

На правах рукописи

АБАКУМОВА ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА

**ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ ВО
ВЗАИМОСВЯЗИ С ЦИТОКИНАМИ ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ ОПУХОЛЕЙ
ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ**

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора биологических наук

Екатеринбург - 2022

Работа выполнена на кафедре физиологии и патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ульяновский государственный университет».

Научный консультант:

Доктор биологических наук,
профессор

**Генинг
Татьяна Петровна**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой общей патологии
ФГБОУ ВО «Казанский государственный
медицинский университет» Минздрава России

**Бойчук
Сергей Васильевич**

Доктор биологических наук, профессор,
ведущий научный сотрудник лаборатории
экологической иммунологии Института
экологии и генетики микроорганизмов УрО
РАН (филиал ФГБУН «Пермский федеральный
исследовательский центр УрО РАН)

**Заморина
Светлана Анатольевна**

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой нормальной физиологии
ФГБОУ ВО «Башкирский государственный
медицинский университет» Минздрава России

**Каюмова
Алия Фаритовна**

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Саратов).

Защита состоится «22» июня 2022 года в 10-00 часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 004.027.02 на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН (620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106).

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН и на сайте ИИФ УрО РАН – <http://iip.uran.ru>, с авторефератом – на сайте ВАК РФ <http://vak2.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 года

Ученый секретарь Совета Д 004.027.02
на базе ИИФ УрО РАН, д.м.н., проф., ЗДН РФ

И.А. Тузанкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Рак органов женской репродуктивной системы, а именно рак шейки матки (РШМ), рак тела матки (РТМ) и рак яичников (РЯ) - являются определяющими локализациями по заболеваемости и смертности от рака во всем мире (Ledford L.R.C., Lockwood S., 2019, Шмакова Н.А., с соавт., 2021). Реакция организма, в котором формируется и развивается опухоль, предполагает системный ответ, связанный с перестройкой популяции циркулирующих лейкоцитов (Prabawa I.P.Y., et al., 2019). Показана прогностическая ценность нейтрофильно-лимфоцитарного отношения (NLR) в оценке локализованных и метастатических злокачественных опухолях различных локализаций (Nakamura Y., et al., 2016; Vano Y.A., et al., 2018). Значимая роль в противоопухолевом ответе отводится клеточному иммунитету. Нейтрофилы (Нф) первыми мигрируют в очаг развития опухоли на ранних стадиях канцерогенеза и являются активными компонентами стромы (Carnevale S., et al., 2020). Установлена способность Нф к выраженному цитотоксическому действию на опухолевые клетки (Masucci M.T., et al., 2019). Нф участвуют в процессах так называемого “опухолеассоциированного воспаления” - одного из основополагающих процессов канцерогенеза (Hanahan D., Weinberg R.A., 2011). Продуцируемые опухолью цитокины рекрутируют Нф через NF-kB-зависимый сигнальный путь в Нф (Hoesel B., Schmid J.A., 2013; Monkkonen T., Debnath J., 2018; Nakamori, Y., et al., 2003). Было показано, что Нф человека экспрессируют и продуцируют многие цитокины, хемокины, факторы роста, которые вызывают гибель или пролиферацию раковых клеток, а также стимулируют ангиогенез и метастазирование (Зурочка А.В. с соавт., 2019; Teschio C., et al., 2013). В организме-опухоленосителе Нф демонстрируют фенотипическую и функциональную гетерогенность (Rawat K., et al., 2021). При этом нарушается способность к хемотаксису, процессы адгезии и миграции (Чудилова Г.А., с соавт., 2020), высвобождение ферментов и протеаз посредством дегрануляции, секреция активных форм кислорода (АФК), фагоцитоза и уничтожение патогенов внутри фагосомы, а также секреция эухроматической ДНК в форме внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps - NET) (Fine N., et al., 2020). Изучением фенотипа Нф в динамике опухолевой прогрессии занимается ряд научных коллективов как в России, так и за рубежом (Данилова А.Б., Балдуева И.А., 2016; Долгушин, И.И. с соавт., 2016, 2013; Нестерова И.В. с соавт., 2011, Grecian R., et al., 2018; Shaul M.E., Fridlender Z.G., 2018), поскольку выявление факторов и маркеров смены противоопухолевого фенотипа (N1) на проопухолевый (N2) позволит резко и значимо корректировать схемы иммунотерапии при различных типах неоплазмы.

Вопрос о происхождении Нф в микросреде опухоли и возможной поляризации гранулоцитов вне опухоли или после инфильтрации опухоли остается актуальным в настоящее время. При участии циркулирующих цитокинов Нф меняют статус с противона протективноопухолевый, при этом высвобождая цитокины, хемокины, ангиогенные факторы и факторы роста, способствуя прогрессированию злокачественных опухолей женской репродуктивной системы.

Цель настоящей работы - оценить количественно-функциональное состояние циркулирующих нейтрофилов во взаимосвязи с цитокинами при прогрессировании злокачественных опухолей женской репродуктивной системы.

Задачи исследования:

1. Используя метод регрессионного анализа, определить роль циркулирующих цитокинов в праймировании нейтрофилов и участие ядерного фактора-каппаВ в регуляции продукции нейтрофилокинов при доброкачественных опухолях и раке яичников, дисплазии и раке шейки матки, миоме и раке тела матки.

2. Оценить связь ригидности мембраны нейтрофилов и их адгезионную способность с уровнем циркулирующих цитокинов при доброкачественных опухолях и раке яичников, дисплазии и раке шейки матки, миоме и раке тела матки.

3. Выявить взаимосвязь киллинговой активности нейтрофилов и циркулирующих цитокинов при доброкачественных опухолях и раке яичников, дисплазии и раке шейки матки, миоме и раке тела матки.

4. Методом регрессионного анализа оценить возможность взаимосвязи кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и уровня циркулирующих цитокинов при доброкачественных опухолях и раке яичников, дисплазии и раке шейки матки, миоме и раке тела матки.

5. Оценить роль цитокинов крови в реализации способности циркулирующих нейтрофилов к апоптозу и формированию внеклеточных ловушек (NETs) при доброкачественных опухолях и раке яичников, дисплазии и раке шейки матки, миоме и раке тела матки в модели линейной регрессии.

6. Методом корреляционного анализа выявить ассоциацию нейтрофилокинов с ангиогенной и киллинговой функцией нейтрофилов при доброкачественных опухолях и раке яичников, дисплазии и раке шейки матки, миоме и раке тела матки.

7. Определить критерии изменения функционально-метаболического состояния нейтрофилов и цитокинов периферической крови, позволяющие проводить раннюю диагностику злокачественных новообразований женской репродуктивной системы.

Научная новизна. Получены новые данные о взаимосвязи концентраций уровня циркулирующих цитокинов, хемокинов, протеиназ с морфо-функциональными характеристиками нейтрофилов при доброкачественных опухолях яичников, на ранних (I-II) и распространенных (III и IV) стадиях рака яичников, при дисплазии и при начальном (Ia), местноограниченном (Ib-IIa), распространенном (IIb-IV) стадиях рака шейки матки, при миоме матки и при местном (I) и распространенном (II-III) раке тела матки.

Впервые был проанализирован рецепторный статус, ригидность мембраны и топология нейтрофилов при предраковом состоянии и прогрессировании злокачественных опухолей органов женской репродуктивной системы.

Получены новые данные, позволяющие дополнить и расширить представления о способности нейтрофилов периферической крови формировать внеклеточные ловушки (NET), их киллинговой активности, ассоциации NETs с активностью ядерного фактора (NF- κ B) и нейтрофилокинами при прогрессировании опухолей женской репродуктивной системы.

Впервые дан комплексный анализ уровня внутриклеточно синтезируемых нейтрофилами цитокинов, хемокинов, протеиназ и выявлены корреляционные связи концентрации медиаторов с васкулоэндотелиальным фактором роста (VEGF) при доброкачественных опухолях яичников и на всех стадиях рака яичников, при дисплазии и на разных стадиях рака шейки матки, при миоме и при раке тела матки.

Разработана гипотеза взаимосвязи синтезируемых нейтрофилами цитокинов, хемокинов, протеиназ, ангиогенных факторов и активности NF- κ B в гранулоцитах. Впервые с использованием метода бинарной логистической регрессии определена возможность дифференцирования рака яичников и доброкачественных опухолей яичников, рака шейки матки и дисплазии шейки матки, рака тела матки и миомы на основании показателей концентрации циркулирующих в крови цитокинов (IL-1 β , G-CSF, IL-17A, IFN γ , IL-2, IL-1RA, IL-6, MCP-1) и активности миелопероксидазы, активных форм кислорода, IFN γ , IL-8, NE, MCP-1 и индекса ловушек нейтрофилов.

Теоретическая и практическая значимость работы. В работе представлена гипотеза об участии циркулирующих цитокинов в формировании проопухолевого

фенотипа нейтрофилов при раке яичников, шейки и тела матки, а также при доброкачественных опухолях яичников, цервикальной интраэпителиальной неоплазии и миоме матки. Полученные данные позволяют сформулировать морфофункциональный портрет нейтрофилов крови при предраковых и доброкачественных опухолях женской репродуктивной системы. Полученные результаты могут быть использованы при исследованиях механизмов канцерогенеза в фундаментальной онкологии, в образовательном процессе на курсах патофизиологии, клинической и фундаментальной онкологии, при разработке схем диагностики и лечения прогрессирующего рака яичников, шейки и тела матки.

Положения, выносимые на защиту:

1. Характеристика циркулирующих нейтрофилов и участие циркулирующих в периферической крови цитокинов в формировании проопухолевого фенотипа нейтрофилов определяется местом локализации первичной опухоли и стадией патологического процесса.

2. Киллинговая активность и изменение ангиогенных функций нейтрофилов ассоциируется с комплексом нейтрофилокинов, в зависимости от локализации первичной опухоли и стадии процесса.

3. Маркерами дифференциальной диагностики рака яичников и доброкачественных опухолей яичников могут служить уровень IL-1 β , G-CSF и IL-17A в сыворотке крови, активность миелопероксидазы, продукция перекисных радикалов, уровень IFN γ в нейтрофилах; рака шейки матки и дисплазии - концентрация G-CSF, IFN γ , IL-2 в сыворотке крови, уровень IL-8 и NE в нейтрофилах и индекс ловушек; рака тела матки и миомы - IL-1RA, IL-6 в сыворотке крови, а также циркулирующий и внутриклеточный MCP-1, индекс ловушек нейтрофилов.

Внедрение результатов исследования в практику. Способы дифференциальной диагностики рака шейки матки (Патент РФ №2488823 от 27.07.2013), уточнения стадии распространенного рака шейки матки (Патент РФ №2582979, 06.04.2016) внедрены в научно-исследовательскую деятельность иммунологического отдела Научно-исследовательского медико-биологического центра ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» для использования в качестве референсных значений уровня цитокинов в сыворотке крови и лизате нейтрофилов пациентов с доброкачественными и злокачественными опухолями женской репродуктивной системы. Также результаты исследования используются в учебном процессе кафедр: 1) онкологии и лучевой диагностики, 2) последипломного образования и семейной медицины, 3) физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» при изучении раздела о неспецифическом иммунитете.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были представлены на конференциях различного уровня: VII Всероссийской конференции с международным участием «Иммунологические чтения в г. Челябинске» (Челябинск, 2012), VII научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Завадские чтения» (Ростов-на-Дону, 2012), Meeting Biophotonics and Immune Responses VII SPIE (San Francisco, California, 2012), Глобальном онкологическом форуме EAFO (Москва, 2012), Объединенном иммунологическом форуме (Нижний Новгород, 2013), Международной конференции «Рецепторы и внутриклеточная сигнализация» (Пушино, 2013), Международной Пушинской школе-конференции молодых ученых «Биология-наука XXI века» (Пушино, 2013), VIII Всероссийском съезде онкологов «Петровские чтения-2013» (Санкт-Петербург, 2013), XXII Съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Москва-Волгоград, 2013), Международном форуме «Клиническая иммунология и аллергология-междисциплинарные проблемы» (Казань, 2014), IX, X Международной

(XVIII, XIX Всероссийской) Пироговской научно-медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2014, 2015), Всероссийской конференции с международным участием «Медико-физиологические проблемы экологии человека» (Ульяновск, 2016), Объединенном иммунологическом форуме (Новосибирск, 2019), Virtual Congress on Molecular Analysis for Precision Oncology (Lugano–Switzerland, 2020, 2021), Immunology Congress of the European-Society-for-Medical-Oncology (Geneva, Switzerland, 2019, 2020), ESCI Virtual Meeting 2020 – COVID Edition (Netherlands, 2020), American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting (USA, 2021), 55TH ANNUAL SCIENTIFIC MEETING-ESCI virtual meeting 2021 (Netherlands, 2021), ESMO Congress 2021 (Paris, France, 2021).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 54 работы, из них 25 – в изданиях, рецензируемых ВАК, 17 – в цитируемых международных реферативных базах данных Scopus и Web of Science, 3 монографии, получено 2 патента.

Объем и структура диссертации. Научная работа состоит из введения, глав: «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», 4-х глав собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы. Диссертация изложена на 231 странице, иллюстрирована 45 рисунками и 38 таблицами. В «Списке используемой литературы» содержится 375 источников, из которых 339 – иностранные.

Личное участие автора. Диссертация выполнена в соответствии с планом научной работы ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». Планирование научной работы, постановка цели и задач проводились совместно с научным консультантом, д.б.н., профессором Т.П. Генинг. Автором разработан план и этапы проведения исследования, самостоятельно проанализированы полученные результаты. Итоги работы были представлены в научных публикациях и в виде докладов на конференциях различного уровня. Атомно-силовая микроскопия выполнена совместно с инженером-исследователем лаборатории зондовой и электронной микроскопии научно-исследовательского технологического института им. С.П. Капицы ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (зав. лабораторией – к.ф.-м.н. Е.С. Махмутова). Подбор тематических больных производился при участии д.м.н., доцента, профессора кафедры онкологии и лучевой диагностики медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова УлГУ Антонеевой И.И.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явились нейтрофилы (Нф) периферической крови и сыворотка пациентов с доброкачественными опухолями (ДОЯ) (n=30) (медиана возраста (Me) и интерквартильный размах (Q1-Q3) - 54 (49 - 59) лет), раком яичников (РЯ) (Me (Q1-Q3) - 60 (53-65) лет) на ранних (I-II) стадиях (n=30), с III (n=52) и IV стадий (n=40), с CIN (n=32) (Me (Q1-Q3) - 47 (27 - 67) лет), раком шейки матки (РШМ) (Me (Q1-Q3) - 46 (29 - 60) лет): Ia стадия (начальный рак) (n=51); Ib – IIa стадии (местноограниченный рак) (n=37) и IIb – IV стадии (распространенный рак) (n=31), с миомой матки (n=20) (Me (Q1-Q3) - 49 (41 - 59) лет) и раком тела матки (РТМ) (Me (Q1-Q3) - 60 (57 - 64) лет) на стадии I (начальный РТМ) (n=84), и II-III (распространенный РТМ) (n=32) по международной классификации гинекологов и акушеров (FIGO) (рисунки 1). Контрольную группу составили 22 соматически здоровые женщины (Me (Q1-Q3) 52 (29

- 65) года). Критерии включения – отсутствие сопутствующих острых заболеваний любой этиологии, а также хронических инфекционных заболеваний, гормонпродуцирующих опухолей яичников, аутоиммунных заболеваний, диагностированного иммунодефицита. Исследование проведено в соответствии с требованиями комиссии по этике Института медицины, экологии и физической культуры ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (протокол № 1 от 15.01.2011).

В сыворотке и лизате Нф пациентов после постановки диагноза до начала лечения определяли иммуноферментным методом уровень IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IFN γ , TNF α , G-CSF, MCP-1, VEGF-A (ЗАО «Вектор-Бест-Волга», Н.Новгород), IL-1RA (ООО «Цитокин», С.Пб.), Human MMP-1 (Abfrontier, Quantikine ELISA Kits), Human MMP-2 и MMP-9 (RandD Systems, США), Human MMP-13 (RayBiotech), Human TIMP-1, PMN-Elastase (eBioscience (Bender MedSystems, Австрия) (ЗАО «БиохимМак»), уровень NF-kB (NF-kBp65 (общий) (eBioscience, USA) в соответствии с инструкцией изготовителя.

В Нф оценивали способность генерировать АФК в спонтанном и индуцированном НСТ-тесте по методу Нестеровой И.В. с соавт. (2008). Активность миелопероксидазы (МПО) Нф определялась в мазках по методу Грехема-Кнолля с бензидином. Результаты оценки выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК). Изучение фагоцитарной активности Нф основана на количественном определении поглотительной и переваривающей способности Нф по отношению к *Sacharomyces cervisiae*. Рассчитывались фагоцитарный индекс (ФИ) – процент Нф, участвующих в фагоцитозе от общего их количества (%), фагоцитарное число (ФЧ) – среднее число дрожжевых клеток, поглощенных одним Нф (у.е.). Для оценки переваривающей функции Нф использовали индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ): ИЗФ больше 1,0, что указывает на завершенность фагоцитоза, ИЗФ меньше 1,0 свидетельствует о снижении киллерной функции Нф.

