-1R (IL-1RA) у женщин с миомой матки / В. И. Коненков, Е. Г. Королева, Н. Б. Орлов [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 10. – С. 80–85.

20. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза / В. П. Чехонин, С. А. Шеин, А. А. Корчагина, О. И. Гурина // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 67 (2). – С. 23.

21. Роль фактора роста эндотелия сосудов в прогрессировании лейомиомы матки у женщин репродуктивного возраста / И. О. Маринкин, С. В. Айдагулова, Ю. В. Зенина [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – Т. 16, № 6. – С. 4–8.

22. Стагниева, И. В. Эффективность иммуномодулирующей терапии у больных риносинуситом / И. В. Стагниева, А. С. Симбирцев // Медицинская иммунология. – 2015. – № 17 (5). – С. 423–430.

23. Сывороточные уровни факторов роста гемопоэза и ангиогенеза (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF и PDGF) у женщин с миомой матки / В. И. Коненков, Е. Г. Королева, Н. Б. Орлов [и др.] // Медицинская иммунология. – 2018. – № 20 (5). – С. 691–698.

24. Уровни провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-12P70, IFN- γ) в сыворотке крови пациенток с миомой матки / В. И. Коненков, Е. Г. Королева, Н. Б. Орлов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – № 165 (5). – С. 648–652.

25. Цитокиновый профиль при осложнениях гормонотерапии миомы матки / Н. Ф. Хворостухина, А. Е. Островская, Д. А. Новичков, Н. Н. Степанова // Медицинская иммунология. – 2017. – № 19 (6). – С. 739–748.

26. A case-control study of the relationship between visceral fat and development of uterine fibroids / K. Sun, Y. Xie, N. Zhao, Z. Li // Exp Ther Med. – 2019. – Vol. 18 (1). – P. 404–410.

27. A dynamic inflammatory cytokine network in the human ovarian cancer microenvironment / H. Kulbe, P. Chakravarty, D. A. Leinster [et al.] // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72 (1). – P. 66–75.
28. A novel human leiomyoma tissue derived matrix for cell culture studies / T. Salo, M. Sutinen, E. Hoque Apu [et al.] // *BMC Cancer.* – 2015. – Vol. 15. – P. 981.
29. A systematic review of exercise modalities that reduce pro-inflammatory cytokines in humans and animals' models with mild cognitive impairment or dementia / S. Ayari, A. Abellard, M. Carayol [et al.] // *Exp. Gerontol.* – 2023. – Vol. 175. – P. 112141.
30. A US population-based study of uterine fibroid diagnosis incidence, trends, and prevalence: 2005 through 2014 / O. Yu, D. Scholes, R. Schulze-Rath [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2018. – Vol. 219 (6). – P. 591–599.
31. Abd El-Fattah, E. E. Metformin modulate immune fitness in hepatocellular carcinoma: Molecular and cellular approach / E. E. Abd El-Fattah, A. Y. Zakaria // *Int. Immunopharmacology*, – 2022. – Vol. 109. – P. 108889.
32. Abd El-Fattah, E. E. Reprograming immune microenvironment modulates CD47 cancer stem cells in hepatocellular carcinoma / E. E. Abd El-Fattah, H. M. Selim // *Int. Immunopharmacol.* – 2022. – Vol. 113 (Pt B). – P. 109475.
33. Age and age-related diseases: Role of inflammation triggers and cytokines / I. M. Rea, D. S. Gibson, V. McGilligan [et al.] // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 586.
34. Al-Hendy, A. Catechol-O-methyltransferase polymorphism is associated with increased uterine leiomyoma risk in different ethnic groups / A. Al-Hendy, S. A. Salama // *J Soc Gynecol Investig.* – 2006. – Vol. 13 (2). – P. 136–144.
35. Andersen, J. Growth factors and cytokines in uterine leiomyomas / J. Andersen // *Semin Reprod Endocrinol.* – 1996. – Vol. 14 (3). – P. 269–282.
36. Annunziato, F. The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity / F. Annunziato, C. Romagnani, S. Romagnani // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 135 (3). – P. 626–635.
37. Anti-inflammatory and immune-regulatory cytokines in rheumatoid

arthritis / Z. Chen, A. Bozec, A. Ramming, G. Schett // *Nat Rev Rheumatol.* – 2019. – Vol. 15 (1). – P. 9–17.

38. Antiinterleukin-6 expression in activated human neutrophils / N. Uyama, H. Tsutsui, S. Wu [et al.] // *Nat. Commun.* – 2015. – Vol. 6. – P. 6061.

39. Aptamers Against pro- and anti-inflammatory cytokines: A review / M. Boshtam, S. Asgary, S. Kouhpayeh [et al.] // *Inflammation.* – 2017. – Vol. 40 (1). – P. 340–349.

40. Artis, D. The biology of innate lymphoid cells / D. Artis, H. Spits // *Nature.* – 2015. – Vol. 517. – P. 293–301.

41. Association of body size and body fat distribution with uterine fibroids among Chinese women / Y. Yang, Y. He, Q. Zeng, S. Li // *J Womens Health (Larchmt).* – 2014. – Vol. 23 (7). – P. 619–626.

42. Association of the IL-10 gene rs1800872 (-592 C>A) polymorphism with breast cancer in a Mexican population / M. P. Gallegos-Arreola, G. M. Zúñiga González, L. E. Figuera [et al.] // *J. BUON.* – 2019. – Vol. 24 (6). – P. 2369–2376.

43. Association study of matrix metalloproteinase 3 5A/6A polymorphism with in-stent restenosis after percutaneous coronary interventions in a Han Chinese population / J. B. Du, W. Zhang, N. Li [et al.] // *J Int Med Res.* – 2020. – Vol. 48 (1). – P. 300060519827145. DOI: 10.1177/0300060519827145.

44. Atypical uterine smooth muscle tumors: a retrospective evaluation of clinical and pathologic features / G. Maltese, C. Fontanella, S. Lepori [et al.] // *Oncology.* – 2018. – Vol. 94. – P. 1–6.

45. Baker, K. J. IL-1 family members in cancer: Two sides to every story / K. J. Baker, A. Houston, E. Brint // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1197.

46. Bamias, G. Role of Th2 immunity in intestinal inflammation / G. Bamias, F. Cominelli // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 31 (6). – P. 471–476.

47. Baranov, V. S. Pathogenomics of uterine fibroids development / V. S. Baranov, N. S. Osinovskaya, M. I. Yarmolinskaya // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20. – P. 6151.

48. Baseline levels and temporal stability of 27 multiplexed serum cytokine

concentrations in healthy subjects / A. Biancotto, A. Wank, S. Perl [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10 (7). – P. e0132870.

49. Bioinformatic investigation of the involvement of candidate genes of cytokines in the formation of large myomatous nodes in women with uterine cancer in older age groups / O. B. Altuhova, S. S. Sirotina, I. V. Ponomarenko [et al.] // Adv Gerontol. – 2016. – Vol. 29 (5). – P. 717–721.

50. Biology of interleukin-10 / R. Sabat, G. Grütz, K. Warszawska [et al.] // Cytokine Growth Factor Rev. – 2010. – Vol. 21 (5). – P. 331–344.

51. Björkström, N. K. Tissue-specific effector functions of innate lymphoid cells / N. K. Björkström, E. Kekäläinen, J. Mjösberg // Immunology. – 2013. – Vol. 139 (4). – P. 416–427.

52. Bradley, J. R. TNF-mediated inflammatory diseases / J. R. Bradley // J. Pathol. – 2008. – Vol. 214. – P. 149–160.

53. Cambier, S. The chemokines CXCL8 and CXCL12: Molecular and functional properties, role in disease and efforts towards pharmacological intervention / S. Cambier, M. Gouwy, P. Proost // Cell Mol Immunol. – 2023. – Vol. 20 (3). – P. 217–251.

54. CC chemokine ligand 20 (CCL20) positively regulates collagen type I production in 3D skin equivalent tissues / K. Bandow, A. Smith, T. Watkins [et al.] // Exp Dermatol. – 2023. – Vol. 32 (4). – P. 379–391.

55. CCL20 promotes lung adenocarcinoma progression by driving epithelial-mesenchymal transition / T. Fan, S. Li, C. Xiao [et al.] // Int J Biol Sci. – 2022. – Vol. 18 (11). – P. 4275–4288.

56. Cellular biology of myomas: interaction of sex steroids with cytokines and growth factors / I. Sozen, A. Arici // Obstet Gynecol Clin North Am. – 2006. – Vol. 33 (1). – P. 41–58.

57. Cellular kinetics of MED12-mutant uterine leiomyoma growth and regression in vivo / V. A. Serna, X. Wu, W. Qiang [et al.] // Endocr Relat Cancer. – 2018. – Vol. 25 (7). – P. 747–759.

58. Characteristics of peripheral immune function in reproductive females

with uterine leiomyoma / Z. Q. Liu, M. Y. Lu, R. L. Sun [et al.] // J Oncol. – 2019. – Vol. 2019. – P. 5935640.

59. Characterization of MED12, HMGA2, and FH alterations reveals molecular variability in uterine smooth muscle tumors / N. Mäkinen, K. Kämpjärvi, N. Frizzell [et al.] // Mol. Cancer – 2017. – Vol. 16. – P. 101.

60. Chemokine-cytokine networks in the head and neck tumor microenvironment / S. Nisar, P. Yousuf, T. Masoodi [et al.] // Int J Mol Sci. – 2021. – Vol. 22 (9). – P. 4584. DOI: 10.3390/ijms22094584.

61. Chromatin remodelling and autocrine TNF α are required for optimal interleukin-6 receptor antibody treatment ameliorates postoperative adhesion formation / M. Zimmermann, F. B. Aguilera, M. Castellucci [et al.] // Sci. Rep. – 2019. – Vol. 9 (1). – P. 17558.

62. Chwalisz, K. Current and emerging medical treatments for uterine fibroids / K. Chwalisz, H. Taylor // Semin Reprod Med. – 2017. – Vol. 35 (6). – P. 510–522.

63. Circulating protein biomarkers to differentiate uterine sarcomas from leiomyomas / N. Glorie, T. Baert, T. Van Den Bosch, A. N. Coosemans // Anticancer Res. – 2019. – Vol. 39 (8). – P. 3981–3989.

64. Claesson-Welsh, L. VEGF receptor signal transduction – A brief update / L. Claesson-Welsh // Vasc. Pharmacol. – 2016. – Vol. 86. – P. 14–17.

65. Clonality of smooth muscle and fibroblast cell populations isolated from human fibroid and myometrial tissues / S. J. Holdsworth-Carson, M. Zaitseva, B. J. Vollenhoven, P. A. Rogers // Mol. Hum. Reprod. – 2014. – Vol. 20 (3). – P. 250–259.

66. Commandeur, A. E. Epidemiological and genetic clues for molecular mechanisms involved in uterine leiomyoma development and growth / A. E. Commandeur, A. K. Styer, J. M. Teixeira // Hum Reprod Update. – 2015. – Vol. 21 (5). – P. 593–615.

67. Complex networks of multiple factors in the pathogenesis of uterine leiomyoma / M. S. Islam, O. Protic, P. Stortoni [et al.] // Fertil Steril – 2013. – Vol. 100. – P. 178–193.

68. Comprehensive review of uterine fibroids: Developmental origin, pathogenesis, and treatment / Q. Yang, M. Ciebia, M. V. Bariani [et al.] // *Endocr Rev.* – 2022. – Vol. 43 (4). – P. 678–719.
69. Concentrations of immunoregulatory proteins and some cytokines in blood of women during menopausal therapy / V. N. Zorina, O. V. Isakova, R. M. Zorina [et al.] // *Medical Immunology.* – 2016. – Vol. 18 (2). – P. 177–182.
70. Construction of a CCL20-centered circadian-signature based prognostic model in cervical cancer / Y. Yu, Y. Liu, Y. Li [et al.] // *Cancer Cell Int.* – 2023. – Vol. 23 (1). – P. 92.
71. CYP1A1 genetic polymorphisms and uterine leiomyoma risk: a meta-analysis / F. Wang, J. Chen, L. Wang [et al.] // *Int J Clin Exp Med.* – 2015. – Vol. 8 (3). – P. 3590–3594.
72. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease / M. D. Turner, B. Nedjai, T. Hurst, D. J. Pennington // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – Vol. 1843 (11). – P. 2563–2582.
73. Cytokines as therapeutic targets for cardio- and cerebrovascular diseases / L. Liberale, S. Ministrini, F. Carbone [et al.] // *Basic. Res. Cardiol.* – 2021. – Vol. 116 (1). – P. 23.
74. Cytokines, growth factors and proteases in medium and large vessel vasculitis / C. M. Weyand, R. Watanabe, H. Zhang [et al.] // *Clin. Immunol.* – 2019. – Vol. 206. – P. 33–41.
75. Cytokines: From clinical significance to quantification / C. Liu, D. Chu, K. Kalantar-Zadeh [et al.] // *Adv. Sci. (Weinh).* – 2021. – Vol. 8 (15). – P. e2004433.
76. Dairy and related nutrient intake and risk of uterine leiomyoma: A prospective cohort study / O. R. Orta, K. L. Terry, S. A. Missmer, H. R. Harris // *Hum Reprod.* – 2020. – Vol. 35 (2). – P. 453–463.
77. De Streel, G. Targeting immunosuppression by TGF- β 1 for cancer immunotherapy / G. De Streel, S. Lucas // *Biochem Pharmacol.* – 2021. – Vol. 192. – P. 114697.
78. Di Stasi, R. Structure-based design of peptides targeting VEGF/VEGFRs /