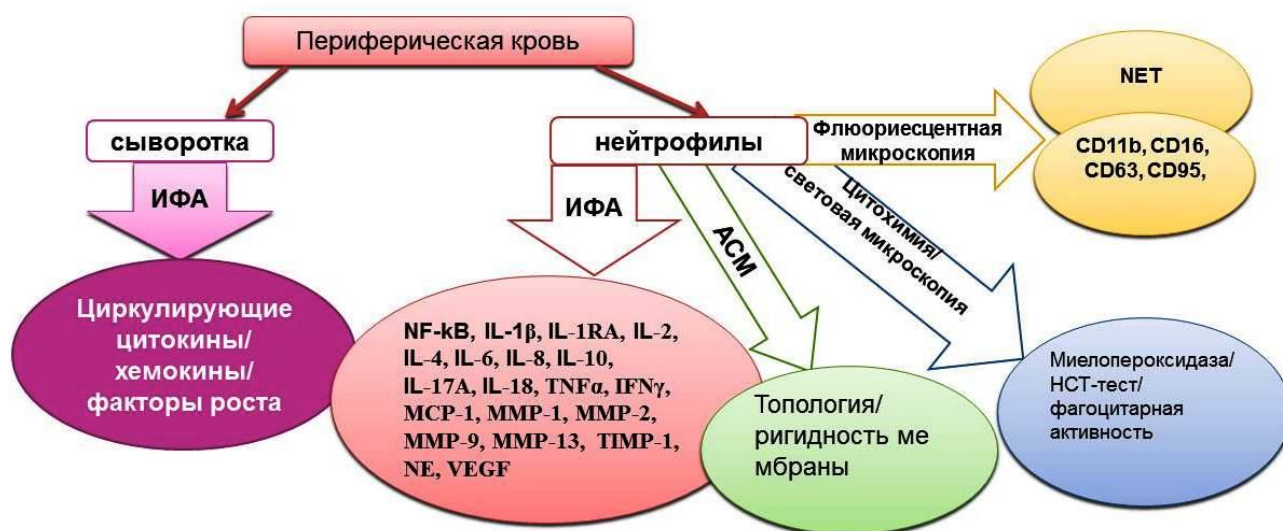


Рисунок 1 - Программа научного исследования

Примечание: ИФА - иммуноферментный анализ, АСМ - атомно-силовая микроскопия, NET - внеклеточные нейтрофильные ловушки, НСТ-тест (тест с нитросиним тетразолием), NE - нейтрофильная эластаза, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, NF-kB - ядерный фактор-каппаВ, MMP - матриксная металлопротеиназа, TIMP - тканевый ингибитор матриксной металлопротеиназы, MCP - моноцитарный хемотаксический протеин.

С использованием моноклональных антител и флуоресцентной микроскопии оценивали количество CD11b⁺, CD16⁺, CD63⁺, CD95⁺Нф по стандартной методике. Также по методу Долгушина И.И., Андреевой Ю.С. (2009) исследовали формирование внеклеточных ловушек (NET). Рассчитывали число нейтрофильных ловушек (ЧЛ) - количество нейтрофильных ловушек, содержащих бактериальные клетки, из 100 подсчитанных сетеподобных структур (%); и ИЛ - число бактерий в 100 подсчитанных ловушках в пересчете на 1 структуру (усл.ед.). Для оценки топологии и ригидности мембраны Нф использовали метод атомно-силовой микроскопии (АСМ) как в контактном, так и в полуконтактном режимах. Ригидность мембран оценивалась по модулю Юнга (МПа).

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы STATISTICA 13, Jamovi 1.6.5.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1 - СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО И МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ И НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАКА ЯИЧНИКОВ

Выявлены изменения общего количества лейкоцитов (Le), NLR и количества CD11b⁺, CD16⁺, CD63⁺, CD95⁺Нф у больных с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ) и на различных стадиях рака яичников (РЯ) (таблица 1).

Таблица 1 – Общее количество лейкоцитов, NLR, рецепторный статус нейтрофилов при доброкачественных опухолях яичников и на различных стадиях рака яичников (M±m)

Группа Показатель	Контроль, n=22	ДОЯ, n=30	Стадии рака яичников		
			I-II, n=30	III, n=52	IV, n=40
Le, абс.	6,54±0,21	8,80±1,79*	7,50±0,61	7,50±0,61	9,70±1,01*
NLR	2,22±0,07	4,34±1,05*	2,38±0,20 [•]	4,47±0,87* [°]	4,59±0,53*
CD11b ⁺ , %	60,40±7,76	95,60±3,92 *	98,80±0,53*	92,00±3,49*	93,00±1,00*
CD16 ⁺ , %	98,90±0,74	99,60±0,40	99,00±0,44	94,80±1,76*	94,00±6,00 [•]
CD63 ⁺ , %	34,90±7,38	52,00±12,66	40,44±1,26	60,22±11,26* [°]	52,80±4,88
CD95 ⁺ , %	38,54±6,18	31,60±10,42	20,00±0,52*	68,80±12,36* ^{•°}	60,36±3,62 [•]

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; [•] - от группы с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ); [°] - от предыдущей стадии (p≤0,05), Le - лейкоциты, NLR - нейтрофильно-лимфоцитарное отношение.

На III стадии РЯ практически вся цитоплазма была сконцентрирована вокруг ядра, отмечалась невозможность дифференцирования гранул, однако, на IV стадии РЯ границы Нф они были выражены и увеличена зернистость цитоплазмы. Было выявлено значимое увеличение ригидности мембраны Нф при прогрессировании РЯ ($61,2 \pm 2,5$ МПа при ДОЯ, $67,3 \pm 2,6$ МПа на I-II стадии, и $71,9 \pm 2,7$ МПа у пациентов с IV-ой клинической стадией РЯ против $56,7 \pm 2,4$ МПа в контроле ($p_{\text{доя}}=0,0001$, $p_{\text{I-II}}=0,0096$, $p_{\text{IV}}=0,0005$). При этом у пациентов с III стадией РЯ ригидность мембраны выше, чем в контроле и при ДОЯ ($87,8 \pm 2,8$ МПа, $p_1=0,0001$ и $p_2=0,0001$). Методом АСМ получено изображение топологии Нф пациентов при РЯ (рисунок 2).

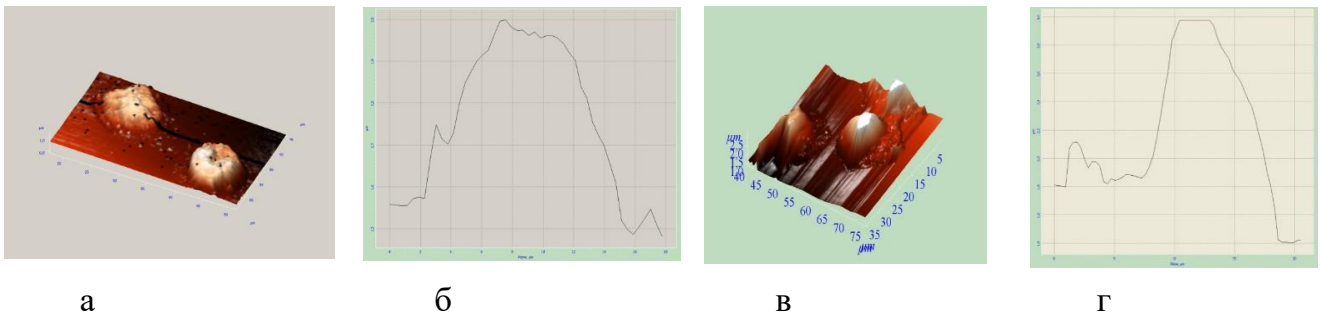


Рисунок 2 - Нейтрофилы пациентов с раком яичников III (а) и IV стадии (в) после сканирования и боковое сечение их профилей (б, г)

Изменение показателей фагоцитарной активности при ДОЯ и РЯ представлены в таблице 2, а показатели кислородзависимого метаболизма на рисунке 3.

Таблица 2 - Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов при доброкачественных опухолях яичников и прогрессировании рака яичников ($M \pm m$)

Группы Показатели	Контроль, n=22	ДОЯ, n=15	Стадии рака яичников		
			I-II, n=17	III, n=26	IV, n=20
ФИ, %	$41,20 \pm 6,44$	$40,86 \pm 11,88$	$22,29 \pm 1,59^*$	$57,33 \pm 8,81^{\wedge}$	$49,33 \pm 6,96$
ФЧ, у.е.	$1,97 \pm 0,17$	$1,98 \pm 0,33$	$2,33 \pm 0,09$	$2,42 \pm 0,29$	$2,04 \pm 0,43$
ИЗФ, у.е.	$1,04 \pm 0,14$	$1,01 \pm 0,18$	$0,81 \pm 0,02$	$1,15 \pm 0,33$	$0,96 \pm 0,17$

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; \wedge - группы с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ) ($p \leq 0,05$), ИЗФ - индекс завершенности фагоцитоза, ФИ - фагоцитарный индекс, ФЧ - фагоцитарное число.

Нами установлено, что на начальной стадии рака яичников (РЯ) увеличивалось число внеклеточных ловушек (ЧВЛ) Нф по сравнению с аналогичными показателями в контроле и при ДОЯ ($p_1=0,0001$ и $p_2=0,0001$, соответственно). При этом индекс ловушек (ИЛ) резко снижался ($0,32 \pm 0,04$ у.е. против $1,50 \pm 0,29$ у.е. ($p=0,0032$) и $1,50 \pm 0,29$ у.е. ($p=0,0007$) соответственно). На III стадии РЯ снижалось ЧЛ Нф по сравнению с аналогичными показателями на I-II стадии РЯ ($p=0,0001$), а ИЛ повышался ($0,94 \pm 0,20$ у.е. против $0,32 \pm 0,04$ у.е., $p=0,0169$), но не достигал аналогичного уровня при ДОЯ и в контрольной группе. На IV стадии РЯ увеличивалось ЧЛ по сравнению с аналогичными показателями на III стадии РЯ ($p=0,0512$), но сильно снижался ИЛ до $0,16 \pm 0,07$ ($p=0,0043$) (рисунок 4).

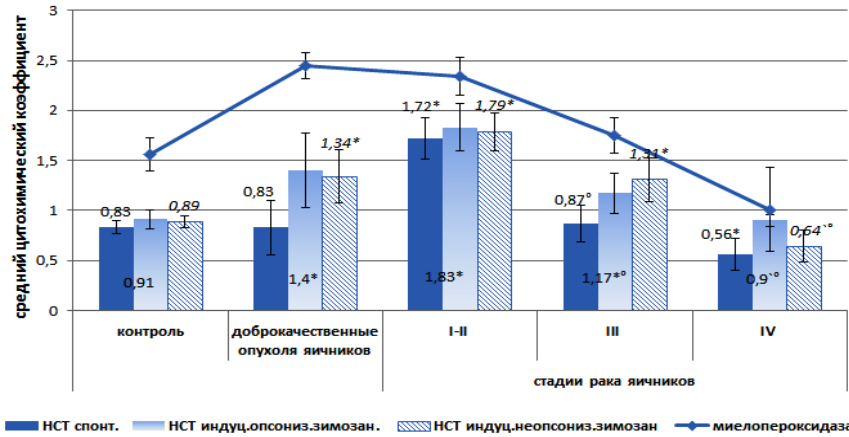


Рисунок 3 - Активность миелопероксидазы и показатели НСТ-теста нейтрофилов при доброкачественных опухолях яичников и прогрессировании рака яичников

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - группы с ДОЯ, ° - предыдущей стадии ($p \leq 0,05$).

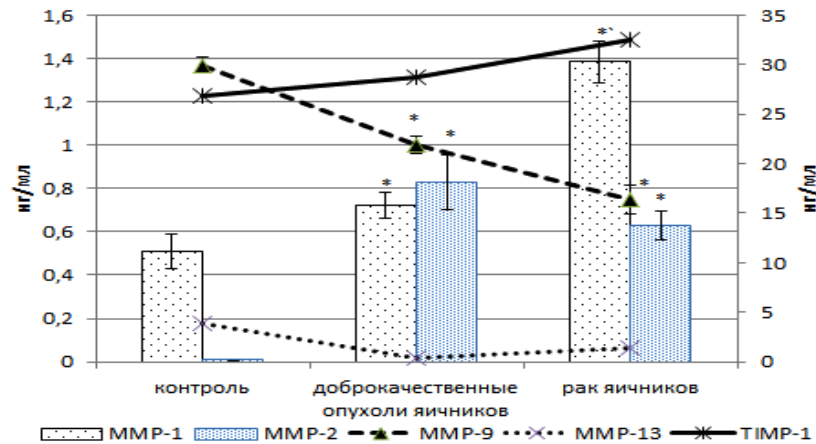


Рисунок 5 - Уровень MMPs и TIMP в нейтрофилах при доброкачественных опухолях яичников и раке яичников

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - группы с ДОЯ, ° - предыдущей стадии ($p \leq 0,05$).

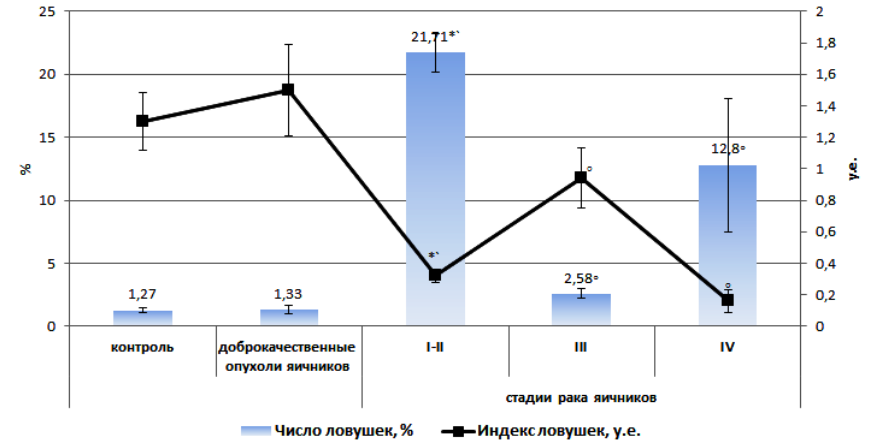


Рисунок 4 - Показатели образования внеклеточных ловушек при доброкачественных опухолях яичников и прогрессировании рака яичников

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - группы с ДОЯ, ° - предыдущей стадии ($p \leq 0,05$).

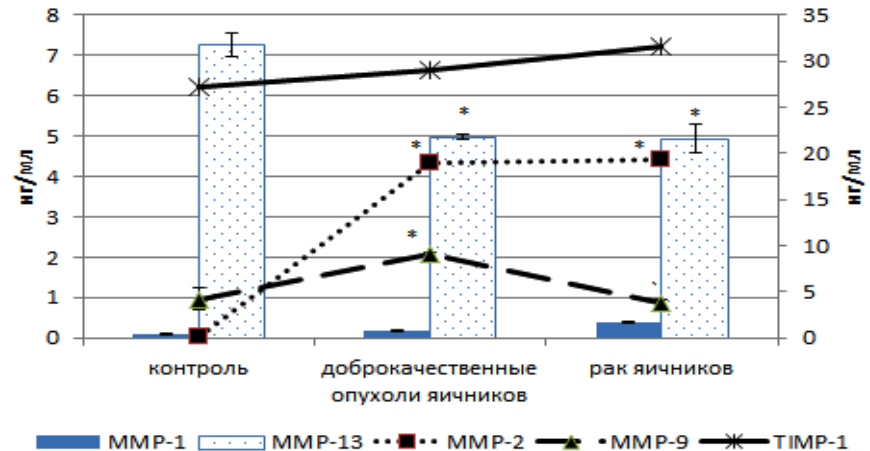


Рисунок 6 - Уровень MMPs и TIMP в сыворотке при доброкачественных опухолях яичников и раке яичников

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - группы с ДОЯ, ° - предыдущей стадии ($p \leq 0,05$).

Таблица 3 - Уровень (Me (Q1-Q3)) NF-kB, васкулоэндотелиального фактора роста, нейтрофильной эластазы, цитокинов/хемокинов в лизате циркулирующих нейтрофилов при доброкачественных опухолях яичников и прогрессировании рака яичников

Группа Показатель	Контроль, n=22	ДОЯ, n=15	Стадии рака яичников		
			I-II, n=17	III, n=26	IV, n=20
NF-kB, мг/мл	0,174 (0,125-0,201)	0,073 *(0,071-0,076)	0,582 ***(0,465-0,683)	0,247 **°(0,118-0,394)	0,249 **°(0,170-0,380)
VEGF, пг/мл	48,940 (40,989-52,851)	462,996 * (289,546-571,924)	283,712 * (211,971-489,324)	182,161 **° (96,998-267,275)	132,273 **° (108,180-148,937)
NE, нг/мл	0,361 (0,264-0,412)	0,594 *(0,547-0,984)	0,025 ***(0,017-0,031)	1,025 **°(0,613-3,017)	4,129 **° (2,831-7,165)
IL-1β, пг/мл	8,941 (3,764-15,659)	6,445 (4,522-12,578)	4,498 ***(2,273-6,361)	3,545 ***(1,949-4,410)	2,826 ***(1,634-4,410)
IL-1RA, пг/мл	1681,276 (892,491-2983,449)	68,445 * (43,987-87,704)	521,363 ** (154,876-1145,325)	1682,381 **° (773,713-2997,581)	1896,030 ** (631,475-3000,000)
IL-17A, пг/мл	45,296 (39,776-54,765)	25,785 (12,554-35,389)	15,586 * (10,728-23,571)	15,789 * (11,786-26,581)	13,689 **° (12,697-14,924)
IL-18, пг/мл	37,345 (18,492-55,863)	5,293 *(3,354-7,258)	6,636 *(4,916-8,674)	8,235 **°(5,892-22,082)	20,384 ***(10,720-29,957)
G-CSF, пг/мл	0,125 (0,057-0,141)	0,374 *(0,326-0,394)	0,373 *(0,223-0,471)	0,394 *(0,331-0,463)	0,276 **°(0,271-0,289)
IL-2, пг/мл	3,907 (3,423-4,359)	5,855 *(5,136-6,342)	8,032 ***(6,475-9,253)	11,486 **°(8,492-30,096)	48,454 ***(20,299-79,812)
IL-6, пг/мл	1,329 (0,992-1,993)	12,613 *(10,136-14,193)	14,632 *(12,301-15,973)	1,212 **°(0,976-2,688)	0,844 **°(0,581-1,093)
TNFα, пг/мл	2,370 (1,128-3,163)	2,182 (1,283-3,705)	1,305 ***(1,139-1,499)	0,957 (0,122-2,380)	2,516 (0,434-6,970)
IL-4, пг/мл	1,457 (0,591-2,069)	4,935 *(2,537-6,052)	2,024 *(1,115-5,932)	6,129 **°(3,956-7,807)	2,589 **°(1,333-4,773)
IL-10, пг/мл	63,961 (48,981-88,843)	8,576 *(4,995-13,568)	10,380 *(5,529-25,680)	3,919 (1,921-27,748)	9,983 ***(3,633-73,981)
IFNγ, пг/мл	2,517 (1,661-3,664)	6,625 *(4,525-8,702)	4,002 ***(2,587-4,554)	0,870 **°(0,619-1,186)	3,891 **°(2,771-4,980)
IL-8, пг/мл	158,826 (140,048-186,034)	40,274 * (36,543-51,067)	26,463 ** (19,148-27,935)	141,971 **° (46,105-196,134)	227,566 **° (159,905-319,372)
MCP-1, пг/мл	17,217 (14,029-19,561)	29,280 *(24,984-34,405)	22,518 ***(18,625-25,741)	25,081 *(19,249-34,576)	29,614 *(27,547-31,912)

Примечание: * - данные статистически значимо отличаются от группы контроля; ** - данные статистически значимо отличаются от группы с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ); ° - данные статистически значимо отличаются от предыдущей стадии (p≤0,05), NE - нейтрофильная эластаза, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, IL - интерлейкин, MCP - моноцитарный хемотаксический фактор.