R. Di Stasi, L. De Rosa, L. D. D'Andrea // *Pharmaceuticals* (Basel). – 2023. – Vol. 16 (6). – P. 851.

79. Dinarello, C. A. Proinflammatory cytokines / C. A. Dinarello // *Chest*. – 2000. – Vol. 118 (2). – P. 503–508.

80. Discrimination, segregation, and chronic inflammation: Testing the weathering explanation for the poor health of Black Americans / R. L. Simons, M. K. Lei, S. R. H. Beach [et al.] // *Dev Psychol*. – 2018. – Vol. 54 (10). – P. 1993–2006.

81. Dissecting the influence of cellular senescence on cell mechanics and extracellular matrix formation in vitro / E. Brauer, T. Lange, D. Keller [et al.] // *Aging Cell*. – 2023. – Vol. 22 (3). – P. e13744.

82. Donnez, J. Uterine fibroids and progestogen treatment: Lack of evidence of its efficacy: A review / J. Donnez // *J Clin Med*. – 2020. – Vol. 9 (12). – P. 3948.

83. Dreyfuss, J. L. Ocular Angiogenesis / J. L. Dreyfuss, R. J. Giordano, C. V. Regatieri // *J Ophthalmol*. – 2015. – Vol. 2015. – P. 892043. DOI: 10.1155/2015/892043.

84. Dudley, A. C. Pathological angiogenesis: Mechanisms and therapeutic strategies / A. C. Dudley, A. W. Griffioen // *Angiogenesis*. – 2023. – Vol. 26. – P. 313–347.

85. Effect of estrogen on tendon collagen synthesis, tendon structural characteristics, and biomechanical properties in postmenopausal women / M. Hansen M. Kongsgaard, L. Holm [et al.] // *J Appl Physiol*. – 2009. – Vol. 106 (4). – P. 1385–1393.

86. Effect of high-intensity focused ultrasound treatment on immune function in patients with uterine fibroids / X. Wang, J. Qin, J. Chen [et al.] // *Int J Hyperthermia*. – 2013. – Vol. 29 (3). – P. 225–233.

87. Effects of IL-4-590C/T (rs2243250) polymorphism on the susceptibility of smoking-related cancer: a meta-analysis involving 11,407 subjects / G. Chen, C. Hu, Y. Song [et al.] // *Biomed. Res. Int*. – 2019. – Vol. 2019. – P. 3104176.

88. Effects of interleukin-8 on granulation tissue maturation / K. E. Moyer, G. C. Sagers, G. M. Allison [et al.] // *J Cell Physiol*. – 2002. – Vol. 193 (2). –

P. 173–179.

89. Elevated inflammatory mediators in adults with oculorespiratory syndrome following influenza immunization: a public health agency of Canada/Canadian Institutes of Health Research Influenza Research Network Study / M. Al-Dabbagh, K. Lapphra, D. W. Scheifele [et al.] // *Clin Vaccine Immunol.* – 2013. – Vol. 20 (8). – P. 1108–14.

90. EMAS position statement: management of uterine fibroids / F. R. Pérez-López, L. Ornat, I. Ceausu [et al.] // *Maturitas.* – 2014. – Vol. 79 (1). – P. 106–116.

91. Engineered MED12 mutations drive uterine fibroid-like transcriptional and metabolic programs by altering the 3D genome compartmentalization / K. Buyukcelebi, X. Chen, F. Abdula [et al.] // *Res Sq.* – 2023. – Vol.3. – P. 2537075.

92. Epidemiology of uterine fibroids: A systematic review / E. A. Stewart, C. L. Cookson, R. A. Gandolfo, R. Schulze-Rath // *BJOG.* – 2017. – Vol. 124 (10). – P. 1501–1512.

93. Epigenomic and enhancer dysregulation in uterine leiomyomas / O. W. Mlodawska, P. Saini, J. B. Parker [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2022. – Vol. 28 (4). – P. 518–547.

94. Estimated prevalence and incidence of uterine leiomyoma, and its treatment trend in South Korean women for 12 years: a national population-based study / M. Lee, Y. J. Chung, H. K. Kim [et al.] // *J Womens Health (Larchmt).* – 2021. – Vol. 30 (7). – P. 1038–1046.

95. European society of urogenital radiology (ESUR) guidelines: MR imaging of leiomyomas / R. A. Kubik-Huch, M. Weston, S. Nougaret [et al.] // *Eur Radiol.* – 2018. – Vol. 28 (8). – P. 3125–3137.

96. Evaluation of tumor necrosis factor (TNF)- α mRNA expression level and the rs1799964 polymorphism of the TNF- α gene in peripheral mononuclear cells of patients with inflammatory bowel diseases / M. Nourian, V. Chaleshi, L. Pishkar [et al.] // *Biomed Rep.* – 2017. – Vol. 6 (6). – P. 698–702.

97. Expression of mRNA for chemokines and chemokine receptors in tissues of the myometrium and uterine leiomyoma / K. A. Syssoev, N. V. Kulagina,

A. B. Chukhlovina [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2008. – Vol. 145. – P. 84–89.

98. Factors associated with vitamin D deficiency and inadequacy among women of childbearing age in the United States / G. Zhao, E. S. Ford, J. Tsai [et al.] // ISRN Obstet Gynecol. – 2012. – Vol. 2012. – P. 691486.

99. Fajgenbaum, D. C. Cytokine storm / D. C. Fajgenbaum, C. H. June // N. Engl. J. Med. – 2020. – Vol. 383 (23). – P. 2255–2273.

100. Familial predisposition to leiomyomata: Searching for protective genetic factors affiliations expand / M. V. Kuznetsova, N. S. Sogoyan, A. J. Donnikov [et al.] // Biomedicines. – 2022. – Vol. 10 (2). – P. 508–520.

101. Fousek, K. Interleukin-8: A chemokine at the intersection of cancer plasticity, angiogenesis, and immune suppression / K. Fousek, L. A. Horn, C. Palena // Pharmacol. Ther. – 2021. – Vol. 219. – P. 107692.