Таблица 4 - Уровень (Ме (Q1-Q3)) про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови при доброкачественных опухолях и раке яичников

Группа Показатель	Контроль, n=22	ДОЯ, n=15	Стадии рака яичников		
			I-II, n=17	III, n=26	IV, n=20
IL-1 β , пг/мл	1,811 (1,582-2,182)	1,264 *(0,858-1,697)	2,290 *°(2,112-2,498)	2,724 *°°(2,244-3,610)	2,461 *°(2,318-2,606)
IL-1RA, пг/мл	200,209 (179,882-266,188)	886,354 * (235,765-1121,432)	622,684 * (366,921-819,970)	529,525 * (274,624-889,547)	457,532 *°° (258,164-669,366)
IL-2, пг/мл	2,531 (1,524-3,015)	2,683 (1,345-3,469)	20,963 *°(17,228-26,847)	2,014° (0,958-3,634)	20,937 *°°(1,905-35,985)
IL-6, пг/мл	16,883 (2,189-31,550)	13,527 (13,154-14,025)	14,615 (12,430-17,338)	12,167 (5,468-33,333)	17,860 °(11,896-26,524)
IL-17A, пг/мл	41,479 (39,484-47,297)	63,533 * (47,034-70,436)	42,598 ° (32,440-52,796)	40,879 (37,419-62,111)	55,989 * (42,961-71,380)
IL-18, пг/мл	299,901 (152,369-379,252)	255,765 (212,712-332,127)	246,762 (168,850-258,099)	388,606 °° (268,737-464,900)	306,574 (213,215-432,920)
TNF- α , пг/мл	1,431 (0,971-5,924)	2,507 (1,637-2,905)	1,760 (1,380-2,532)	1,467 *(1,085-2,057)	1,926 *(1,755-2,191)
G-CSF, пг/мл	52,215 (45,987-55,941)	0,903* (0,782-0,983)	0,591 *°(0,321-0,749)	11,75 *°°(6,994-17,963)	20,260 *°°(10,628-40,984)
IL-4, пг/мл	1,249 (0,434-1,998)	1,596 * (1,249-2,196)	2,444 *° (1,936-7,532)	2,651 *° (1,851-8,280)	3,389 *° (1,698-7,538)
IL-10, пг/мл	1,476 (1,275-1,841)	4,519 *(3,916-7,072)	4,159 *(2,924-5,923)	8,017 *°(2,382-15,477)	13,242 *°(7,588-16,224)
IFN γ , пг/мл	4,156 (2,087-5,747)	3,964 (3,548-4,362)	4,287 (3,115-5,028)	8,478 *°°(7,121-11,363)	16,847 *°°(3,569-27,293)
IL-8, пг/мл	11,042 (10,300-14,986)	67,694 * (36,662-98,398)	26,216 *(19,344-39,249)	24,156 *°(18,680-26,264)	82,848 *°(31,927-129,167)
MCP-1, пг/мл	270,098 (220,1479-310,852)	513,091 * (300,330-645,621)	350,220 * (263,954-570,149)	448,544 * (297,026-597,014)	479,106 (294,931-642,683)*
VEGF, пг/мл	136,344 (91,008-168,952)	276,450* (156,865-409,945)	193,874* (159,957-241,014)	834,693*°° (224,525-1264,822)	429,943*° (193,079-824,682)
NE, нг/мл	2,271 (1,812-2,439)	3,932 (2,844-7,273)*	4,753 (3,725-5,775)*	4,820 (3,149-10,828)*	8,350 (7,289-9,626)*°

Примечание: * - данные статистически значимо отличаются от группы контроля; ° - данные статистически значимо отличаются от группы с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ); °° - данные статистически значимо отличаются от предыдущей стадии ($p \leq 0,05$), NE - нейтрофильная эластаза, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, IL - интерлейкин, MCP - моноцитарный хемотаксический фактор.

Уровень про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов, NF-kB, нейтрофильной эластазы (NE), VEGF в лизате Нф при ДОЯ и РЯ представлен в *таблице 3*.

При доброкачественных опухолях яичников (ДОЯ) пул MMP-1 ($p=0,0421$), MMP-2 ($p=0,0032$) и TIMP-1 ($p=0,0834$) в Нф повышался, а MMP-13 ($p=0,0012$) и MMP-9 ($p=0,0219$) снижался по сравнению с контролем. При РЯ в лизате Нф повышался уровень MMP-1 ($p=0,0038$), -13 ($p=0,0417$) и TIMP-1 ($p=0,0492$), но уровень MMP-2 ($p=0,0338$), MMP-9 ($p=0,0027$) снижался, по сравнению с ДОЯ (*рисунок 5*).

Таким образом, уже при ДОЯ в лизате Нф регистрируются значимые изменения цитокинового спектра, которые могут свидетельствовать о формировании проопухолевого фенотипа Нф. А именно: повышенные уровни G-CSF, IL-6, MCP-1, VEGF, NE, MMP-1, MMP-2 при ДОЯ, повышенная экспрессия NF-kB, IL-6 на начальной стадии РЯ и IL-18, TNF- α , IL-8, MCP-1, NE при прогрессировании РЯ.

Уровень цитокинов в сыворотке больных ДОЯ и РЯ представлен в *таблице 4*. В сыворотке крови при ДОЯ повышался уровень MMP-1 ($p=0,0516$), MMP-2 ($p=0,0001$), MMP-9 ($p=0,0042$), при этом снижался уровень MMP-13 ($p=0,0024$).

При РЯ в сыворотке крови увеличивался уровень MMP-1 ($p=0,0021$) и TIMP-1 ($p=0,0437$), оставались неизменными MMP-13 и MMP-2, но снижался уровень MMP-9 ($p=0,0045$) по сравнению с ДОЯ (*рисунок 6*).

Изменение уровней исследуемых цитокинов в сыворотке определяет опухолеассоциированное воспаление, способствующее прогрессированию РЯ. При ДОЯ в сыворотке крови повышались провоспалительные IL-17A, IL-8, MCP-1, VEGF, NE, а также MMP-1, MMP-2, MMP-9. При прогрессировании РЯ увеличивалась концентрация IFN γ , IL-10, что может свидетельствовать о неоднозначной роли противоопухолевых цитокинов. А также увеличение уровня ростовых факторов G-CSF, VEGF, MMP-1, MMP-9 указывало на усиление ангиогенных процессов при РЯ.

В унивариантном анализе логистической регрессии для дифференциальной диагностики между ДОЯ и РЯ статистическую значимость совместно демонстрировали IL-1 β сыворотки крови ($p=0,003$), G-CSF ($p=0,002$) и IL-17A ($p=0,040$). Площадь под кривой (AUC) такой модели составила 0,987, и РЯ мог быть диагностирован с 97.6% вероятностью (Spec.=0.892, Sens.=0.976). Риск возникновения РЯ возрастал при повышенном уровне IL-1 β , и одновременно сниженных уровнях в сыворотке крови G-CSF и IL-17A ($R^2=0,885$, $\chi^2=84,8$, $p=0,001$). Также предиктивным значением обладали одновременно уровень МПО ($p=0,004$), показатели спонтанного НСТ-теста ($p=0,001$) и уровень IFN γ в Нф ($p=0,002$). Площадь под кривой (AUC) такой модели составила 0,989, и РЯ мог быть диагностирован с 95.1% вероятностью (Spec.=0.946, Sens.=0.951). Риск возникновения РЯ возрастал при одновременно повышенном уровне МПО и АФК в Нф, и сниженном уровне IFN γ в Нф ($R^2=0,894$, $\chi^2=86,5$, $p=0,001$). Таким образом, при ДОЯ нейтрофилы с противоопухолевым фенотипом способны к завершённому фагоцитозу, имеют повышенную активность МПО, повышенные уровни IFN γ и TIMP-1, а у проопухолевых Нф повышены уровни проангиогенных факторов (VEGF, MMP-1, MMP-2, NE, IL-6). Противоопухолевый фенотип Нф на всех стадиях РЯ определяют повышенные ригидность мембраны, адгезивная способность, уровни IL-2, IL-4, TIMP-1. Нф с проопухолевым фенотипом обладают повышенными NETos, содержанием G-CSF, MMP-1, MMP-2, MMP-9, VEGF, и экспрессией NF-kB. Маркерами при дифференциальной диагностике РЯ и ДОЯ могут служить - IL-1 β , G-CSF и IL-17A в сыворотке крови; также активность МПО, IFN γ в Нф и их активность в НСТ-тесте.

2 - СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ И МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ДИСПЛАЗИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

В результате проведенного нами исследования было выявлено изменение общего количества Le, NLR и рецепторного статуса нейтрофилов (Нф) у пациентов с CIN и на различных стадиях рака шейки матки (РШМ) (таблица 5).

Таблица 5 – Общее количество лейкоцитов, NLR, рецепторный статус нейтрофилов при CIN и на различных стадиях рака шейки матки (M±m)

Группа Показатель	Контроль, n=22	CIN, n=32	Стадии рака шейки матки		
			Ia, n=51	Ib-IIa, n=37	IIb-IV, n=31
Le, абс.	6,54±0,21	6,02±0,27	5,60±0,36	6,18±0,36	9,95±1,62
NLR	2,22±0,07	1,75±0,12	2,36±0,41	2,61±0,25*	4,29±0,39*°
CD11b ⁺ , %	60,40±7,76	97,00±2,30*	69,14±8,86*	88,00±7,82*°	71,72±5,70*
CD16 ⁺ , %	98,90±0,74	98,66±0,84	92,86±1,78	94,0±3,68	90,72±2,62
CD63 ⁺ , %	34,90±7,38	50,00±16,66	38,56±16,06	35,60±14,84	27,56±5,94*
CD95 ⁺ , %	38,54±6,18	41,32±7,78	48,00±14,76	37,20±16,32	27,56±4,98*

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; • - группы с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN); ° - от предыдущей стадии (p≤0,05), Le - лейкоциты, NLR - нейтрофильно-лимфоцитарное отношение.

При сканировании Нф больных CIN и раком шейки матки (РШМ) Ia стадии видны границы клетки с четко выраженным сегментированным ядром и гранулами. В Нф при РШМ на Ib стадии гранулы цитоплазмы практически не идентифицируются (рисунок 7).

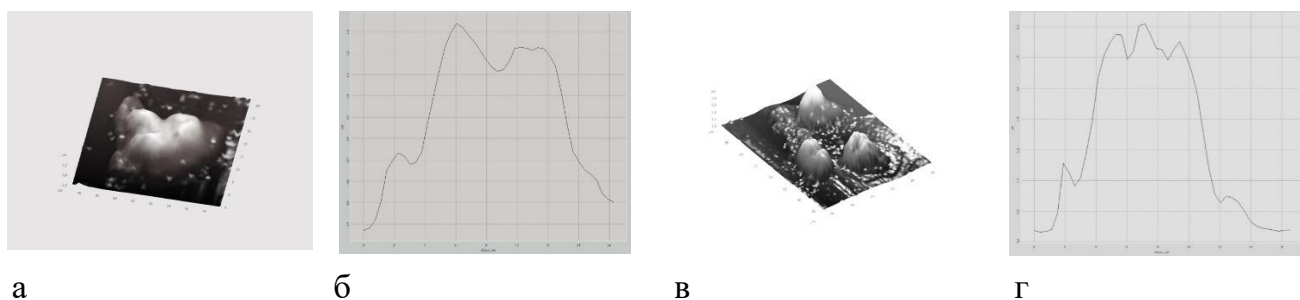


Рисунок 7 - Нейтрофилы пациентов с раком шейки матки Ia (а) и Ib стадий (в) после сканирования и боковое сечение их профилей (б, г)

При оценке ригидности мембраны Нф установлено, что при CIN - 39,47±5,42 мегапаскаль (МПа) (p=0,0612), на Ia стадии РШМ - 31,19±2,46 МПа (p=0,0421), на IIb-IV - 51,93±1,53 МПа (p=0,1732) изменялся по сравнению с контролем (47,49±2,55 МПа), а на Ib-IIa стадии было установлено значимое и резкое её увеличение - 81,84±8,33 МПа (p=0,0062), против 47,49±2,55 МПа в контроле.

Изменения параметров фагоцитоза при CIN и РШМ представлены в таблице 6.

При CIN в Нф повышалась уровень миелопероксидазы (МПО) и активность Нф в НСТ-тесте (рисунок 8). При прогрессировании РШМ активность МПО повышалась, а способность продуцировать АФК оставалась значимо ниже, чем в группе контроля и при CIN. Нами установлено значимое возрастание числа ловушек, образованных Нф больных с распространенным РШМ как по сравнению с контролем (p=0,0276), так и по сравнению с Нф пациенток с дисплазией (p=0,0512). При этом индекс ловушек значимо возрастал при

CIN ($p=0,0127$) и значимо снижался при прогрессировании РШМ по сравнению с контролем ($p=0,0048$) и CIN ($p=0,0016$) (рисунки 9).

Таблица 6 - Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов при CIN и прогрессировании рака шейки матки ($M \pm m$)

Группа / Показатель	Контроль, n=22	CIN, n=32	Стадии рака шейки матки		
			Ia, n=21	Ib-IIa, n=16	IIb-IV, n=13
ФИ, %	41,20±6,44	43,20±14,01	39,42±5,75	32,14±5,06*	33,25±6,77
ФЧ, у.е.	1,97±0,17	1,76±0,28	1,50±0,07*	1,40±0,08*	1,33±0,08*
ИЗФ, у.е.	1,04±0,14	0,60±0,05	0,59±0,06	0,88±0,05	1,13±0,16

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - от группы с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN) ($p \leq 0,05$), ИЗФ - индекс завершенности фагоцитоза, ФИ - фагоцитарный индекс, ФЧ - фагоцитарное число.

Уровень про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов, NF-kB, NE, VEGF в лизате Нф при CIN и прогрессировании РШМ представлен в *таблице 7*.

В результате проведенных исследований выявлено значимое повышение уровня MMP-2 при CIN ($p=0,0001$) и увеличение такового при РШМ ($p=0,0001$). MMP-9 также значимо повышался при CIN ($p=0,0001$), а при РШМ снижался ($p=0,0001$). Уровень MMP-13 значимо снижался при CIN ($p=0,0491$) и продолжал снижаться при РШМ ($p=0,0005$). TIMP-1 при CIN ($p=0,0001$) и РШМ ($p=0,0416$) значимо увеличивался по сравнению с контролем. Уровень MMP-1 при CIN и РШМ находился в пределах коридора нормы (рисунки 10).

Таким образом, уже при CIN в лизате Нф регистрировались значимые изменения цитокинового спектра, которые могут свидетельствовать о формировании проопухолевого фенотипа Нф. А именно: повышенные уровни G-CSF, IL-6, MCP-1, VEGF, MMP-2, MMP-9. При прогрессировании РШМ проопухолевые Нф содержали повышенный уровень NF-kB, IL-1 β , VEGF, NE, MMP-2.

В результате проведенных нами исследований выявлены изменения уровней про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов в сыворотке при CIN и разных стадиях рака шейки матки (РШМ) (таблица 8). При CIN и РШМ в сыворотке повышается уровень MMP-1 ($p_1=0,0001$, $p_2=0,0006$), MMP-2 ($p_1=0,0001$, $p_2=0,0001$) и TIMP-1 ($p_1=0,0002$, $p_2=0,0011$) и снижался уровень MMP-13 ($p_1=0,0001$, $p_2=0,0032$) по сравнению с контролем. MMP-9 значимо повышался при РШМ по сравнению с аналогичными показателями в группе контроля ($p=0,0013$) и CIN ($p=0,0009$) (рисунки 11).

Таким образом, изменение уровней исследованных цитокинов определяется опухолеассоциированным воспалением, способствующим прогрессированию РШМ. При CIN в сыворотке крови повышались провоспалительные IL-1 β , IL-8, IL-18, MCP-1, MMP-1, MMP-2. На начальной стадии РШМ в сыворотке провоспалительный эффект усиливали IL-2, IL-6, IL-17A, NE. При местноограниченном и распространенном РШМ снижение противовоспалительных IFN γ , IL-10, а также увеличение VEGF, IL-2, TNF- α способствовало опухолеассоциированному воспалению.