102. Gallagher, C. S. Genetic association studies in uterine fibroids: risk alleles presage the path to personalized therapies / C. S. Gallagher, C. C. Morton // Semin Reprod Med. – 2016. – Vol. 34 (4). – P. 235–241.

103. Gene polymorphisms of Interleukin-27 correlate with the susceptibility, severity, and clinical outcomes of elderly people with Guillain-Barré syndrome / H. Zhang, H. Zhao, G. Yang [et al.] // Gerontology. – 2022. – Vol. 68 (8). – P. 854–860.

104. Genetic mechanisms driving uterine leiomyoma pathobiology, epidemiology, and treatment / M. S. Ramaiyer, E. Saad, I. Kurt, M. A. Borahay // Genes (Basel). – 2024. – Vol. 15 (5). – P. 558.

105. Genomics of uterine leiomyomas: insights from high-throughput sequencing / M. Mehine, N. Mäkinen, H. R. Heinonen [et al.] // Fertil Steril. – 2014. – Vol. 102 (3). – P. 621–629.

106. Green, D. S. Current prospects of type II interferon- γ signaling and autoimmunity / D. S. Green, H. A. Young, J. C. Valencia // J. Biol. Chem. – 2017. – Vol. 292 (34). – P. 925–933.

107. H19 lncRNA identified as a master regulator of genes that drive uterine leiomyomas / T. Cao, Y. Jiang, Z. Wang [et al.] // Oncogene. – 2019. – Vol. 38. – P. 5356–5366.

108. Halder, S. K. 1,25-dihydroxyvitamin d3 reduces extracellular matrix-associated protein expression in human uterine fibroid cells / S. K. Halder, K. G. Osteen, A. Al-Hendy // *Biol Reprod.* – 2013. – Vol. 89 (6). – P. 150.
109. Hall, B. M. T cells: soldiers and spies - the surveillance and control of effector T cells by regulatory T cells / B. M. Hall // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* – 2015. – Vol. 10 (11). – P. 2050–2064.
110. Han Y., Liu D., Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer / Y. Han, D. Liu, L. Li // *Am J Cancer Res.* – 2020. – Vol. 10 (3). – P. 727–742.
111. Hirano, T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer / T. Hirano // *Int Immunol.* – 2021. – Vol. 33 (3). – P. 127–148.
112. HMGA2 and MED12 alterations frequently co-occur in uterine leiomyomas / L. J. Galindo, T. Hernández-Beeftink, A. Salas [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2018. – Vol. 150. – P. 562–568.
113. How to differentiate uterine leiomyosarcoma from leiomyoma with imaging / S. Sun, P. A. Bonaffini, S. Nougaret [et al.] // *Diagn Interv Imaging.* – 2019. – Vol. 100 (10). – P. 619–634.
114. Identification of uterine leiomyoma-specific marker genes based on DNA methylation and their clinical application / S. Sato, R. Maekawa, Y. Yamagata [et al.] // *Sugino N. Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 30652.
115. IL-1Ra (recombinant human IL-1 receptor antagonist) in the treatment of rheumatoid arthritis: the efficacy / U. Fiocco, M. Vezzù, L. Cozzi, S. Todesco // *Reumatismo.* – 2004. – Vol. 56 (1 Suppl 1). – P. 62–73.
116. IL-1 α mediates innate and acquired resistance to immunotherapy in melanoma / S. Singh, Z. Xiao, K. Bavisi [et al.] // *J Immunol.* – 2021. – Vol. 206 (8). – P. 1966–1975.
117. IL-6 and IL-8: An overview of their roles in healthy and pathological pregnancies / A. Vilotić, M. Nacka-Aleksić, A. Pirković [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23 (23). – P. 14574.
118. Impact of whole-blood processing conditions on plasma and serum concentrations of cytokines / J. E. Lee, J. W. Kim, B. G. Han, S. Y. Shin // *Biopreserv.*

Biobank. – 2016. – Vol. 14 (1). – P. 51–55.

119. Integrated data analysis reveals uterine leiomyoma subtypes with distinct driver pathways and biomarkers / M. Mehine, E. Kaasinen, H.-R. Heinonen [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2016. – Vol. 113. – P. 1315–1320.

120. Integrated epigenome, exome, and transcriptome analyses reveal molecular subtypes and homeotic transformation in uterine fibroids / J. W. George, H. Fan, B. Johnson [et al.] // *Cell Rep.* – 2019. – Vol. 29. – P. 4069–4085.

121. Integrative analysis of the DNA methylome and transcriptome in uterine leiomyoma shows altered regulation of genes involved in metabolism, proliferation, extracellular matrix, and vesicles / M. C. Carbajo-García, A. Corachán, E. Juárez-Barber [et al.] // *J. Pathol.* – 2022. – Vol. 257. – P. 663–673.

122. Interleukin (IL)-12 receptor beta1 codon 378 G homozygote and allele, but not IL-1 (beta-511 promoter, 3953 exon 5, receptor antagonist), IL-2 114, IL-4-590 intron 3, IL-8 3'-UTR 2767, and IL-18 105, are associated with higher susceptibility to leiomyoma / Y. Y. Hsieh, C. C. Chang, C. H. Tsai [et al.] // *Fertil Steril.* – 2007. – Vol. 87 (4). – P. 886–895.

123. Interleukin-1 blockade with anakinra and heart failure following ST-segment elevation myocardial infarction: results from a pooled analysis of the VCUART clinical trials / A. Abbate, G. F. Wohlford, M. G. Del Buono [et al.] // *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother.* – 2022. – Vol. 8 (5). – P. 503–510.

124. Interleukin-6 -174G/C polymorphism in breast cancer and uterine leiomyoma patients: a population-based case control study / K. V. Litovkin, V. P. Domenyuk, V. V. Bubnov, V. N. Zaporozhan // *Exp Oncol.* – 2007. – Vol. 29 (4). – P. 295–298.

125. Interleukin-6 in hepatocellular carcinoma: A dualistic point of view / I. Nenu, T. M. Toadere, I. Topor [et al.] // *Biomedicines.* – 2023. – Vol. 11 (10). – P. 2623. DOI: 10.3390/biomedicines11102623.

126. Interleukin-6 inhibition in the management of non-infectious uveitis and beyond / S. Karkhur, M. Hasanreisoglu, E. Vigil [et al.] // *J. Ophthalmic Inflamm. Infect.* – 2019. – Vol. 9 (1). – P. 17.

127. Interleukin-6: a growth factor stimulating collagen synthesis in human tendon / M. B. Andersen, J. Pingel, M. Kjær, H. Langberg // *Journal of Applied Physiology*. – 2011. – Vol. 110 (6). – P. 1549–1554.

128. Interleukin-6: Obstacles to targeting a complex cytokine in critical illness / O. J. McElvaney, G. F. Curley, S. Rose-John, N. G. McElvaney // *Lancet Respir. Med.* – 2021. – Vol. 9 (6). – P. 643–654.

129. Interleukins and ischemic stroke / H. Zhu, S. Hu, Y. Li [et al.] // *Front. Immunol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 828447.

130. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : Receptors, functions, and roles in diseases / M. Akdis, S. Burgler, R. Cramer [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* – 2011. – Vol. 127 (3). – P. 701–721.

131. Iyer, S. S. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease / S. S. Iyer, G. Cheng // *Crit. Rev. Immunol.* – 2012. – Vol. 32 (1). – P. 23–63.

132. Iznardo, H. IL-1 family cytokines in inflammatory dermatoses: Pathogenetic role and potential therapeutic implications / H. Iznardo, L. Puig // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23 (16). – P. 9479.

133. Jeong, J. H. Pathological angiogenesis and inflammation in tissues / J. H. Jeong, U. Ojha, Y. M. Lee // *Arch Pharm Res.* – 2021. – Vol. 44 (1). – P. 1–15.

134. Kadomoto, S. The CCL20-CCR6 axis in cancer progression / S. Kadomoto, K. Izumi, A. Mizokami // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21 (15). – P. 5186.

135. Kany, S. Cytokines in inflammatory diseases / S. Kany, J. T. Vollrath, B. Relja // *Int. J. Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20 (23). – P. 6008.

136. Koltsova, A. S. A view on uterine leiomyoma genesis through the prism of genetic, epigenetic and cellular heterogeneity / A. S. Koltsova, O. A. Efimova, A. A. Pendina // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24 (6). – P. 5752.

137. Łaniewski, P. The microbiome and gynaecological cancer development, prevention and therapy / P. Łaniewski, Z. E. İlhan, M. M. Herbst-Kralovetz // *Nat Rev Urol.* – 2020. – Vol. 17 (4). – P. 232–250.

138. Laughlin-Tommaso, S. K. Disparities in fibroid incidence, prognosis, and management / S. K. Laughlin-Tommaso, V. L. Jacoby, E. R. Myers // *Obst. Gyn. Clin. North Am.* – 2017. – Vol. 44 (1). – P. 81–94.
139. Li, F. Search for key genes, key signaling pathways, and immune cell infiltration in uterine fibroids by bioinformatics analysis / F. Li, J. Wang, W. Liu // *Medicine (Baltimore)*. – 2023. – Vol. 102 (20). – P. e33815. DOI: 10.1097/MD.00000000000033815.
140. Li, Y. CRISPR/Cas multiplexed biosensing: A challenge or an insurmountable obstacle? / Y. Li, L. Liu, G. Liu // *Trends Biotechnol.* – 2019. – Vol. 37 (8). – P. 792–795.
141. Malik, M. IL6 and STAT-3 pathway highlight the differences in molecular responses in myometrium and uterine fibroids / M. Malik, J. L. Britten, W. Catherino // *Fertility and Sterility*. – 2019. – Vol. 112 (3, Supplement). – P. e350.
142. Marsh, E. E. Steroid hormones and leiomyomas / E. E. Marsh, S. E. Bulun // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* – 2006. – Vol. 33 (1). – P. 59–67.
143. MED12 and HMGA2 mutations: Two independent genetic events in uterine leiomyoma and leiomyosarcoma / E. Bertsch, W. Qiang, Q. Zhang [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2014. – Vol. 27. – P. 1144–1153.
144. Med12 gain-of-function mutation causes leiomyomas and genomic instability / P. Mittal, Y. H. Shin, S. A. Yatsenko [et al.] // *J Clin Invest.* – 2015. – Vol. 125 (8). – P. 3280–3284.
145. MED12, the mediator complex subunit 12 gene, is mutated at high frequency in uterine leiomyomas / N. Mäkinen, M. Mehine, J. Tolvanen [et al.] // *Science*. – 2011. – Vol. 334. – P. 252–255.
146. Mediator kinase disruption in MED12-mutant uterine fibroids from Hispanic women of south Texas / M. J. Park, H. Shen, N. H. Kim [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2018. – Vol. 103 (11). – P. 4283–4292.
147. Million Women Study Collaborators. Effects of obesity and hormone therapy on surgically-confirmed fibroids in postmenopausal women / E. M. Sommer, A. Balkwill, G. Reeves [et al.] // *Eur J Epidemiol.* – 2015. – Vol. 30 (6). – P. 493–499.

148. Molecular pharmacology of VEGF-A isoforms: Binding and signalling at VEGFR2 / C. J. Peach, V. W. Mignone, M. A. Arruda [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19 (4). – P. 1264.
149. Moudgil, K. D. Cytokines in autoimmunity: role in induction, regulation, and treatment / K. D. Moudgil, D. Choubey // *J Interferon Cytokine Res.* – 2011. – Vol. 31 (10). – P. 695-703.
150. Multi-omics: Differential expression of IFN- γ results in distinctive mechanistic features linking chronic inflammation, gut dysbiosis, and autoimmune diseases / H. R. Bae, P. S. C. Leung, D. L. Hodge [et al.] // *J Autoimmun.* – 2020. – Vol. 111. – P. 102436.
151. Multiple clinical characteristics separate MED12-mutation-positive and negative uterine leiomyomas / H. R. Heinonen, A. Pasanen, O. Heikinheimo [et al.] // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7 (1). – P. 1015.
152. Mutational analysis of MED12 exon 2 in uterine leiomyoma and other common tumors / E. M. Je, M. R. Kim, K. O. Min [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2012. – Vol. 131. – P. 1044–1047.
153. Myokines: Crosstalk and consequences on liver physiopathology / A. Dumond Bourie, J. B. Potier, M. Pinget, K. Bouzakri // *Nutrients.* – 2023. – Vol. 15 (7). – P. 1729.
154. Myokines: Novel therapeutic targets for diabetic nephropathy / M. Yang, S. Luo, J. Yang [et al.] // *Front. Endocrinol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 1014581.
155. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications / M. S. Ellulu, I. Patimah, H. Khaza'ai [et al.] // *Arch Med Sci.* – 2017. – Vol. 13 (4). – P. 851–863.
156. p16^{INK4a} regulates cellular senescence in PD-1-expressing human T cells / V. Janelle, M. Neault, M. È. Lebel [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 698565. DOI: 10.3389/fimmu.2021.698565.
157. Polymorphism of the IL13 gene may be associated with uterine leiomyomas in slovenian women / J. Krsteski, S. Jurgec, M. Pakiž [et al.] // *Balkan J Med Genet.* – 2016. – Vol. 19 (2). – P. 51–60.