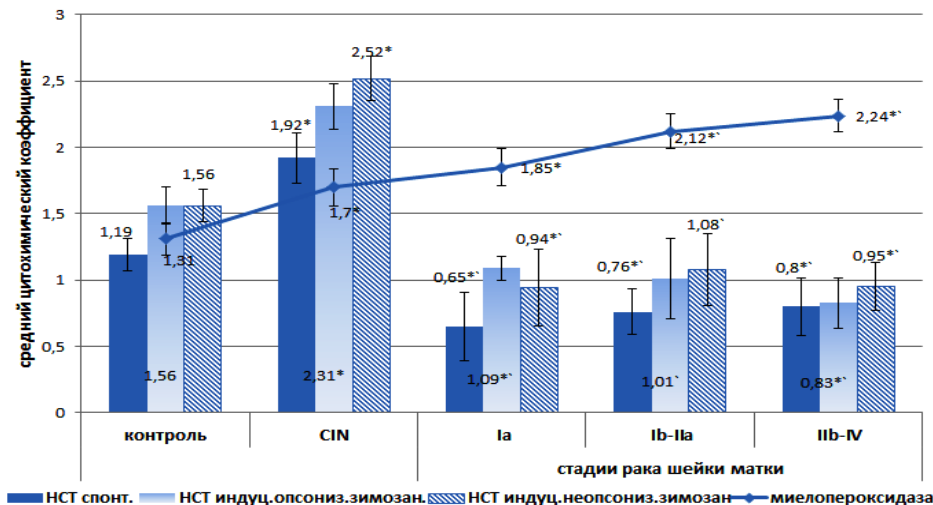


Рисунок 8 - Активность миелопероксидазы и показатели НСТ-теста нейтрофилов при CIN и раке шейки матки

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - группы с CIN, ° - предыдущей стадии ($p \leq 0,05$).

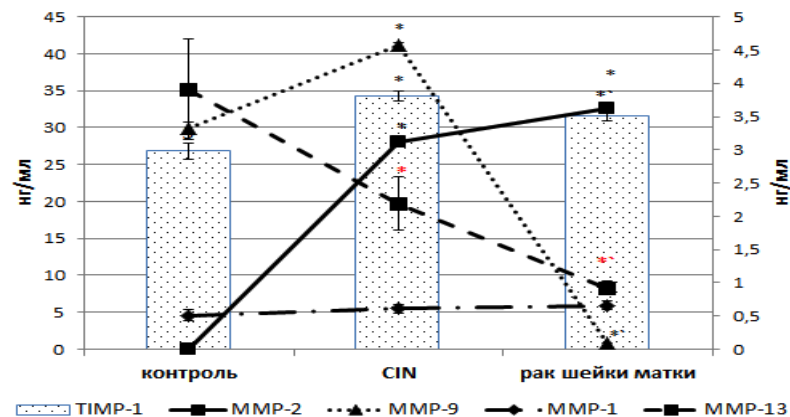


Рисунок 10 - Уровень MMPs и TIMP в Нф при CIN и раке шейки матки

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - группы с CIN ($p \leq 0,05$).

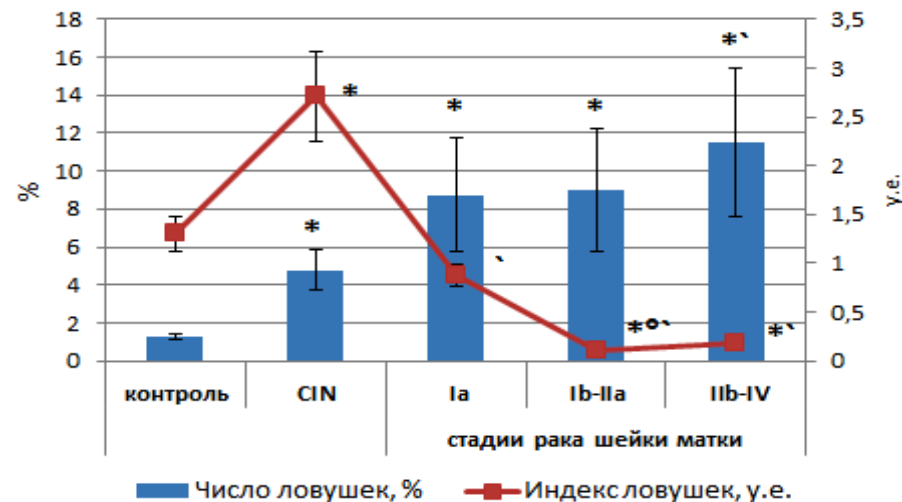


Рисунок 9 - Показатели внеклеточных ловушек при CIN и прогрессировании рака шейки матки

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - группы с CIN ($p \leq 0,05$), ° - предыдущей стадии.

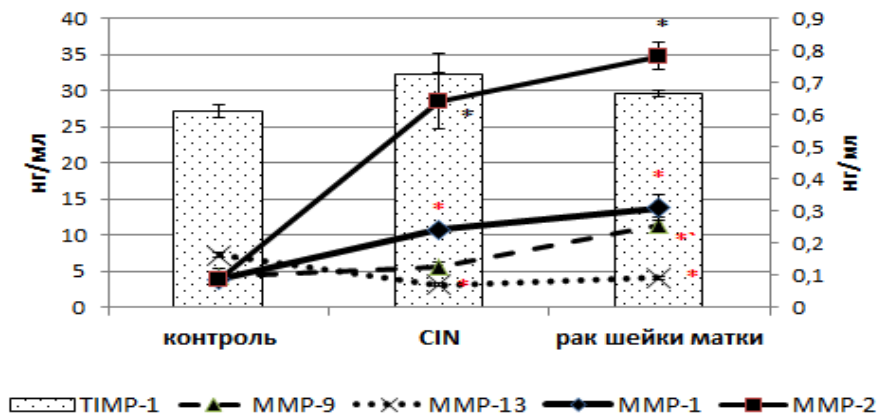


Рисунок 11 - Уровень MMPs и TIMP в сыворотке при CIN и раке шейки матки

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - группы с CIN ($p \leq 0,05$).

Таблица 7 - Уровень (Ме (Q1-Q3)) NF-kB, васкулоэндотелиального фактора роста, нейтрофильной эластазы, цитокинов/хемокинов в лизате циркулирующих нейтрофилов при CIN и раке шейки матки

Группа Показатель	Контроль, n=22	CIN, n=32	Стадии рака шейки матки		
			Ia, n=21	Ib-IIa, n=16	IIb-IV, n=13
NF-kB, мг/мл	0,174 (0,125-0,201)	0,192 * (0,165-0,256)	0,453 *• (0,006-0,748)	0,521*• (0,403-0,621)	0,332 *•° (0,272-0,396)
VEGF, пг/мл	48,940 (40,989-52,851)	92,849 * (68,423-119,752)	81,524 *• (53,634-98,797)	78,026 *• (73,954-83,259)	251,959 *•° (241,587-267,159)
NE, нг/мл	0,361 (0,264-0,412)	0,617*(0,497-0,817)	2,180 *• (1,890-2,380)	0,888 *•° (0,758-1,007)	0,982 *• (0,885-1,100)
IL-1β, пг/мл	8,941 (3,764-15,659)	11,719 (6,689-25,665)	12,948 (0-35,362)	3,411 *° (2,575-4,932)	37,663*•° (10,631-54,816)
IL-1RA, пг/мл	1681,276 (892,491-2983,449)	89,284* (71,628-148,492)	2998,371 *• (2317,232-3000,000)	2599,388 *•° (1998,392-3000,000)	1383,359 *° (1037,483-1983,487)
IL-17A, пг/мл	45,296 (39,776-54,765)	35,064 (15,310-70,493)	47,692 (8,705-118,604)	19,010*•° (10,339-25,486)	68,628*° (45,392-83,298)
IL-18, пг/мл	37,345 (18,492-55,863)	48,037 (25,701-65,710)	11,382 *• (5,343-45,784)	7,012 *•° (6,558-7,585)	18,576 *° (12,060-35,874)
G-CSF, пг/мл	0,125 (0,057-0,141)	9,178*(3,043-25,231)	0,009 *• (0-0,060)	1,708 *•° (1,321-1,983)	1,699 *• (0,934-2,853)
IL-2, пг/мл	3,907 (3,423-4,359)	7,423 * (6,287-9,245)	59,027 *• (10,620-97,459)	59,890 *• (30,409-84,698)	73,306 *• (62,018-84,397)
IL-6, пг/мл	1,329 (0,992-1,993)	10,573* (8,784-13,118)	2,126 *• (1,326-3,414)	18,297 *• (12,098-21,654)	6,475 *• (5,027-7,325)
TNFα, пг/мл	2,370 (1,128-3,163)	3,995*(1,219-6,484)	6,455 *• (4,900-7,900)	7,900 *•° (5,958-9,517)	10,025 *• (6,970-12,874)
IL-4, пг/мл	1,457 (0,591-2,069)	3,215 * (1,886-6,301)	1,723 *• (1,039-4,205)	3,335 *° (1,067-4,901)	0,955 *•° (0,826-0,970)
IL-10, пг/мл	63,961 (48,981-88,843)	9,606 * (5,167-15,427)	96,926 *• (15,039-141,795)	91,740 * (73,485-121,649)	12,701 *° (2,735-39,298)
IFNγ, пг/мл	2,517 (1,661-3,664)	11,572 * (9,026-14,526)	3,270 * (1,060-6,470)	3,433* (1,236-4,023)	4,345 *• (2,212-5,790)
IL-8, пг/мл	158,826 (140,048-186,034)	157,951 (108,694-198,365)	34,452 *• (11,249-107,465)	62,409 *•° (47,369-86,371)	33,258 *•° (19,461-44,617)
MCP-1, пг/мл	17,217 (14,029-19,561)	21,606 * (16,906-30,534)	24,979 * (22,324-27,558)	20,536 *° (19,524-21,197)	23,476 *° (17,775-38,047)

Примечание: * - данные статистически значимо отличаются от группы контроля; • - данные статистически значимо отличаются от группы с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN); ° - данные статистически значимо отличаются от предыдущей стадии ($p \leq 0,05$), NE - нейтрофильная эластаза, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, IL - интерлейкин, MCP - моноцитарный хемотаксический фактор.

Таблица 8 - Уровень (Ме (Q1-Q3)) цитокинов в сыворотке крови при CIN и раке шейки матки

Группа / Показатель	Контроль, n=22	CIN, n=32	Стадии рака шейки матки		
			Ia, n=21	Ib-IIa, n=16	IIb-IV, n=13
IL-1 β , пг/мл	1,811 (1,582-2,182)	5,548 * (3,699-8,686)	9,756 * (0,730-16,370)	1,798 ° (1,188-2,192)	3,202 *° (1,540-7,209)
IL-1RA, пг/мл	200,209 (179,882-266,188)	603,765 * (264,343-806,006)	332,743 * (188,382-656,176)	336,651 *° (215,537-387,879)	567,066 *° (472,943-674,624)
IL-2, пг/мл	2,531 (1,524-3,015)	3,795 * (3,573-3,991)	22,612 *° (11,182-30,736)	10,071 *°° (3,321-13,452)	9,244 *° (4,466-16,717)
IL-6, пг/мл	16,883 (2,189-31,550)	9,105 * (7,995-11,021)	62,954 *° (30,800-171,740)	1,238 *°° (0,993-2,626)	11,258 ° (8,258-12,963)
IL-17A, пг/мл	41,479 (39,484-47,297)	23,25 * (16,099-34,369)	38,491 ° (14,968-107,065)	85,915 *°° (29,088-154,654)	28,714 *° (21,473-35,157)
IL-18, пг/мл	299,901 (152,369-379,252)	424,886 * (366,917-477,441)	499,931 * (359,345-543,092)	386,541 *° (376,583-396,357)	460,067 *° (415,259-526,124)
TNF α , пг/мл	1,431 (0,971-5,924)	3,654 (3,028-4,385)	12,753 *° (4,400-31,210)	9,665 *° (6,338-13,154)	7,640 ° (5,920-12,310)
G-CSF, пг/мл	52,215 (45,987-55,941)	36,926 * (33,937-38,937)	29,016 *°° (26,916-31,935)	18,886 *°° (9,096-25,115)	13,196 *° (7,385-22,151)
IL-4, пг/мл	1,249 (0,434-1,998)	3,856 * (2,021-5,372)	2,561 * (0-10,000)	1,948 *° (1,194-2,188)	2,345 *° (1,829-3,625)
IL-10, пг/мл	1,476 (1,275-1,841)	13,897 * (11,146-31,460)	2,877 ° (0-8,350)	7,464 *°° (5,335-9,575)	3,628 *°° (2,510-5,121)
IFN γ , пг/мл	4,156 (2,087-5,747)	12,414 * (9,137-16,209)	9,100 * (1,270-43,170)	5,109 *°° (4,210-6,864)	8,179 *° (4,644-9,320)
IL-8, пг/мл	11,042 (10,300-14,986)	18,931 * (12,300-22,692)	12,752 (8,014-26,073)	10,392 °° (7,654-13,687)	24,757 *° (13,441-28,369)
MCP-1, пг/мл	270,098 (220,1479-310,852)	344,680 * (263,479-418,292)	256,952 ° (252,578-261,484)	385,200 *° (333,416-429,453)	565,843 *°° (472,941-607,458)
VEGF, пг/мл	136,344 (91,008-168,952)	227,554* (129,586-358,902)	230,853*° (135,953-365,776)	280,616*°° (215,237-427,747)	267,242*°° (194,758-379,920)
NE, нг/мл	2,271 (1,812-2,439)	1,132* (0,049-1,736)	1,726*° (1,454-1,8236)	1,45*° (1,132-1,816)	1,715*° (1,163-1,981)

Примечание: * - данные статистически значимо отличаются от группы контроля; ° - данные статистически значимо отличаются от группы с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN); °° - данные статистически значимо отличаются от предыдущей стадии ($p \leq 0,05$), NE - нейтрофильная эластаза, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, IL - интерлейкин, MCP - моноцитарный хемотаксический фактор.

Для дифференциальной диагностики между CIN и РШМ статистическую значимость совместно демонстрировали G-CSF ($p=0,003$), IL-2 ($p=0,002$) и IFN γ сыворотки крови ($p=0,013$). Площадь под кривой (AUC) такой модели составила 0,982, и РШМ мог быть диагностирован с 96.2% вероятностью (Spec.=1.00, Sens.=0.962). Риск возникновения РШМ возрастал при снижении уровней G-CSF и IFN γ , и повышении уровня IL-2 в крови ($R^2=0,890$, $\chi^2=87,8$, $p=0,001$). Также статистическую значимость совместно демонстрировали NE ($p=0.001$), IL-8 ($p=0.005$) и ИЛ циркулирующих Нф ($p=0.001$). Площадь под кривой (AUC) такой модели составила 0,978 и РШМ мог быть диагностирован с 100% вероятностью (Spec.=0.968, Sens.=1.000). Риск возникновения РШМ возрастал при сниженных уровнях IL-8 и ИЛ, и одновременно повышенном уровне в сыворотке крови NE ($R^2=0,880$, $\chi^2=86,0$, $p=0,001$).

Таким образом, при CIN Нф N1 фенотипа имеют повышенную миелопероксидазную цитотоксичность и содержание IFN γ , TIMP-1, IL-2, IL-4, а N2-подобные Нф имеют выраженный ангиогенный потенциал (VEGF, NE, MMP-1, MMP-2, MMP-9, IL-6, G-CSF) и способность к NET-образованию. На всех стадиях РШМ Нф с противоопухолевым фенотипом имеют повышенный уровень МПО, TNF α , IL-2, TIMP-1, а проопухолевые Нф циркулируют со сниженной кислородзависимой цитотоксичностью, повышенным NETos, экспрессией NF-kB, VEGF, NE, IL-6, MMP-1, MMP-2, MMP-9. Маркерами при дифференциальной диагностике РШМ и CIN могут служить - G-CSF, IFN γ , IL-2 в сыворотке; также уровень IL-8 и NE в Нф и ИЛ.

3 - СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ И МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ МИОМЕ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ РАКА ТЕЛА МАТКИ

В *таблице 9* представлены результаты определения общего количества лейкоцитов, NLR и рецепторного статуса Нф циркулирующей крови.

Таблица 9 - Общее количество лейкоцитов, NLR, нейтрофилов с различными мембранными рецепторами при миоме и на различных стадиях рака тела матки (M \pm m)

Показатель \ Группа	Контроль, n=22	Миома матки, n=20	Стадии рака тела матки	
			I, n=84	II-III, n=32
Le, абс.	6,54 \pm 0,21	6,75 \pm 0,34	6,15 \pm 0,26	6,59 \pm 0,24
NLR	2,22 \pm 0,07	2,54 \pm 0,28	2,37 \pm 0,14	2,48 \pm 0,35
CD11b ⁺ , %	60,40 \pm 7,76	94,77 \pm 0,43*	74,61 \pm 7,63 [•]	92,00 \pm 0,74*
CD16 ⁺ , %	98,90 \pm 0,74	98,66 \pm 0,45	94,50 \pm 1,69 [•]	97,32 \pm 0,57
CD63 ⁺ , %	34,90 \pm 7,38	76,77 \pm 8,96*	55,32 \pm 6,96 [•]	46,76 \pm 6,00 [•]
CD95 ⁺ , %	38,54 \pm 6,18	48,52 \pm 4,98	56,61 \pm 7,92	20,92 \pm 1,55* ^{•◦}

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; [•] - группы с миомой матки; [◦] - предыдущей стадии ($p \leq 0,05$), Le - лейкоциты, NLR - нейтрофильно-лимфоцитарное отношение.