158. Polymorphisms in MMP-2 and MMP-9 promoter regions are associated with endometriosis / M. Saare, M. Lamp, T. Kaart [et al.] // *Fertil Steril.* – 2010. – Vol. 94 (4). – P. 1560–1563.

159. Possible involvement of inflammatory/reparative processes in the development of uterine fibroids / O. Protic, P. Toti, M. S. Islam [et al.] // *Cell. Tissue Res.* – 2016. – Vol. 364 (2). – P. 415–427.

160. Presentation and treatment of uterine leiomyoma in adolescence: a systematic review / R. M. Moroni, C. S. Vieira, R. A. Ferriani [et al.] // *BMC Womens Health.* – 2015. – Vol. 15. – P. 4.

161. Pro-inflammatory and immunosuppressive environment contributes to the development and progression of uterine fibroids / H. Elkafas, M. V. Bariani, M. Ali [et al.] // *Fertil Steril.* – 2020. – Vol. 114 (3). – P. e87. DOI:10.1016/j.fertnstert.2020.08.264.

162. Regulatory (FoxP3+) T cells and TGF- β predict the response to anti-PD-1 immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer / J. Koh, J. Y. Hur, K. Y. Lee [et al.] // *Scientific Reports.* – 2020. – Vol. 10 (1). – P. 18994.

163. Reparative effects of interleukin-1 receptor antagonist in young and aged/co-morbid rodents after cerebral ischemia / J. M. Pradillo, K. N. Murray, G. A. Coutts [et al.] // *Brain Behav Immun.* – 2017. – Vol. 61. – P. 117–126.

164. Role of chemokines in the crosstalk between tumor and tumor-associated macrophages / R. Qin, W. Ren, G. Ya [et al.] // *Clin Exp Med.* – 2023. – Vol. 23 (5). – P. 1359–1373.

165. Rose-John, S. The role of IL-6 in host defence against infections: immunobiology and clinical implications / S. Rose-John, K. Winthrop, L. Calabrese // *Nat Rev Rheumatol.* – 2017. – Vol. 13 (7). – P. 399–409.

166. Saad, E. E. Senescence-associated secretory phenotype (SASP) and uterine fibroids: Association with PD-L1 activation and collagen deposition / E. E. Saad, R. Michel, M. A. Borahay // *Ageing Res Rev.* – 2024. – Vol. 97. – P. 102314. DOI: 10.1016/j.arr.2024.102314.

167. Salivary IL-8, IL-6 and TNF- α as potential diagnostic biomarkers for oral

cancer / H. A. Sahibzada, Z. Khurshid, R. S. Khan [et al.] // *Diagnostics (Basel)*. – 2017. – Vol. 7 (2). – P. 21.

168. Seliger, B. IFN inducibility of major histocompatibility antigens in tumors / B. Seliger, F. Ruiz-Cabello, F. Garrido // *Adv. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 101. – P. 249–276.

169. Severinsen, M. C. K. Muscle-organ crosstalk: The emerging roles of myokines / M. C. K. Severinsen, B. K. Pedersen // *Endocr Rev.* – 2020. – Vol. 41 (4). – P. 594–609.

170. Shahbazi, S. Somatic mutational analysis of MED12 exon 2 in uterine leiomyomas of Iranian women / S. Shahbazi, N. Fatahi, S. Amini-Moghaddam // *Am J Cancer Res.* – 2015. – Vol. 5 (8). – P. 2441–2446.

171. Sheng, J. The immune suppressive function of transforming growth factor- β (TGF- β) in human diseases / J. Sheng, W. Chen, H-J. Zhu // *Growth Factors*. – 2015. – Vol. 33 (2). – P. 92–101.

172. Simon, R. Sensitivity, specificity, PPV, and NPV for predictive biomarkers / R. Simon // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2015. – Vol. 107 (8). – P. 153.

173. Single nucleotide polymorphisms in the progesterone receptor gene and association with uterine leiomyoma tumor characteristics and disease risk / S. P. Renner, R. Strick, P. A. Fasching [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2008. – Vol. 199 (6). – P. 648.e1-9. DOI: 10.1016/j.ajog.2008.06.01.

174. Sozen, I. Expression and hormonal regulation of monocyte chemotactic protein-1 in myometrium and leiomyomata / I. Sozen, D. L. Olive, A. Arici // *Fertil. Steril.* – 1998. – Vol. 69 (6). – P. 1095–1102.

175. Sprague, A. H. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease / A. H. Sprague, R. A. Khalil // *Biochem. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 78 (6). – P. 539–552.

176. Stability and reproducibility of simultaneously detected plasma and serum cytokine levels in asymptomatic subjects / F. S. Hosnijeh, E. J. Krop, L. Portengen [et al.] // *Biomarkers*. – 2010. – Vol. 15 (2). – P. 140–148.

177. Strategies for use of IL-10 or its antagonists in human disease / A. O'Garra, F. J. Barrat, A. G. Castro [et al.] // *Immunol Rev.* – 2008. – Vol. 223. – P. 114–131.

178. Subtype-specific tumor-associated fibroblasts contribute to the pathogenesis of uterine leiomyoma / X. Wu, V. A. Serna, J. Thomas [et al.] // *Cancer Res.* – 2017. – Vol. 77 (24). – P. 6891–6901.

179. Susceptibility risk alleles of -238G/A, -308G/A and -1031T/C promoter polymorphisms of TNF- α gene to uterine leiomyomas / V. Medikare, A. Altaf, V. Ananthapur [et al.] // *Recent Advances in DNA & Gene Sequences.* – 2015. – Vol. 9 (1). – P. 65–71.

180. Systematic molecular and clinical analysis of uterine leiomyomas from fertile-aged women undergoing myomectomy / A. Äyräväinen, A. Pasanen, T. Ahvenainen [et al.] // *Hum Reprod.* – 2020. – Vol. 35 (10). – P. 2237–2244.

181. T allele for VEGF-460 gene polymorphism at 5'-untranslated region is associated with higher susceptibility of leiomyoma / Y. Y. Hsieh, C. C. Chang, F. J. Tsai [et al.] // *Biochem. Genet.* – 2008. – Vol. 46 (5–6). – P. 356–361.

182. Targeted sequencing of FH-deficient uterine leiomyomas reveals biallelic inactivating somatic fumarase variants and allows characterization of missense variants / B. Popp, R. Erber, C. Kraus [et al.] // *Mod Pathol.* – 2020. – Vol. 33 (11). – P. 2341–2353.

183. Targeting cytokine and chemokine signaling pathways for cancer therapy / M. Yi, T. Li, M. Niu [et al.] // *Signal Transduct Target Ther.* – 2024. – Vol. 9 (1). – P. 176.

184. TGF- β regulates collagen type I expression in myoblasts and myotubes via transient Ctgf and Fgf-2 expression / M. M. G. Hillege, R. A. G. Caro, C. Offringa [et al.] // *Cells.* – 2020. – Vol. 9 (2). – P. 375.

185. TGF- β signaling regulates Wnt/ β -catenin pathway in uterine leiomyoma cells / M. El Sabeh, S. Afrin, M. Miyashita-Ishiwata, M. A. Borahay // *Fertil. Steril.* – 2021. – Vol. 116. – P. e414.

186. Th1/Th2 cytokine gene polymorphisms in patients with uterine fibroid / O. Sosna, L. Kolesár, A. Slavčev [et al.] // *Folia Biol (Praha).* – 2010. – Vol. 56 (5). –

P. 206–210.

187. The –2549 insertion/deletion polymorphism of VEGF gene associated with uterine leiomyoma susceptibility in women from Southeastern Iran / F. Keshavarzi, S. Salimi, A. Mohammadpour-Gharehbagh [et al.] // *Ginekol. Pol.* – 2017. – Vol. 88. – P. 115–119.

188. The association between rs1800872 polymorphism in interleukin-10 and risk of cervical cancer: a meta-analysis / K. Wang, Z. Jiao, H. Chen [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2022. – Vol. 100 (3). – P. e23892.

189. The health disparities of uterine fibroid tumors for African American women: A public health issue / H. M. Eltoukhi, M. N. Modi, M. Weston [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2014. – Vol. 210 (3). – P. 194–199.

190. The IL-17A G-197A and IL-17F 7488T/C polymorphisms are associated with increased risk of cancer in Asians: A meta-analysis / H. Wang, Y. Zhang, Z. Liu [et al.] // *Drug Des Devel Ther.* – 2015. – Vol. 9. – P. 5159–5168.

191. The influence of race/ethnicity on the transcriptomic landscape of uterine fibroids / T. D. Chuang, N. Ton, S. Rysling [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24 (17). – P. 13441. DOI: 10.3390/ijms241713441.

192. The interleukin (IL)-1 cytokine family-Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases / J. Palomo, D. Dietrich, P. Martin [et al.] // *Cytokine*. – 2015. – Vol. 76 (1). – P. 25–37.

193. The mechanism and function of epigenetics in uterine leiomyoma development / Q. Yang, A. Mas, M. P. Diamond, A. Al-Hendy // *Reprod Sci.* – 2016. – Vol. 23. – P. 163–175.

194. The role of matrix metalloproteinase single-nucleotide polymorphisms in the clinicopathological properties of breast cancer / A. Bartnykaitė, A. Savukaitytė, J. Bekampytė [et al.] // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10 (8). – P. 1891.

195. The role of MSP I CYP1A1 gene polymorphism in the development of uterine fibroids / M. A. Barão, E. Oliveira, M. T. Gomes [et al.] // *Fertil Steril.* – 2010. – Vol. 94 (7). – P. 2783–2785.

196. The role of tumor necrosis factor α in the biology of uterine fibroids and

the related symptoms / M. Ciebiera, M. Włodarczyk, M. Zgliczyńska [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19 (12). – P. 3869.

197. The structure of the cytokine gene network in uterine fibroids / V. Prokofiev, V. Konenkov, E. Koroleva [et al.] // *Genomics and Bioinformatics : Cognitive Sciences 2020, (CSGB), 06–10 July 2020.* – Novosibirsk, 2020. – 38 c.

198. Transforming growth factor beta orchestrates PD-L1 enrichment in tumor-derived exosomes and mediates CD8 T-cell dysfunction regulating early phosphorylation of TCR signalome in breast cancer / S. Chatterjee, A. Chatterjee, S. Jana [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2021. – Vol. 42 (1). – P. 38–47.

199. Transforming growth factor β 1 induces the expression of collagen type I by DNA methylation in cardiac fibroblasts / X. Pan, Z. Chen, R. Huang [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8 (4). – P. e60335.

200. Tumor necrosis factor- α -308 promoter and p53 codon 72 gene polymorphisms in women with leiomyomas / Y. Y. Hsieh, C. C. Chang, F. J. Tsai [et al.] // *Fertil Steril.* – 2004. – Vol. 82 (3). – P. 1177–1181.

201. Tumor necrosis factor- α expression in human uterine leiomyoma and its down-regulation by progesterone / O. Kurachi, H. Matsuo, T. Samoto, T. Maruo // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – Vol. 86 (5). – P. 2275–2280.

202. Tumor-associated neutrophils activated by tumor-derived CCL20 (C-C motif chemokine ligand 20) promote T cell immunosuppression via programmed death-ligand 1 (PD-L1) in breast cancer / L. B. Kwantwi, S. Wang, W. Zhang [et al.] // *Bioengineered.* – 2021. – Vol. 12 (1). – P. 6996–7006.

203. Type-I but not type-II interferon receptor knockout mice are susceptible to biliary atresia / J. F. Kuebler, G. Czech-Schmidt, J. Leonhardt [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2006. – Vol. 59 (6). – P. 790–794.

204. Upadhyay, S. Gene variants polymorphisms and uterine leiomyoma: An updated review / S. Upadhyay, P. K. Dubey // *Front. Genet.* – 2024. – Vol. 15. – P. 1330807.

205. Uterine fibroid incidence and growth in an ultrasound-based, prospective study of young African Americans / D. D. Baird, S. A. Patchel, T. M. Saldana [et al.] //

Am J Obstet Gynecol. – 2020. – Vol. 223 (3). – P. 401-418.

206. Uterine fibroids / E. A. Stewart, S. K. Laughlin-Tommaso, W. H. Catherino [et al.] // Nat Rev Dis Primers. – 2016. – Vol. 2. – P. 16043.

207. Uterine fibroids: pathogenesis and interactions with endometrium and endomyometrial junction / A. Ciavattini, J. Di Giuseppe, P. Stortoni [et al.] // Obstet Gynecol Int. – 2013. – Vol. 2013. – P. 173184. DOI: 10.1155/2013/173184.