При помощи АСМ нами было выявлено значимое снижение показателя ригидности Нф пациентов при миоме матки ($p=0,0214$) и раке тела матки (РТМ) на начальной стадии по сравнению с Нф контрольной группы (37,31 \pm 2,24 МПа против 47,49 \pm 2,55 МПа в

контроле, $p=0,0512$). Также Нф пациентов при РТМ начальной стадии характеризуются отсутствием четкого изображения ядра и невозможностью дифференцировать гранулы цитоплазмы (рисунк 12 а, б). При сканировании Нф пациентов с распространенным РТМ видно, что клетка распластана на подложке, границы клетки чётко видны, в цитоплазме дифференцируются гранулы (рисунк 12 в, г), а ригидность мембраны Нф повышается до $70,46 \pm 8,41$ МПа ($p=0,0314$).

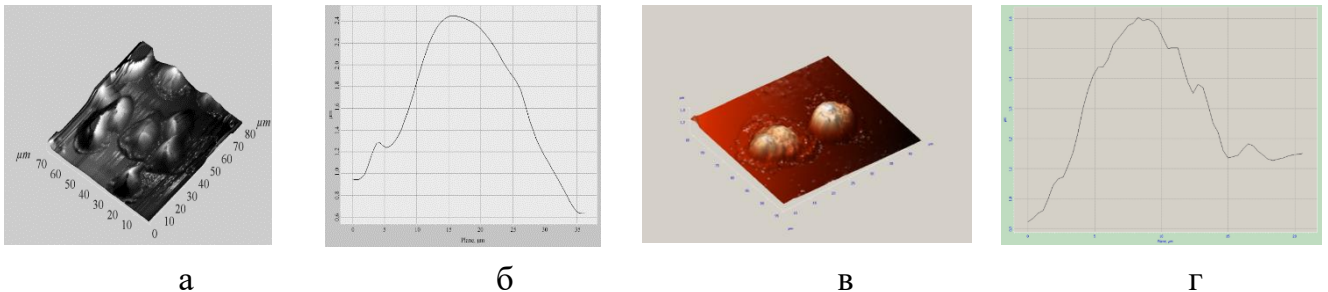


Рисунок 12 - Нейтрофилы пациентов с раком тела матки I (а) и II стадий (в) после сканирования и боковое сечение их профилей (б, г)

В результате проведенного исследования выявлены изменения фагоцитарной активности Нф при миоме матки и на различных стадиях РТМ (таблица 10).

Таблица 10 - Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов при миоме матки и прогрессировании рака тела матки ($M \pm m$)

Группы Показатели	Контроль, n=22	Миома матки, n=20	Стадии рака тела матки	
			I стадия, n=42	II-III стадия, n=16
ФИ, %	$41,20 \pm 6,44$	$56,00 \pm 8,58^*$	$45,09 \pm 4,19$	$39,37 \pm 9,59^`$
ФЧ, у.е.	$1,97 \pm 0,17$	$1,46 \pm 0,13^*$	$2,12 \pm 0,11$	$1,80 \pm 0,13$
ИЗФ, у.е.	$1,04 \pm 0,14$	$0,68 \pm 0,09$	$1,12 \pm 0,08$	$0,96 \pm 0,04$

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ` - группы с миомой матки ($p \leq 0,05$), ИЗФ - индекс завершенности фагоцитоза, ФИ - фагоцитарный индекс, ФЧ - фагоцитарное число.

При миоме матки в Нф был повышен уровень миелопероксидазы (МПО) ($p=0,0076$) и значимо снижена активность Нф в индуцированном НСТ-тесте с неопсонизированным зимозаном. Уровень МПО оставался повышенным на разных стадиях РТМ, но при распространенном процессе значимо снижался по сравнению с таковым при миоме ($p=0,0076$). Также на стадии II-III РТМ активность Нф была ниже таковой в контроле в индуцированном НСТ-тесте ($p_1=0,0109$ и $p_2=0,0077$) (рисунк 13). В результате проведенных нами исследований выявлено значимое возрастание числа ловушек (ЧЛ) ($p=0,0002$) и индекса ловушек (ИЛ) ($p=0,0155$), образованных Нф пациентов с миомой по сравнению с контролем. При РТМ на начальной стадии ЧЛ значимо увеличивалось ($p=0,0031$) и продолжало расти при распространенном РТМ ($p=0,0001$) по сравнению с таковым в группе с миомой. При этом ИЛ значимо снижался при РТМ по сравнению с аналогичным показателем в группе с миомой матки ($p=0,0001$) (рисунк 14).

Уровень про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов, NF-kB, NE, VEGF, матриксных металлопротеиназ в лизате Нф представлен в таблице 11. Выявлено значимое

снижение уровня MMP-2 в Нф при РТМ относительно такового при миоме ($p=0,0453$). Уровень MMP-9 в Нф значимо повышался при миоме ($p=0,0001$) и РТМ ($p=0,0023$) по сравнению с контролем, а при РТМ его уровень был ниже такового при миоме ($p=0,0008$). Уровень MMP-13 значимо снижался при миоме ($p=0,0019$) и РТМ ($p=0,0249$) по сравнению с контролем. Уровни MMP-1 и TIMP-1 при миоме и РТМ находились в пределах коридора нормы (*рисунок 15*).

Таким образом, в лизате Нф при миоме повышался уровень NE, G-CSF, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IFN γ , MMP-9 и снижался уровень IL-1RA, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-18, MMP-13. На начальной стадии РТМ в лизате Нф повышались IL-1RA, IL-6, IL-18, G-CSF, MCP-1 и снижались IFN γ , IL-8, NE по сравнению с миомой. При распространенном процессе в лизате Нф повышался уровень MCP-1, G-CSF, IL-1RA и снижался NE, IL-8, IL-17A, IFN γ по сравнению с аналогичными показателями при миоме. Экспрессия NF-kB и VEGF повышалась при миоме и при прогрессировании РТМ.

Уровень цитокинов, VEGF, NE в сыворотке больных миомой и РТМ представлены в *таблице 12*. При миоме и РТМ в сыворотке повышался уровень MMP-1 ($p_1=0,0001$, $p_2=0,0065$) и TIMP-1 ($p_1=0,0001$, $p_2=0,0588$). Однако уровень TIMP-1 был значимо ниже такового при миоме ($p=0,0079$). Уровень MMP-2 в сыворотке больных миомой значимо возрастал ($p=0,0009$) и при РТМ был ниже такового в контроле ($p=0,0211$) и при миоме ($p=0,0453$). MMP-9 ($p=0,0276$) и MMP-13 ($p=0,0001$) значимо снижались при РТМ по сравнению с аналогичными показателями в группе контроля (*рисунок 16*).

Таким образом, в сыворотке при миоме повышался уровень MMP-1, MMP-2, TIMP-1, VEGF, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10 и снижался уровень MMP-13, MCP-1, IL-17A, G-CSF. На начальной стадии РТМ в сыворотке повышались MCP-1, IL-1RA, IL-6, TNF α , G-CSF и снижался IL-1 β по сравнению с миомой. При распространенном РТМ в сыворотке повышался уровень IFN γ , VEGF, IL-1 β , IL-1RA, G-CSF и снижался уровень IL-2, NE. Также при РТМ снижался уровень MMP-2 и MMP-13. Такие изменения могут свидетельствовать об усилении опухолеассоциированного воспаления при прогрессировании РТМ.

В унивариантном анализе логистической регрессии для дифференциальной диагностики между миомой и РТМ статистическую значимость совместно демонстрировали IL-1RA ($p=0,010$) и IL-6 сыворотки крови ($p=0,029$).

Площадь под кривой (AUC) такой модели составила 0.977, и рак тела матки (РТМ) мог быть диагностирован с 96.2% вероятностью (Spec.=0.800, Sens.=0.962).

Риск возникновения РТМ возрастал при одновременно повышенных уровнях IL-1RA и IL-6 в сыворотке крови ($R^2=0,824$, $\chi^2=30,5$, $p=0,001$). Также статистическую значимость совместно демонстрировали ИЛ ($p=0,006$) и MCP-1 в циркулирующих Нф ($p=0,020$). Площадь под кривой (AUC) такой модели составила 0.972, и РТМ мог быть диагностирован с 96.0% вероятностью (Spec.=0.900, Sens.=0.960). Риск возникновения РТМ возрастал при одновременно повышенных уровнях MCP-1 в циркулирующих Нф и сниженной способности захватывать частица с помощью NET ($R^2=0,796$, $\chi^2=28,4$, $p=0,001$).

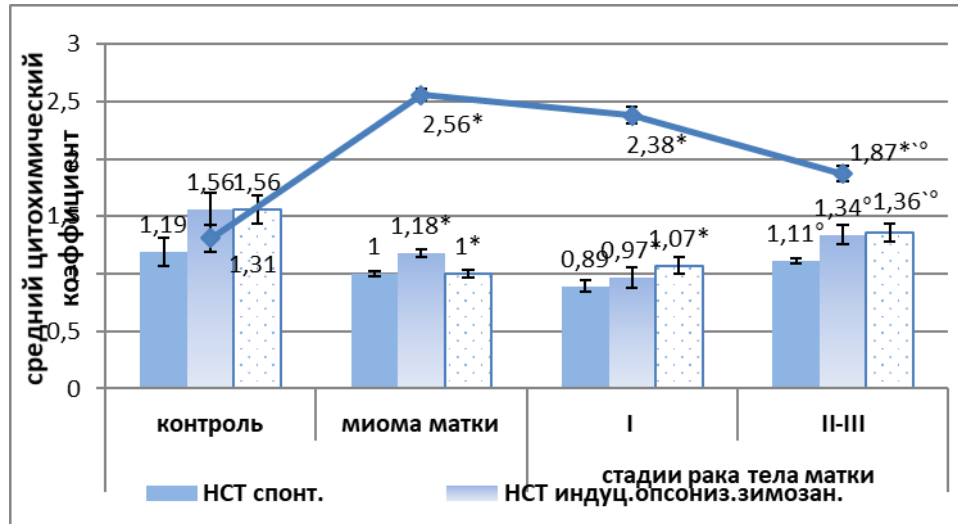


Рисунок 13 - Активность миелопероксидазы и показатели НСТ-теста нейтрофилов при миоме матки и на разных стадиях рака тела матки

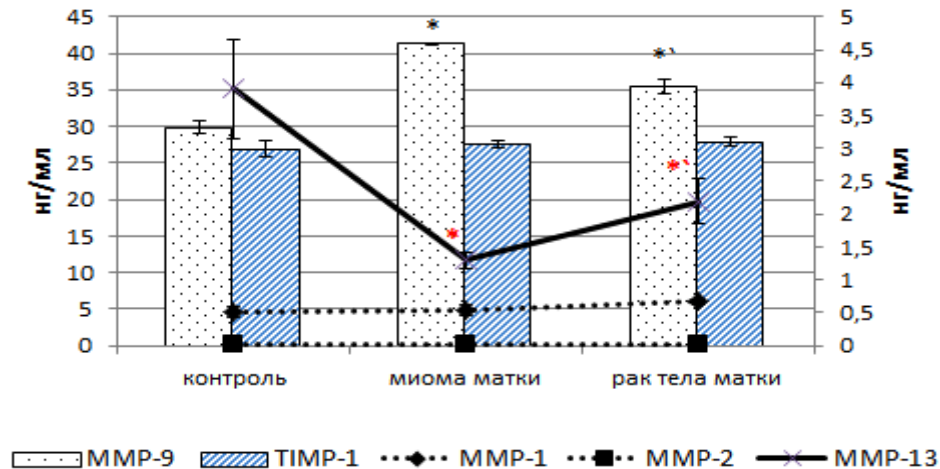


Рисунок 15 - Уровень MMPs и TIMP в нейтрофилах при миоме и раке тела матки

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ° - группы с миомой матки ($p \leq 0,05$).

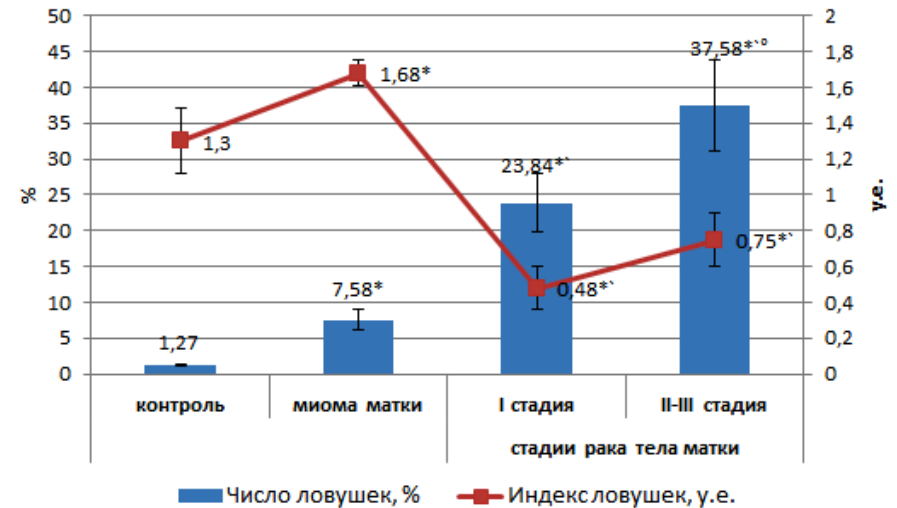


Рисунок 14 - Показатели внеклеточных ловушек при миоме и прогрессировании рака тела матки

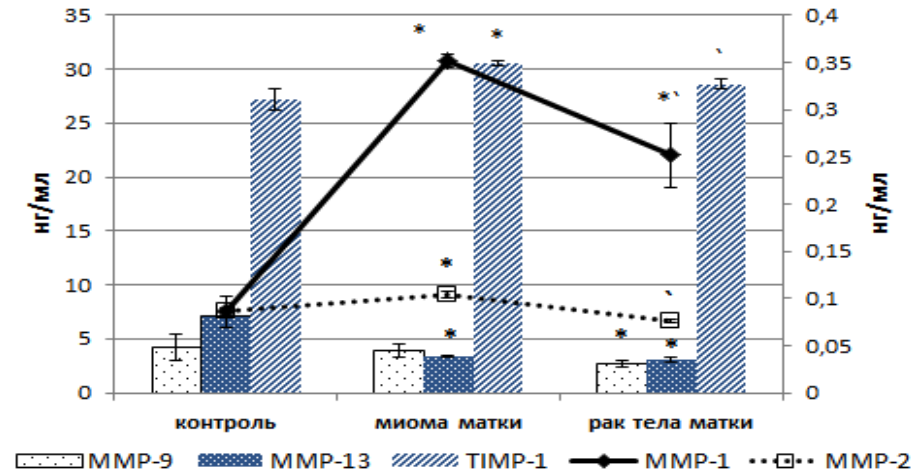


Рисунок 16 - Уровень MMPs и TIMP в сыворотке при миоме и раке тела матки

Примечание: данные статистически значимо отличаются от: * - группы контроля; ° - группы с миомой матки ($p \leq 0,05$).

Таблица 11 - Уровень (Ме (Q1-Q3)) NF-κB, васкулоэндотелиального фактора роста, нейтрофильной эластазы, цитокинов/хемокинов в лизате циркулирующих нейтрофилов при миоме и раке тела матки

Группа Показатель	Контроль, n=22	Миома матки, n=20	I стадия РТМ, n=42	II-III стадия РТМ, n=16
NF-κB, мг/мл	0,174 (0,125-0,201)	0,503* (0,482-0,533)	0,413* (0,358-0,599)	0,700* ^o (0,659-0,714)
IL-1β, пг/мл	8,941 (3,764-15,659)	70,446* (52,302-94,236)	42,031* (27,504-68,354)	48,139* (41,558-56,037)
IL-1RA, пг/мл	1681,276 (892,491-2983,449)	24,935* (22,551-30,500)	3000,000* [•] (2167,783-3000,000)	104,688* ^o (34,165-1114,329)
IL-17A, пг/мл	45,296 (39,776-54,765)	15,928* (11,125-20,361)	14,589 * (13,442-16,184)	10,036* ^o (9,913-10,371)
IL-18, пг/мл	37,345 (18,492-55,863)	5,210* (4,365-7,319)	11,677* [•] (5,984-25,697)	8,113* (6,547-12,256)
G-CSF, пг/мл	0,125 (0,057-0,141)	0,490* (0,322-0,673)	35,346* [•] (24,577-49,593)	25,986* ^o (15,753-34,926)
IL-2, пг/мл	3,907 (3,423-4,359)	9,435* (8,157-10,001)	13,941* (5,744-19,992)	15,504* (5,521-22,911)
IL-6, пг/мл	1,329 (0,992-1,993)	10,633* (10,224-11,551)	14,528* [•] (13,130-16,214)	11,191* ^o (10,351-12,070)
TNFα, пг/мл	2,370 (1,128-3,163)	1,457 (1,454-1,838)	1,620* (1,126-1,985)	1,383* (1,325-1,593)
IL-4, пг/мл	1,457 (0,591-2,069)	4,983* (4,692-5,793)	2,080* (1,152-4,998)	4,338* (1,117-5,367)
IL-10, пг/мл	63,961 (48,981-88,843)	2,942* (1,938-3,943)	3,988* (2,937-5,384)	2,998* (2,095-5,643)
IFNγ, пг/мл	2,517 (1,661-3,664)	31,004* (28,057-35,338)	3,635 [•] (1,414-4,412)	11,625* ^o (10,177-11,790)
IL-8, пг/мл	158,826 (140,048-186,034)	63,619* (36,934-69,885)	27,341* [•] (23,560-30,687)	25,141* [•] (22,051-27,692)
MCP-1, пг/мл	17,217 (14,029-19,561)	16,797 (12,904-20,151)	23,898* [•] (20,147-28,825)	22,295* [•] (20,754-23,763)
VEGF, пг/мл	48,940 (40,989-52,851)	91,358* (78,670-103,759)	78,387*(62,412-92,856)	235,743* [•] ^o (223,478-239,756)
NE, нг/мл	0,361 (0,264-0,412)	0,602* (0,392-1,052)	0,334 [•] (0,232-0,432)	0,275 [•] (0,217-0,318)

Примечание: * - данные статистически значимо отличаются от группы контроля, [•] - данные статистически значимо отличаются от группы с миомой матки, ^o - данные статистически значимо отличаются от предыдущей стадии (p≤0,05), NE - нейтрофильная эластаза, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, IL - интерлейкин, MCP - моноцитарный хемотаксический фактор.