208. Uterine leiomyoma is associated with a polymorphism in the interleukin 1- β gene / D. Pietrowski, R. Thewes, M. Sator [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. – 2009. – Vol. 62. – P. 112–117.

209. Uterine leiomyomas with Eosinophils: A clinicopathologic study of 3 cases / R. Vang, L. J. Medeiros, M. Samoszuk, M. T. Deavers // Int. J. Gynecol. Pathol. – 2001. – Vol. 20 (3). – P. 239–243.

210. Vempati, P. Extracellular regulation of VEGF: isoforms, proteolysis, and vascular patterning / P. Vempati, A. S. Popel, F. Mac Gabhann // Cytokine Growth Factor Rev. – 2014. – Vol. 25 (1). – P. 1–19.

211. Verdier-Sévrain, S. Biology of estrogens in skin: implications for skin aging / S. Verdier-Sévrain, F. Bonté, B. Gilchrist // Exp Dermatol. – 2006. – Vol. 15 (2). – P. 83–94.

212. Werner L.R. Progesterone promotes immunomodulation and tumor development in the murine mammary gland / L. R. Werner, K. A. Gibson, M. L. Goodman [et al.] // J Immunother Cancer. – 2021. – Vol. 9 (5). – P. e001710.

213. Wise, L. A. Epidemiology of uterine fibroids: From menarche to menopause / L. A. Wise, S. K. Laughlin-Tommaso // Clin Obstet Gynecol. – 2016. – Vol. 59 (1). – P. 2–24.

214. Wnt/ β -catenin signalling pathway in uterine leiomyoma: role in tumor biology and targeting opportunities / M. E. Sabeh, S. K. Saha, S. Afrin [et al.] // Mol. Cell Biochem. – 2021. – Vol. 476. – P. 3513–3536.

215. Wolanska, M. Fibroblast growth factor gene expression in uterine leiomyomas / M. Wolanska, E. Bańkowska-Guszczyn, S. Jaworski // Ginekol Pol. – 2008. – Vol. 79 (8). – P. 555–559.

216. Xu, D. The roles of IL-1 family cytokines in the pathogenesis of systemic sclerosis / D. Xu, R. Mu, X. Wei // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 2025.
217. Zhang, J. Targeting interleukin-1 β and inflammation in lung cancer / J. Zhang, N. Veeramachaneni // *Biomark Res.* – 2022. – Vol. 10 (1). – P. 5.
218. Zhou, X. Tumor necrosis factor α in the onset and progression of leukemia / X. Zhou, Z. Li, J. Zhou // *Exp Hematol.* – 2017. – Vol. 45. – P. 17–26.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Лапароскопическая картина хирургического лечения миомы матки (из личного архива автора). С. 39
2. Рисунок 2 – Индексы изменений концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с миомой матки относительно женщин контрольной группы. Красная линия (уровень 1 по оси абсцисс) – медианы концентраций цитокинов у женщин контрольной группы. . С. 77
3. Рисунок 3 – Корреляционный граф положительных (красные линии) и отрицательных (желтые линии) связей концентраций цитокинов в сыворотке крови женщин контрольной группы (А) и пациенток с миомой матки (Б). С. 79
4. Таблица 1 – Концентрации цитокинов с провоспалительной активностью в сыворотке крови женщин с миомой матки. С. 44
5. Таблица 2 – Корреляционные зависимости между показателями концентраций провоспалительных цитокинов в сыворотке крови пациенток с миомой матки. С. 46
6. Таблица 3 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови от возраста пациенток с ММ. С. 48
7. Таблица 4 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с нормальным и повышенным показателем ИМТ. С. 49
8. Таблица 5 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток со сроком от момента постановки диагноза более и менее 5 лет. С. 50
9. Таблица 6 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием или отсутствием признаков гиперплазии эндометрия. С. 52
10. Таблица 7 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием или

	отсутствием выкидышей в анамнезе.	C. 53
11.	Таблица 8 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием или отсутствием беременностей в анамнезе.	C. 54
12.	Таблица 9 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием или отсутствием родов в анамнезе.	C. 55
13.	Таблица 10 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием или отсутствием медицинских аборт в анамнезе.	C. 56
14.	Таблица 11 – Результаты анализа зависимости концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с наличием одного и более одного миоматозного узла.	C. 57
15.	Таблица 12 – Результаты корреляционного анализа концентраций сывороточных цитокинов у пациенток с наличием более одного узла в миометрии.	C. 59
16.	Таблица 13 – Концентрации цитокинов с противовоспалительной активностью и природного антагониста рецептора IL-1 β в сыворотке крови женщин с миомой матки.	C. 61
17.	Таблица 14 – Результаты корреляционного анализа концентраций цитокинов с противовоспалительной активностью в сыворотке крови женщин с ММ.	C. 62
18.	Таблица 15 – Концентрации факторов роста гемопоэза и ангиогенеза в сыворотке крови женщин с миомой матки.	C. 65
19.	Таблица 16 – Результаты корреляционного анализа концентраций факторов роста гемопоэза и ангиогенеза в сыворотке крови женщин с миомой матки.	C. 67
20.	Таблица 17 – Концентрации CCL-хемокинов в сыворотке крови женщин с миомой матки.	C. 69
21.	Таблица 18 – Результаты корреляционного анализа концентраций	

	ССL-хемокинов в сыворотке крови женщин с миомой матки.	С. 71
22.	Таблица 19 – Концентрации цитокинов (пг/мл) с провоспалительной и противовоспалительной активностью в сыворотке крови пациенток с миомой матки и женщин контрольной группы.	С. 72
23.	Таблица 20 – Концентрации цитокинов (пг/мл) с провоспалительной и противовоспалительной активностью в сыворотке крови пациенток с миомой матки в зависимости от изменений эндометрия по результатам гистероскопии.	С. 73
24.	Таблица 21 – Результаты непараметрического корреляционного анализа концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток с миомой матки и контрольной группы.	С. 76
25.	Таблица 22 – Комбинации полиморфизмов генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, позитивно и негативно ассоциированные с развитием миомы матки среди российских женщин европеоидного происхождения.	С. 86
26.	Таблица 23 – Частота распространения (в %) полиморфизмов гена <i>IL17A</i> в составе комбинаций с вариантами генов провоспалительных цитокинов <i>TNF</i> , <i>IL1B</i> , <i>IL6</i> и <i>IL8</i> у пациенток с миомой матки и в контрольной группе.	С. 90
27.	Таблица 24 – Высокоспецифичные альтернативные комплексы иммуногенетических маркеров предрасположенности и резистентности к развитию миомы матки.	С. 92