Таблица 12 - Уровень (Ме (Q1-Q3)) цитокинов в сыворотке крови при миоме и раке тела матки

Группа Показатель	Контроль, n=22	Миома матки, n=20	I стадия РТМ, n=42	II-III стадия РТМ, n=16
IL-1 β , пг/мл	1,811 (1,582-2,182)	15,816* (8,053-20,173)	5,912*• (3,172-12,160)	7,559*• (5,584-9,452)
IL-1RA, пг/мл	200,209 (179,882- 266,188)	231,803 (209,996- 284,218)	601,777*• (496,398-789,332)	999,284*•° (525,260- 1240,463)
IL-17A, пг/мл	41,479 (39,484-47,297)	28,705* (18,013-41,383)	31,467* (21,934-46,700)	21,442*° (15,483-25,481)
IL-18, пг/мл	299,901 (152,369- 379,252)	318,322* (294,417- 367,564)	298,556 (277,605-454,313)	371,858 (319,835-412,087)
G-CSF, пг/мл	52,215 (45,987-55,941)	1,673* (1,527-1,883)	73,294*• (46,638-100,589)	30,754*•° (1,375-70,466)
IL-2, пг/мл	2,531 (1,524-3,015)	3,074* (2,951-3,962)	3,242* (1,852-5,223)	2,612• (2,102-3,069)
IL-6, пг/мл	16,883 (2,189-31,550)	11,795 (10,995-13,448)	20,014• (14,128-29,357)	14,225° (12,991-15,552)
TNF α , пг/мл	1,431 (0,971-5,924)	4,450 (3,654-4,539)	9,071*• (4,661-13,852)	3,204° (2,153-3,952)
IL-4, пг/мл	1,249 (0,434-1,998)	2,281 (2,006-2,557)	2,705* (1,596-4,300)	3,697* (2,072-4,086)
IL-10, пг/мл	1,476 (1,275-1,841)	8,003 (3,977-10,031)	5,257* (2,117-9,743)	7,115* (6,092-8,492)
IFN γ , пг/мл	4,156 (2,087-5,747)	4,693 (3,674-5,367)	4,189 (2,390-10,497)	9,095• (8,024-10,297)
IL-8, пг/мл	11,042 (10,300-14,986)	19,751* (19,232-20,319)	22,742* (13,346-27,446)	29,213* (27,394-33,497)
MCP-1, пг/мл	270,098 (220,1479- 310,852)	197,589* (147,074- 255,145)	299,628*• (255,772-411,753)	236,919° (190,241-276,357)
VEGF, пг/мл	136,344 (91,008-168,952)	260,385 (221,647- 356,951)*	194,876 (54,490-276,385)	327,267 (283,014-334,488)*°
NE, нг/мл	2,271 (1,812-2,439)	2,190 (1,392-3,632)	1,184 (0,837-1,932)*	0,799 (0,637-0,939)*•°

Примечание: * - данные статистически значимо отличаются от группы контроля, • - данные статистически значимо отличаются от группы с миомой матки, ° - данные статистически значимо отличаются от предыдущей стадии ($p \leq 0,05$), NE - нейтрофильная эластаза, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, IL - интерлейкин, MCP - моноцитарный хемотаксический фактор.

В унивариантном анализе логистической регрессии для дифференциальной диагностики между миомой и РТМ статистическую значимость совместно демонстрировали IL-1RA ($p=0,021$), MCP-1 сыворотки крови ($p=0,041$). Площадь под кривой (AUC) такой модели составила 0.958, и РТМ мог быть диагностирован с 88.5% вероятностью (Spec.=0.800, Sens.=0.885). Риск возникновения РТМ возрастает при одновременно повышенных уровнях IL-1RA и MCP-1 в сыворотке крови ($R^2=0,749$, $\chi^2=26,4$, $p=0,001$).

Таким образом, при миоме Нф характеризовались повышенной адгезией, дегрануляцией, миелопероксидазной активностью, повышенным уровнем IFN γ , IL-2, IL-4 формируют N1-подобный фенотип, а сниженная кислородзависимая цитотоксичность, неспособность к завершённому фагоцитозу, повышенное NET-образование, экспрессия NF-kB, VEGF, NE, IL-1 β , IL-6, MMP-9, G-CSF определяли N2-подобный фенотип. При РТМ противоопухолевые Нф с повышенным содержанием IL-2, IL-4 способны к завершённому фагоцитозу, а проопухолевые Нф характеризовались повышенной экспрессией NF-kB, VEGF, MMP-9, G-CSF, IL-1 β , -6, MCP-1. Маркерами при дифференциальной диагностике РТМ и миомы могут служить - IL-1RA и IL-6, либо IL-1RA и MCP-1 в сыворотке крови, а также уровень MCP-1 в циркулирующих Нф и ИЛ.

4 - РЕГРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ЦИТОКИНОВ И ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ, В ПРОГРЕССИИ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ, ПРИ МИОМЕ И РАКЕ ТЕЛА МАТКИ

Известно, что циркулирующие Нф вступают в двустороннее взаимодействие с опухолью, являются значимым посредником системных эффектов неопластического процесса. В результате множественной и простой линейной регрессии нами было выявлено влияние сывороточных цитокинов на морфо-функциональное состояние Нф при доброкачественных и злокачественных опухолях яичников, в прогрессии CIN, при миоме и РТМ.

4.1 – Регрессионный анализ взаимосвязи цитокинов семейства IL-1 (IL-1 β , IL-1RA, IL-18) и показателей циркулирующих нейтрофилов при опухолях женской репродуктивной системы

Известно, что цитокины семейства IL-1 играют важную роль в инициации каскада передачи сигнала через NF-kB (Fields J.K., 2019). Нами была выявлена обратная регрессионная зависимость NF-kB Нф от повышенного уровня IL-1 β в крови при миоме матки ($R^2=0,751$, $p=0,0164$). Это может свидетельствовать о влиянии циркулирующего IL-1 β на активацию проопухолевых функций Нф при миоме матки.

При местноограниченном РШМ выявлена прямая регрессионная зависимость от активности IL-1RA крови количества CD95⁺Нф ($R^2=0,5151$, $p=0,0005$) и обратная зависимость количества активных Нф в спонтанном НСТ-тесте ($R^2=0,4476$, $p=0,0014$), что указывает на участие IL-1RA в усилении противоопухолевых функций Нф.

Известно, что образование NET сопровождается усилением ответа группы цитокинов семейства IL-1 (Hudock K.M., et al., 2020). Повышенный по сравнению с контролем ИЛ при CIN коррелировал с концентрацией IL-1 β в Нф ($r=-0,4093$, $p=0,0222$) и

IL-1RA в Нф ($r=-0,4699$, $p=0,0491$), что может свидетельствовать об ассоциации IL-1 β и IL-1RA со сниженной киллинговой функцией NET.

На начальной стадии РШМ ($r=-0,4060$, $p=0,0004$), при местноограниченном процессе ($r=-0,4168$, $p=0,0003$) и распространенном РШМ ($r=-0,4556$, $p=0,0001$) уровень циркулирующего IL-1RA обратно коррелировал с умеренной силой с уровнем IL-1RA в Нф. Подобная ситуация была обнаружена и при миоме матки ($r=-0,6848$, $p=0,0288$). Это может свидетельствовать о вкладе Нф в пул циркулирующего IL-1RA. При распространенном РТМ уровень IL-18 в крови был повышен, а в Нф снижен по сравнению с контролем. И между ними обнаружена высокая прямая корреляционная связь ($r=0,8504$, $p=0,0002$). Таким образом, синтезируемый Нф IL-18 при РТМ не вносит вклад в пул этого цитокина в крови.

В нашем исследовании при РТМ I стадии методом множественной регрессии выявлена взаимосвязь NLR с концентрацией циркулирующих в крови IL-18 и IL-1 β ($R^2=0,3123$, $p=0,0052$). При миоме матки нами была выявлена регрессионная взаимосвязь уровня IL-18 в Нф с активностью NF-kB ($R^2=0,5682$, $p=0,0071$), которая подтверждает ранее полученные данные о том, что биологическая активность IL-18 опосредуется активацией NF-kB (Chandrasekar V., et al., 2020). От циркулирующего IL-18 при РТМ зависело повышение экспрессии CD63 на Нф ($R^2=0,4972$, $p=0,0043$), а на начальной стадии РЯ – количество CD95⁺Нф ($R^2=0,2899$, $p=0,0150$), что определяло противоопухолевые функции Нф.

Сниженный уровень IL-18 в Нф при ДОЯ коррелировал с ЧЛ ($r=0,5555$, $p=0,0315$), что не противоречит данным Huang W. et al. (2020) о стимуляции образования NET высокими дозами IL-18. От концентрации IL-18 в крови зависела также активность МПО при распространенном РТМ ($R^2=0,3274$, $p=0,0240$). Таким образом, IL-18 ассоциирован с киллинговой активностью при ДОЯ и РТМ.

Отношение VEGF/IL-18 используется при оценке взаимосвязи механизмов ангиогенеза и иммунологического ответа при различных типах рака (Moody C.A., Laimins L.A., 2010). При местноограниченном и распространенном РШМ обнаружена корреляционная связь IL-18 и VEGF в Нф ($r=0,4661$, $p=0,0005$ и $r=0,5330$, $p=0,0001$, соответственно), что может свидетельствовать об участии внутриклеточного IL-18 в усилении проангиогенной функции Нф при данной патологии.

Следовательно, внутриклеточные IL-1 β и IL-18 ассоциированы с проангиогенной активностью Нф при распространенном РШМ. А уровень IL-1 β и IL-18 крови при начальном РТМ поддерживает количество циркулирующих Нф на уровне здоровых женщин. При CIN IL-1 β и IL-1RA в Нф ассоциированы со сниженной киллинговой функцией NET. При ДОЯ концентрация IL-18 в Нф влечет за собой изменение параметров NETs.

Снижение апоптоза Нф при РЯ связано со стойким воспалением и повышенным в сыворотке уровнем IL-18, основным источником которого являются сами Нф. Под влиянием циркулирующего IL-18 снижается цитотоксичность Нф при начальном РТМ, а при распространенном РТМ усиливается миелопероксидазная активность и способность к дегрануляции. Циркулирующий IL-1RA при распространении РШМ ассоциирован со снижением способности Нф генерировать АФК и синтезировать ангиогенные факторы.

4.2 - Регрессионный анализ взаимосвязи IL-6 и показателей циркулирующих нейтрофилов при опухолях женской репродуктивной системы

В нашем исследовании установлено, что при распространенном РЯ уровень циркулирующего IL-6 коррелировал с внутриклеточным уровнем IL-6 ($r=0,5626$, $p=0,0245$). Также обнаружена корреляция между уровнем IL-6 в крови и Нф при CIN ($r=-0,7587$, $p=0,0001$), на начальной стадии РШМ ($r=-0,8225$, $p=0,0001$), при местноограниченном ($r=-0,8415$, $p=0,0001$) и распространенном РШМ ($r=-0,8191$, $p=0,0001$). Это подтверждает, что при РЯ уровень IL-6 в крови ассоциирован с концентрацией его в Нф. При CIN и РШМ синтезированный Нф IL-6 выбрасывается в кровь, и определяет опухолеассоциированное воспаление.

Нами выявлена положительная корреляционная связь IL-6 в сыворотке с NLR ($r=0,5201$, $p=0,0468$) при ДОЯ, что также может указывать на участие IL-6 в формировании системного воспаления. Повышение уровня IL-6 также может вызывать активацию NF- κ B сигнального пути (Wang X., et al., 2014). С помощью множественной регрессии была обнаружена связь IL-6, IL-4, IL-10 крови с экспрессией NF- κ B Нф на III стадии РЯ ($R^2=0,2449$, $p=0,0348$), что указывает на влияние циркулирующих цитокинов на активацию Нф. Методом линейной регрессии выявлена связь циркулирующего IL-6 и способности Нф к фагоцитозу при ДОЯ ($R^2=0,2388$, $p=0,0371$) и на начальной стадии РЯ ($R^2=0,3989$, $p=0,0068$), подтверждающая поляризацию Нф в сторону проопухолевого фенотипа. При распространенном РШМ была выявлена взаимосвязь количества CD16⁺Нф с уровнем IL-6 в крови ($R^2=0,5589$, $p=0,0020$), что свидетельствует о влиянии IL-6 на способность Нф к фагоцитозу.

Предполагают, что накопление АФК вызывает повышение экспрессии воспалительных цитокинов (IL-6, IL-10, IL-11b, IL-1 β) и IFN (Jiaxin S., et al., 2020) поскольку продуцируемые Нф АФК могут функционировать как мессенджеры и регулировать клеточные сигнальные пути (MAPK/Erk1/2, Pi 3K/Akt и IKK/NF- κ B) при раке (Liou G.Y., Storz P., 2010). Нами было отмечено, что при распространенном РТМ активность МПО находится во взаимосвязи с уровнем IL-6 в крови ($R^2=0,3244$, $p=0,0247$), что подтверждает влияние циркулирующего IL-6 на повышение миелопероксидазной цитотоксичности Нф. Повышение в плазме уровня провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-1RA вызывает увеличение продукции NETs (Barbu E.A., et al., 2020). Нами выявлена регрессионная взаимосвязь IL-6 крови с ИЛ Нф ($R^2=0,3521$, $p=0,0116$) при начальном РЯ. При РШМ также обнаружена корреляционная связь между IL-6 и ЧЛ в Нф ($r=0,5631$, $p=0,0001$), а повышенный по сравнению с контролем уровень IL-6 в Нф обратно умеренно коррелировал со сниженным ИЛ ($r=-0,3899$, $p=0,0043$), что подтверждает участие IL-6 в процессе NETos.

Таким образом, циркулирующий в крови IL-6 при начальном РЯ и при ДОЯ взаимосвязан с фагоцитарной активностью Нф и на терминальных стадиях РЯ способствует увеличению количества Нф, способных к образованию NET. IL-6 крови может стимулировать через мессенджеры активность NF- κ B, а внутриклеточный IL-6 стимулирует образование NET. При РШМ синтезированный Нф IL-6 выбрасывается в

кровь, и определяет опухолеассоциированное воспаление. Можно предполагать, что при РТМ циркулирующий IL-6 регулирует миелопероксидазную цитотоксичность.

4.3 – Регрессионный анализ взаимосвязи G-CSF и показателей циркулирующих нейтрофилов при онкогинекологической патологии

При РШМ, раке мочевого пузыря выявлена связь уровня G-CSF в сыворотке крови с увеличением количества Нф (Nasu K., et al., 2004). В нашем исследовании уровень G-CSF в крови пациентов при РЯ имел умеренную положительную корреляционную связь с NLR ($r=0,4074$, $p=0,0011$). Однако при ДОЯ на фоне повышенного количества Нф был снижен уровень G-CSF в крови. А уровень циркулирующего G-CSF при ДОЯ ассоциирован с концентрацией G-CSF в Нф ($r=0,6750$, $p=0,0105$), что свидетельствует о вкладе Нф в пул циркулирующего G-CSF при ДОЯ.

По данным Bar-Yehuda S. et al. (2002), активация пути PI3K/NF-kB, ведет к увеличению продукции G-CSF. Методом множественной регрессии выявлена связь суммарно уровней G-CSF, IL-4, IL-10, IL-17A, IFN γ в крови с экспрессией NF-kB в Нф на Пб-IV стадии РШМ ($R^2=0,3915$, $p=0,0001$).

При РЯ снижение G-CSF в крови сопровождается снижением ИЛ ($R^2=0,2464$, $p=0,0001$) и увеличением ЧЛ ($R^2=0,2726$, $p=0,0001$), что указывает на взаимосвязь G-CSF и киллинговой активности NET.

По данным литературы, G-CSF мобилизует циркулирующие Нф человека и усиливает в них экспрессию CD66b, CD11b и CD63 (Coughlan A.M., et al., 2012). Нами при помощи множественной регрессии было выявлено, что при РЯ сывороточный G-CSF совместно с NE оказывал влияние на повышение количества Нф, способных к дегрануляции (CD63⁺Нф) ($R^2=0,3474$, $p=0,0043$). На начальной стадии РШМ обнаружена взаимосвязь уровней G-CSF, IL-4, NE, IL-10, IL-18, VEGF-A крови с количеством CD16⁺Нф ($R^2=0,8043$, $p=0,0003$). На Пб-IV стадии РШМ выявлена обратная регрессионная взаимосвязь уровня G-CSF со сниженным количеством CD16⁺Нф ($R^2=0,5056$, $p=0,0034$). Это может свидетельствовать о том, что циркулирующий G-CSF активирует Нф при РЯ и на начальной стадии РШМ, и угнетает способность к фагоцитозу при распространенном РШМ.

С помощью множественной регрессии было определено, что при РЯ способность Нф к фагоцитозу зависела от циркулирующих совместно G-CSF и IL-2 ($R^2=0,3524$, $p=0,0001$). Была обнаружена взаимосвязь циркулирующего G-CSF с ФЧ Нф на Пб-IV стадии РШМ ($R^2=0,4349$, $p=0,0085$). При миоме матки ФЧ Нф также было связано с G-CSF крови ($R^2=0,5433$, $p=0,0024$). Это свидетельствует о том, что циркулирующий G-CSF ассоциирован со сниженной способностью Нф к фагоцитозу при патологии женской репродуктивной системы.

Таким образом, концентрация циркулирующего G-CSF ассоциирована с уровнем G-CSF в Нф при ДОЯ. G-CSF крови может праймировать Нф, усиливая адгезивные способности на начальной стадии РШМ, и способность к дегрануляции на терминальных стадиях РЯ. G-CSF повышает способность Нф вступать на путь NETos, поляризуя Нф в проопухолевый фенотип при РЯ.

4.4 – Регрессионный анализ взаимосвязи IFN γ и показателей циркулирующих нейтрофилов пациентов с доброкачественными и злокачественными опухолями органов женской репродуктивной системы

IFN I типа индуцирует изменение фенотипа с N2 - на N1-подобный как в мышинных, так и в человеческих Нф (Andzinski L., et al., 2016). Методом множественной линейной регрессии обнаружена зависимость экспрессии NF-kB Нф от суммарного уровня IFN γ , IL-4, IL-6, IL-10, TNF α в крови на начальной стадии РШМ ($R^2=0,4376$, $p=0,0001$), от уровня IFN γ , IL-6 и IL-8 при миоме матки ($R^2=0,9979$, $p=0,0001$). Это свидетельствует о том, что в составе коктейлей циркулирующих цитокинов IFN γ участвовал в активации Нф, а именно, в регуляции главного фактора проопухолевой активности - NF-kB на стадии Ia РШМ и при миоме матки.

Нами выявлено, что при РЯ IFN γ Нф ассоциирован со сниженным ИЛ ($r=-0,5477$, $p=0,0345$), что подтверждает данные Vertin F.R., et al. (2019). Методом линейной регрессии при миоме матки активность Нф в спонтанном НСТ-тесте была обратно регрессионно взаимосвязана с уровнем IFN γ в крови ($R^2=0,5039$, $p=0,0129$), что подтверждает возможность влияния циркулирующего IFN γ на кислородзависимую цитотоксичность противоопухолевых Нф. Также при Ib-IIa РШМ выявлена связь IFN γ крови с МПО Нф ($R^2=0,2961$, $p=0,0115$), что может свидетельствовать о возможности влияния циркулирующего IFN γ на миелопероксидазную цитотоксичность Нф при местноограниченном РШМ.

N1-поляризованные Нф характеризуются высокой секрецией IFN γ (Ohms M., 2020). При миоме матки повышенный уровень IFN γ в Нф по сравнению с контролем заметно коррелировал с уровнем IFN γ в крови ($r=0,6401$, $p=0,0462$), что предполагает зависимость уровня циркулирующего IFN γ от синтеза его в Нф.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что IFN γ участвует в активации NF-kB на стадии Ia РШМ и при миоме матки, ассоциирован со сниженной киллинговой функцией NET при РЯ. IFN γ создает условия для поляризации Нф в противоопухолевый фенотип с повышенной цитотоксичностью при местноограниченном РШМ и миоме матки.

4.5 - Регрессионный анализ взаимосвязи IL-17 и показателей циркулирующих нейтрофилов при доброкачественных и злокачественных опухолях яичников, в прогрессии цервикальной интраэпителиальной неоплазии, при миоме и раке тела матки

По данным литературы, IL-17 крови стимулирует увеличение продукции в Нф цитотоксических молекул и IFN γ , что усиливает способность Нф к прямому уничтожению опухолевых клеток (Kuang D.M., et al., 2011). Нами была обнаружена прямая зависимость способности Нф продуцировать АФК от концентрации IL-17A в крови при ДОЯ ($R^2=0,2380$, $p=0,0374$) и при миоме матки ($R^2=0,4638$, $p=0,0180$). Наши данные подтверждают результаты исследования Nadeem A., et al. (2019), в котором выявлена активация передачи сигналов IL-17A/IL-17R в Нф, что приводило к усилению регуляции фосфо-NF-kB, IL-6 и NOX2/ROS. Это может свидетельствовать о существенной роли IL-17A в модуляции воспаления. С помощью множественной линейной регрессии выявлена взаимосвязь повышенной активности МПО Нф и уровня IL-17A, IL-6 и IL-4 в крови при

миоме матки ($R^2=0,6597$, $p=0,0232$). В нашем исследовании на участие IL-17A крови в модуляции способности к дегрануляции Нф указала обратная связь с количеством CD63⁺Нф ($R^2=0,3249$, $p=0,0245$) на стадии Пб-IV РШМ.

По данным Punt S. et al. (2015), IL-17, экспрессируемый Нф, увеличивает рост клеток или плотность клеточных линий РШМ, что может объяснять один из механизмов онкогенеза на ранней стадии заболевания и способствовать росту опухоли. В нашем исследовании на ранних стадиях РЯ уровень IL-17A в крови ассоциирован с концентрацией IL-17A в Нф ($r=0,6765$, $p=0,0052$). Таким образом, системное воспаление при РЯ возникающее с участием IL-17 (Watanabe T., et al., 2014), связано с синтезированным IL-17A циркулирующими Нф. С использованием линейной регрессии выявлена связь повышенной активности NF-κB в Нф с концентрацией IL-17A в крови при миоме матки ($R^2=0,3972$, $p=0,0301$), что указывает на роль циркулирующего IL-17A в поляризации N2 фенотипа.

Известно, что Нф имеют достаточно низкий уровень фагоцитоза в условиях покоя. Различные активирующие стимулы, появляющиеся в процессе воспаления, либо продуцируемые опухолью, изменяют эффективность фагоцитоза. Эти стимулы включают медиаторы воспаления и цитокины. Сигнализация, которую активируют, либо блокируют эти стимулы, перестраивает молекулярный механизм фагоцитоза (García-García E., et al., 2001). С помощью линейной регрессии в нашем исследовании выявлена обратная связь уровня IL-17A крови с количеством Нф, способных к фагоцитозу при миоме матки ($R^2=0,3583$, $p=0,0396$), и прямая связь с ФЧ Нф при РШМ Пб-IV стадии ($R^2=0,3167$, $p=0,0264$).

Нами установлено, что на Ib-IIa и Пб-IV стадии РШМ продуцируемый Нф IL-17A прямо умеренно коррелирует с VEGF-A в Нф ($r=0,4294$, $p=0,0002$ и $r=0,4702$, $p=0,0007$, соответственно). При распространенном РТМ между уровнем IL-17A и VEGF-A в Нф выявлена высокая корреляционная связь ($r=0,7210$, $p=0,0054$). Следовательно, внутриклеточный IL-17A при распространенных формах РШМ и РТМ ассоциирован с VEGF в Нф, что определяет проангиогенный профиль последних.

Таким образом, повышенный сывороточный уровень IL-17A при ДОЯ увеличивает цитотоксичность Нф. Циркулирующий IL-17A при распространенном РШМ способствует снижению фагоцитарной функции и дегрануляции Нф. Снижение уровня циркулирующего IL-17A при миоме матки ассоциировано со снижением цитотоксичности Нф, увеличением фагоцитарной и миелопероксидазной активности, и повышением экспрессии NF-κB в Нф. Синтезированный Нф IL-17A усиливал их ангиогенный профиль при РТМ и РШМ.

4.6 – Регрессионный анализ взаимосвязи цитокинов семейства IL-2 (IL-2, IL-4) и IL-10 и показателей циркулирующих нейтрофилов при прогрессировании рака яичников, шейки и тела матки

С использованием корреляционного анализа при распространенном РЯ нами была выявлена связь уровня нейтрофилокина IL-2 со сниженной способностью Нф образовывать АФК в спонтанном НСТ-тесте ($r=-0,6354$, $p=0,0001$), что указывает на участие внутриклеточного IL-2 в снижении цитотоксичности Нф. При РЯ начальной стадии уровень IL-2 в крови коррелировал с повышенным уровнем IL-2 в Нф ($r=0,8258$,

$p=0,0215$), что предполагает способность Нф при РЯ синтезировать IL-2 и вносить значимый вклад в его сывороточный пул. При распространенном РТМ сниженный уровень циркулирующего IL-2 ассоциирован со сниженным внутриклеточным уровнем IL-2 ($r=-0,7839$, $p=0,0015$), что может указывать на накопление IL-2 внутри клетки.

Модель включения IL-2, синтезируемого Нф, в NF-kB-зависимый сигналинг при местноограниченном РШМ ($p=0,0466$) объясняла в 43% от общей дисперсии. При миоме матки повышенный по сравнению с контролем уровень экспрессии NF-kB ($R^2=0,4924$, $p=0,0142$) в Нф находился в обратной связи с повышенным уровнем IL-2 в крови, что указывает на усиление проопухолевых функций, активируя NF-kB Нф под влиянием IL-2.

Нами также была выявлена корреляционная связь между уровнем IL-2 в Нф и ЧЛ ($r=-0,4709$, $p=0,0001$) при РЯ, с ИЛ ($r=-0,7266$, $p=0,0006$) и ЧЛ ($r=-0,5769$, $p=0,0122$) при РШМ, с ИЛ ($r=0,6848$, $p=0,0289$) при миоме матки, что подтверждает участие внутриклеточного IL-2 в процессе вступления клетки на путь NETos при опухолях женской репродуктивной системы. При начальных стадиях РТМ методом множественной регрессии была обнаружена связь способности Нф образовывать NET с уровнем IL-2 и VEGF-A в сыворотке ($R^2=0,2982$, $p=0,0078$), а сниженный ИЛ связан с IL-2 и IL-10 ($R^2=0,3153$, $p=0,0059$). Это свидетельствует о том, что нейтрофилокин IL-2 только при миоме матки усиливает, а при РЯ и CIN снижает киллинговые функции NET, а циркулирующий IL-2 способствует NETos при местном РТМ, что усиливает проопухолевые свойства Нф.

При миоме матки сниженное ФЧ ($R^2=0,5371$, $p=0,0096$) находится в обратной взаимосвязи с повышенным уровнем IL-2 в крови, что указывает на роль циркулирующего IL-2 в поляризации Нф в сторону проопухолевого фенотипа.

Методом линейной регрессии при распространенном РШМ была обнаружена зависимость количества CD63⁺Нф от уровня сывороточного IL-2 ($R^2=0,4212$, $p=0,0097$). С помощью множественной регрессии на III стадии РЯ была выявлена взаимосвязь повышенного количества CD95⁺Нф с уровнем IL-2 и NE в сыворотке крови ($R^2=0,3640$, $p=0,0033$). Это может свидетельствовать об участии сывороточного IL-2 в поляризации Нф в сторону противоопухолевого фенотипа при распространенных формах РШМ и РЯ. Также выявлено влияние циркулирующих IL-2, TIMP-1, MCP-1, IL-18 на увеличение ригидности мембраны Нф при ДОЯ ($R^2=0,7128$, $p=0,0018$).

Таким образом, циркулирующий IL-2 при ДОЯ причастен к увеличению ригидности мембраны Нф, влияет на способность Нф к дегрануляции при ДОЯ и распространенном РШМ. На начальной стадии РЯ уровень сывороточного IL-2 ассоциирован с количеством синтезируемого IL-2 в Нф. При распространенном РЯ сывороточный IL-2 снижает способность Нф генерировать АФК и способствует вступлению на путь апоптоза. Циркулирующий IL-2 способствует повышению экспрессии NF-kB в Нф при миоме, а синтезируемый IL-2 в Нф при местноограниченном РШМ входит в NF-kB-зависимый сигналинг. Нейтрофилокин IL-2 только при миоме усиливает, а при РЯ и CIN снижает киллинговые функции NET, а циркулирующий IL-2 способствует NETos при нераспространенном РТМ, что усиливает проопухолевые свойства Нф. Циркулирующий IL-2 может привести к снижению фагоцитарной активности нейтрофилов при миоме.

В нашем исследовании на начальной стадии РЯ ($r=0,9779$, $p=0,0025$) и при распространенном процессе ($r=0,9037$, $p=0,0014$) уровень циркулирующего IL-4

ассоциирован с концентрацией этого цитокина в Нф, что не противоречит данным Bednarz-Misa I., et al. (2020), Brandt E., et al. (2000) и указывает на вклад Нф в пул сывороточного IL-4 при РЯ. Повышенный по сравнению с контролем уровень IL-4 сыворотки крови пациентов при ДОЯ был взаимосвязан с фагоцитарной активностью Нф, что подтверждалось обратной связью в модели линейной регрессии ($R^2=0,3209$, $p=0,0162$).

Если предположить, что реакция с зимозаном позволяет оценить наличие и количество Нф, способных связаться с зимозановыми рецепторами на опухолевых клетках, то выявленная методом линейной регрессии связь циркулирующего IL-4 с показателями НСТ-теста (с неопсонизированным зимозаном $R^2=0,6257$, $p=0,0001$ и с опсонизированным зимозаном $R^2=0,4955$, $p=0,0007$, соответственно) может свидетельствовать о роли IL-4 крови в поляризации Нф в противоопухолевый фенотип при местноограниченном РШМ. И увеличение экспрессии CD16 на Нф зависело от концентрации циркулирующего IL-4 при местноограниченном РШМ ($R^2=0,2856$, $p=0,0130$), что указывает на усиление способности к фагоцитозу - важной противоопухолевой функции Нф. Сниженная концентрация IL-4 в Нф при распространенном РШМ ($r=-0,5605$, $p=0,0001$) была ассоциирована с повышенным уровнем VEGF в Нф, что указывает на снижение противоопухолевых функций и усиление проангиогенных свойств Нф на данной стадии РШМ.

Таким образом, при ДОЯ циркулирующий IL-4 может привести к снижению фагоцитарной активности Нф, а при местноограниченном РШМ – к увеличению способности Нф к фагоцитозу. При CIN, начальном и распространенном РЯ уровень циркулирующего IL-4 напрямую зависит от продукции его Нф. Также при местноограниченном РШМ активность IL-4 определяет способность Нф к генерации АФК. Взаимосвязи IL-4 с показателями Нф при миоме и РТМ выявлено не было.

IL-10, являясь противовоспалительным цитокином, может оказывать мощный регуляторный эффект на фагоцитарную функцию Нф при воспалении (Bober L.A., et al., 2000). При ДОЯ уровень IL-10 в крови значимо повышался по сравнению с контролем и находился в регрессионной взаимосвязи с количеством Нф, вступивших в фагоцитоз ($R^2=0,6467$, $p=0,0002$). На начальной стадии РЯ сниженный уровень IL-10 в Нф обратно коррелировал с повышенным ЧЛ ($r=-0,6811$, $p=0,0052$).

По данным Gallová L. et al. (2004), IL-10 не контролирует напрямую активацию Нф и экспрессию молекул адгезии (CD11b, CD15, CD62L, CD31). В результате проведенного нами исследования была выявлена обратная регрессионная связь повышенного IL-10 сыворотки с количеством циркулирующих CD11b⁺Нф при начальной стадии РЯ ($R^2=0,3959$, $p=0,0040$) и с количеством CD95⁺Нф при нераспространенном РТМ ($R^2=0,5241$, $p=0,0031$), что, возможно, свидетельствует об угнетении адгезивных функций и способности к апоптозу при начальных стадиях РЯ и РТМ, усиливая проопухолевую функцию Нф.

При распространенном РТМ методом множественной регрессии была обнаружена связь NF-κB Нф с циркулирующими в крови IL-10 и IL-1β ($R^2=0,4349$, $p=0,0232$), а внутриклеточный IL-10 прямо связан с активностью NF-κB в Нф ($R^2=0,5433$, $p=0,0024$). Нейтрофилокин IL-10 имел обратную регрессионную связь с экспрессией NF-κB при миоме матки ($R^2=0,4015$, $p=0,0291$). Следовательно, в NF-κB-сигналинг IL-10 входит при миоме и распространенном РТМ.

Таким образом, циркулирующий IL-10 может привести к активированию NF-κB в Нф при распространенном РТМ, при этом внутриклеточный IL-10 включается в NF-κB-сигналинг

при миоме матки и распространенном РТМ. Только при ДОЯ под влиянием IL-10 крови поддерживается на уровне контроля количество фагоцитирующих Нф. При этом на начальной стадии РЯ IL-10 ассоциирован со снижением переваривающей и адгезивной способностью Нф.

4.7 – Регрессионный анализ взаимосвязи хемокинов (IL-8 и MCP-1) и показателей циркулирующих нейтрофилов при доброкачественных и злокачественных опухолях яичников и тела матки, в прогрессии цервикальной интраэпителиальной неоплазии

По данным Lundahl J. et al. (2012), VEGF, IL-6 и IL-8 способствуют увеличению проницаемости эндотелия и миграции Нф. Сниженный уровень IL-8 в Нф ассоциирован с повышенным VEGF в при Ib-IV стадиях РШМ ($r=-0,437$, $p=0,0001$). Полагают, что для усиления эффекта проангиогенных цитокинов Нф увеличивается экспрессия IL-8 (Starckx S., et al., 2002). При миоме матки выявлена корреляционная связь повышенного уровня VEGF со сниженной в Нф концентрацией IL-8 ($r=-0,6647$, $p=0,0360$), что подтверждает участие IL-8 в ангиогенной функции Нф.

Нами были обнаружены обратные корреляционные связи умеренной силы между внутриклеточным IL-8 и повышенным ЧЛ при РЯ ($r=-0,4635$, $p=0,0002$) и при CIN ($r=-0,3766$, $p=0,0374$), подтверждающие участие IL-8 в образовании NET.

В результате проведенного исследования выявлена корреляционная связь IL-8 внутриклеточного и циркулирующего при РЯ ($r=0,5266$, $p=0,0155$), что, вероятно, указывает на участие Нф в поддержании уровня сывороточного IL-8. Также нами была выявлена зависимость способности Нф образовывать АФК в спонтанном НСТ-тесте от уровня циркулирующего IL-8 на начальной стадии РЯ ($R^2=0,2701$, $p=0,0273$) и при РШМ Ia стадии ($R^2=0,2350$, $p=0,0150$), что способствует поляризации Нф в сторону проопухолевого фенотипа на начальных стадиях канцерогенеза.

При ДОЯ уровень IL-8 в крови значимо повышался и имел обратную связь с количеством CD95⁺Нф ($R^2=0,2815$, $p=0,0243$). IL-8 является основным фактором, регулирующим экспрессию CD11b в Нф (Lundahl J., et al., 2012). В результате нашего исследования на стадии Ib-IV РШМ была обнаружена обратная регрессионная взаимосвязь повышенного уровня IL-8 в крови со сниженным количеством активных CD11b⁺Нф ($R^2=0,2482$, $p=0,0477$). Это подтверждает участие IL-8 в снижении количества Нф в популяции с противоопухолевыми свойствами при ДОЯ и распространенном РШМ.

Индукцированный гипоксией IL-8 является ключевой сигнальной осью при рекрутировании Нф в ходе канцерогенеза (Xu L., et al., 1999). В ходе регрессионного анализа нами выявлена обратная взаимосвязь синтезируемого Нф IL-8 с экспрессией NF-κB в 21% от общей дисперсии ($R^2=0,2154$, $p=0,0001$) на терминальных стадиях РЯ.

Таким образом, циркулирующий IL-8 при CIN и РЯ ассоциирован с уровнем IL-8 в Нф. Высвобождаемый IL-8 при РЯ может использовать прямую петлю для рекрутирования Нф. Установлено, что повышающийся уровень IL-8 в крови сопровождается снижением адгезионных способностей Нф при РШМ и способности к апоптозу при ДОЯ. Влияния IL-8 на функции Нф при миоме и РТМ не обнаружены.

Методом корреляционного анализа между уровнем MCP-1 в сыворотке и Нф обнаружена связь при ДОЯ ($r=-0,6321$, $p=0,0027$) и при РЯ ($r=0,4548$, $p=0,0164$), что свидетельствует об отсутствии вклада синтезируемого Нф MCP-1 в сывороточный пул данного хемокина при ДОЯ и заметный вклад синтезируемого Нф MCP-1 в циркулирующий пул при РЯ. Также нами была выявлена связь индекса ловушек с MCP-1 в Нф ($r=0,5279$, $p=0,0430$) на начальной стадии

РЯ. Это может свидетельствовать об участии MCP-1 Нф в образовании NET. Также, возможно, что таким образом Нф способствуют привлечению иммунокомпетентных клеток при развитии РЯ.

С использованием метода линейной регрессии выявлена обратная связь циркулирующего MCP-1 с ригидностью мембраны Нф при миоме матки ($R^2=0,3325$, $p=0,0473$) и прямая связь с ФЧ Нф при распространенном РТМ ($R^2=0,3732$, $p=0,0157$).

Таким образом, ригидность мембраны Нф при миоме, фагоцитарная активность при РТМ зависят от циркулирующего MCP-1. Влияния циркулирующего MCP-1 на фенотип Нф при ДОЯ, РЯ, CIN, РШМ не выявлено. Однако концентрация внутриклеточного MCP-1 была ассоциирована со способностью к NETos при РЯ I-II стадии.

4.8 – Регрессионный анализ взаимосвязи TNF α и показателей циркулирующих нейтрофилов при неопластических процессах органов женской репродуктивной системы

Высокий системный уровень TNF α и IL-8 инициирует активацию и миграцию Нф в очаг воспаления (Zhao X., et al., 2012). Методом линейной регрессии нами была выявлена зависимость количества Нф, способных к дегрануляции (CD63), от циркулирующего TNF α в 40% от общей дисперсии ($p=0,0074$) при ДОЯ, что подтверждает участие цитокина в активации Нф при данной патологии. Также при миоме матки выявлена обратная связь экспрессии маркера адгезии Нф, CD11b с уровнем TNF α в крови в 41,5% случаев от общей дисперсии ($p=0,0263$). Это свидетельствует о том, что циркулирующий TNF α при миоме и РТМ I стадии может способствовать поляризации Нф в проопухолевый фенотип.

В результате регрессионного анализа была выявлена связь нейтрофилокина TNF α NF-kB на начальной стадии РЯ ($R^2=0,3098$, $p=0,0191$). Также выявлена обратная корреляционная связь заметной силы между уровнем TNF α в Нф и сниженным ИЛ ($r=-0,5838$, $p=0,0223$) при начальном РЯ. А на Ib-IV стадии РШМ внутриклеточный TNF α прямо высоко коррелировал с ЧЛ на ($r=0,8338$, $p=0,0004$). Таким образом, при начальном РЯ TNF α в Нф ассоциирован со сниженным ИЛ, а при распространенном РШМ с повышенным ЧЛ, что указывает на участие TNF α в NETos при изученных патологиях.

Показано, что концентрация внутриклеточного TNF α ассоциирована с уровнем TNF α в крови при CIN ($r=0,4684$, $p=0,0001$), а при Ib-IV стадии РШМ - с уровнем VEGF-A в Нф ($r=0,3713$, $p=0,0023$), что указывает на влияние TNF α на ангиогенные свойства Нф.

Таким образом, TNF α при начальных стадиях РЯ включается в NF-kB-зависимый сигналинг Нф, способствует повышению ИЛ. При ДОЯ TNF α вероятно влияние на количество CD63⁺Нф. При CIN циркулирующий TNF α ассоциирован с уровнем цитокина, продуцируемого в Нф. При распространенном РШМ внутриклеточный TNF α ассоциирован с продукцией VEGF-A в Нф, и со способностью образовывать NET. При миоме циркулирующий TNF α может привести к повышению адгезионных свойств нейтрофилов.

4.9 – Регрессионный анализ взаимосвязи нейтрофильной эластазы и показателей циркулирующих нейтрофилов при онкогинекологической патологии

В экспериментальной работе Shu-Chuan Ho et al. (2017), было доказано, что нейтрофильная эластаза (NE) является стимулятором пути RelB/NF-kB. Нами методом регрессионного анализа была выявлена взаимосвязь экспрессии NF-kB с уровнем NE в Нф при ДОЯ ($R^2=0,2855$, $p=0,0233$), что позволяет предполагать участие NF-kB в регуляции

синтеза NE Нф. При миоме матки экспрессия NF-kB Нф находилась в обратной зависимости от активности NE в крови ($R^2=0,5937$, $p=0,0055$).

NE, продуцируемая Нф, может способствовать миграции и экстравазации опухолевых клеток (Wang Y., et al., 2019) и экспрессии CD11b Нф (Strell C., et al., 2010). В нашем исследовании NE крови была выявлена обратная зависимость с количеством активных CD11b⁺Нф при РШМ ($R^2=0,3664$, $p=0,0167$).

Установлено, что индуцированный NE апоптоз эпителиальных клеток опосредуется через NF-kB и p53 (Kobatake K., et al., 2020). В нашем исследовании количество CD95⁺Нф связано с NE крови при миоме матки ($R^2=0,3564$, $p=0,0402$). Таким образом, циркулирующая NE влияет на адгезионные свойства Нф при РШМ, запускает дегрануляцию и апоптоз Нф при миоме матки.

По данным Huang H. et al. (2020), NE и NET выполняют ключевую регуляторную функцию в микросреде опухоли, участвуя в пролиферации опухоли, метастазов. Также NE, высвобождаемая из NET, усиливает митохондриальный биогенез и ускоренный рост опухолевых клеток (Yazdani H.O., et al., 2019). Методом множественной регрессии выявлено влияние NE, VEGF, TNF α , IL-2, IL-6, IL-17A крови на ЧЛ при РЯ ($R^2=0,5310$, $p=0,0029$). При РШМ обнаружена корреляционная связь внутриклеточной NE с ЧЛ ($r=-0,4074$, $p=0,0031$). Таким образом, при РЯ циркулирующая NE способствовала поляризации Нф в сторону проопухолевого фенотипа. Ассоциированная с параметрами NET при РШМ NE в нейтрофилах может способствовать прогрессированию опухоли.

Чрезмерная активация Нф приводит к высвобождению NE (Domon H., et al., 2018). На терминальных стадиях РЯ повышенный уровень в крови NE ассоциирован с уровнем NE в Нф ($r=0,4351$, $p=0,0365$), что подтверждает активацию Нф и их основной вклад в увеличение уровня циркулирующей NE. Методом линейной регрессии выявлено влияние циркулирующей NE на NLR ($R^2=0,3649$, $p=0,0379$) и способность Нф к фагоцитозу ($R^2=0,3312$, $p=0,0477$) при миоме матки.

По данным Nattar K., et al. (2010), NE и АФК Нф повышают проницаемость эндотелия. Влияние циркулирующей NE на способность Нф генерировать АФК было выявлено в модели линейной регрессии на I стадии РТМ ($R^2=0,2362$, $p=0,0236$). При распространенном РТМ от уровня NE в крови зависело снижение активности МПО в Нф ($R^2=0,2807$, $p=0,0362$), что также подтверждает участие NE в поляризации Нф со сниженной миелопероксидазной цитотоксичностью.

Таким образом, NE входит в NF-kB-сигналинг при ДОЯ, циркулирующая NE влияет на адгезионные свойства Нф при РШМ, запускает дегрануляцию, апоптоз и NETos Нф при РЯ, взаимосвязана с кислородзависимой цитотоксичностью на начальных стадиях РТМ.

4.10 – Регрессионный анализ взаимосвязи васкулоэндотелиального фактора роста и показателей циркулирующих нейтрофилов при прогрессировании рака яичников, шейки и тела матки

По данным Dutta S., et al. (2011) путь NF-kB играет важную роль в передаче сигналов васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) и инвазии эпителиальной опухоли яичников. NF-kB участвует в регуляции экспрессии мРНК VEGF (Shibata A., et al., 2002). В нашем исследовании повышенный в сравнении с контролем синтез VEGF Нф, в

регрессионном анализе имел взаимосвязь с экспрессией NF-kB в Нф при РЯ ($R^2=0,1941$, $p=0,0002$), что, вероятно, указывает на включение NF-kB и VEGF в один сигнальный путь в Нф.

В результате проведенного анализа обнаружено, что экспрессия CD95 на Нф прямо регрессионно взаимосвязана с уровнем циркулирующего VEGF при РЯ I-II стадии ($R^2=0,4465$, $p=0,0020$) и обратно при миоме ($R^2=0,6626$, $p=0,0025$). При распространенном РЯ выявлена заметная прямая корреляционная связь ИЛ с уровнем VEGF в Нф ($r=0,6525$, $p=0,0018$), что подтверждает участие VEGF в функциональной активности NET. При миоме циркулирующий VEGF взаимосвязан с количеством Нф, способных образовывать NET ($R^2=0,7079$, $p=0,0014$), что указывает на поляризацию Нф в проопухолевый фенотип.

Таким образом, повышение сывороточного VEGF при миоме способствует вступлению Нф на путь NETos и апоптоза. При РЯ внутриклеточный VEGF ассоциирован с ИЛ. При патологии шейки матки и ДОЯ влияние VEGF на функциональное состояние Нф не обнаружено.

4.11 – Регрессионный анализ взаимосвязи матриксных металлопротеиназ, тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 и показателей циркулирующих нейтрофилов при доброкачественных и злокачественных опухолях яичников и тела матки, в прогрессии цервикальной интраэпителиальной неоплазии

В нашем исследовании уровни MMP-1 в крови и в Нф коррелировали при миоме матки ($r=0,6565$, $p=0,0392$), при CIN ($r=0,5587$, $p=0,0011$). Уровень MMP-13 в крови был ассоциирован с концентрацией MMP-13 в Нф при миоме матки ($r=0,9515$, $p=0,0001$), при РЯ ($r=0,4582$, $p=0,0345$), при CIN ($r=0,8683$, $p=0,0001$). Для разнонаправленной динамики уровня MMP-13 в сыворотке крови и Нф при РТМ характерна обратная умеренная корреляционная связь ($r=-0,4933$, $p=0,0056$), что подтвердило ассоциацию циркулирующего MMP-13 с уровнем синтеза в Нф при исследуемых патологиях женской репродуктивной системы. Также обнаружена умеренная обратная корреляционная связь между уровнем TIMP-1 циркулирующего в крови и Нф при РТМ ($r=-0,3695$, $p=0,0445$).

Таким образом, циркулирующий MMP-13 при миоме, РТМ, РЯ и CIN; MMP-1 при миоме и CIN, TIMP-1 при РТМ ассоциированы с концентрацией одноименных цитокинов в Нф.

MMPs - индуцируют высвобождение компонентов внеклеточного матрикса и облегчают миграцию Нф к месту воспаления, усиливают действие хемоаттрактантов для Нф - CXCL8 и CXCL5 (Tester A.M., et al, 2007). Методом линейной регрессии нами была обнаружена обратная зависимость NLR от MMP-1 крови при миоме матки ($R^2=0,3528$, $p=0,0412$), что может быть результатом участия MMP-1 в процессах воспаления при данной патологии. Нф являются основным источником MMP-9, который участвует в пролиферации опухолевых клеток и снижении их апоптоза (Acuff H.V., et al, 2006). Под влиянием MMPs не запускается программа апоптоза, активно усугубляется воспаление, активируя неапоптотические сигнальные пути, включая пути NF-kB и PI3K (O' Reilly L.A. et al, 2009; Tauzin S., et al, 2011). Методом линейной регрессии нами выявлена связь количества CD95⁺Нф с уровнем MMP-13 в крови при РТМ ($R^2=0,4381$, $p=0,0221$), что подтверждает участие MMP-13 в активации апоптоза Нф.

Используя метод множественной регрессии нами также выявлена взаимосвязь циркулирующих MMP-9, MMP-1, MMP-13 с количеством активированных CD63⁺Нф при ДОЯ ($R^2=0,8451$, $p=0,0002$), что указывает на участие этих MMPs в поляризации Нф в противоопухолевый фенотип. Выявлена зависимость количества способных к дегрануляции циркулирующих Нф от уровня циркулирующего TIMP-1 при миоме матки ($R^2=0,4423$, $p=0,0214$), что также указывает на влияние TIMP-1 на активацию противоопухолевого фенотипа.

Таким образом, циркулирующие MMP-1, MMP-9, MMP-13, TIMP-1 при ДОЯ и миоме способствуют активации дегрануляции Нф, усиливая их противоопухолевые функции. При злокачественных опухолях женской репродуктивной системы таких влияний не обнаружено.

В исследованиях Partyka R. et al., (2012), Xu X., et al. (2020), показана значимая корреляция между повышенной экспрессией VEGF и MMP-2 в тканях рака желудка у пациентов с метастазами, карциномой молочной железы, что подтверждает участие MMP-2 в инвазивности неоплазмы. При ДОЯ уровни MMP-2 и VEGF в Нф коррелировали между собой с заметной силой ($r=-0,6199$, $p=0,0275$). При РШМ повышенный VEGF-A прямо умеренно коррелировал с концентрацией MMP-2 в Нф ($r=0,3613$, $p=0,0085$), что подтверждает усиление проангиогенных функций Нф и участие MMP-2, синтезируемой гранулоцитами, в ангиогенезе и может способствовать прогрессированию РШМ.

В работе Wang Y. et al. (2019), показано, что Нф - важный клеточный компонент опухолевого микроокружения, они индуцируют эпителиально-мезенхимальный переход клеток рака молочной железы с помощью TIMP-1. Нами выявлена прямая регрессионная связь NF-kB Нф с повышенным уровнем TIMP-1 в крови при миоме матки ($R^2=0,3564$, $p=0,0402$), что свидетельствует о включении TIMP-1 в NF-kB-сигналинг при данной патологии.

TIMP-1 локализуется с MMP-8 и MMP-9 на активированных Нф человека и в NET (Hanahan D., Weinberg R.A., 2011). Было обнаружено, что TIMP-1 обладает способностью уменьшать образование NET (Duarte S., et al., 2018). При миоме матки методом линейной регрессии выявлена обратная связь ЧЛ с MMP-2 крови ($R^2=0,3310$, $p=0,0478$) и ассоциировано с концентрацией TIMP-1 в Нф ($r=0,7091$, $p=0,0217$), что может свидетельствовать о влиянии циркулирующего MMP-2 на снижение способности к NETos и о связи внутриклеточного TIMP-1 с NET. С активностью MMP-2 связана реорганизации цитоскелета злокачественных клеток, что облегчают отделение последних от первичной ткани (Sbardella D., et al., 2012). Вероятно, что циркулирующий MMP-2 обуславливает изменение ригидности мембраны Нф при миоме матки, что подтверждается обратной связью в модели линейной регрессии ($R^2=0,5482$, $p=0,0087$). Это указывает на участие MMP-2 в снижении противоопухолевых свойств Нф.

Таким образом, уровень циркулирующего MMP-13 при миоме, РТМ, РЯ, CIN, а также MMP-1 при миоме и CIN и TIMP-1 при РТМ ассоциированы с концентрацией одноименных нейтрофилокинов. Только при миоме циркулирующий MMP-1 влияет на NLR, демонстрируя участие в процессах воспаления. Циркулирующие MMP-1, MMP-9, MMP-13, TIMP-1 при ДОЯ и миоме способствуют активации дегрануляции Нф, усиливая их противоопухолевые функции. Усилению проангиогенных функций Нф способствуют

внутриклеточные MMP-2 при РШМ. Только при миоме внутриклеточный TIMP-1 входит в NF-kB-сигналинг и ассоциирован с NETos, а циркулирующий MMP-2 снижает ригидность и способность к NET-образованию. NF-kB Нф может способствовать индукции NET (Lee W., et al., 2019). Только при РЯ методом линейной регрессии выявлена зависимость числа NET от экспрессии NF-kB ($R^2=0,4768$, $p=0,0001$).

В итоге, выявлено влияние различных MMPs при анализируемых в диссертационной работе локализациях опухоли женской репродуктивной системы на исследуемые параметры нейтрофилов. Только при CIN не было обнаружено влияние MMPs и TIMP-1 в чистом виде на функции Нф.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Циркулирующие нейтрофилы (Нф) являются значимыми посредниками системных эффектов неопластического процесса. Циркулирующие цитокины и хемокины определяют про- (N2) и противоопухолевую (N1) активность Нф. На *рисунке 17* представлены цитокины, ассоциированные с N1 и N2 при доброкачественных опухолях яичников (ДОЯ).

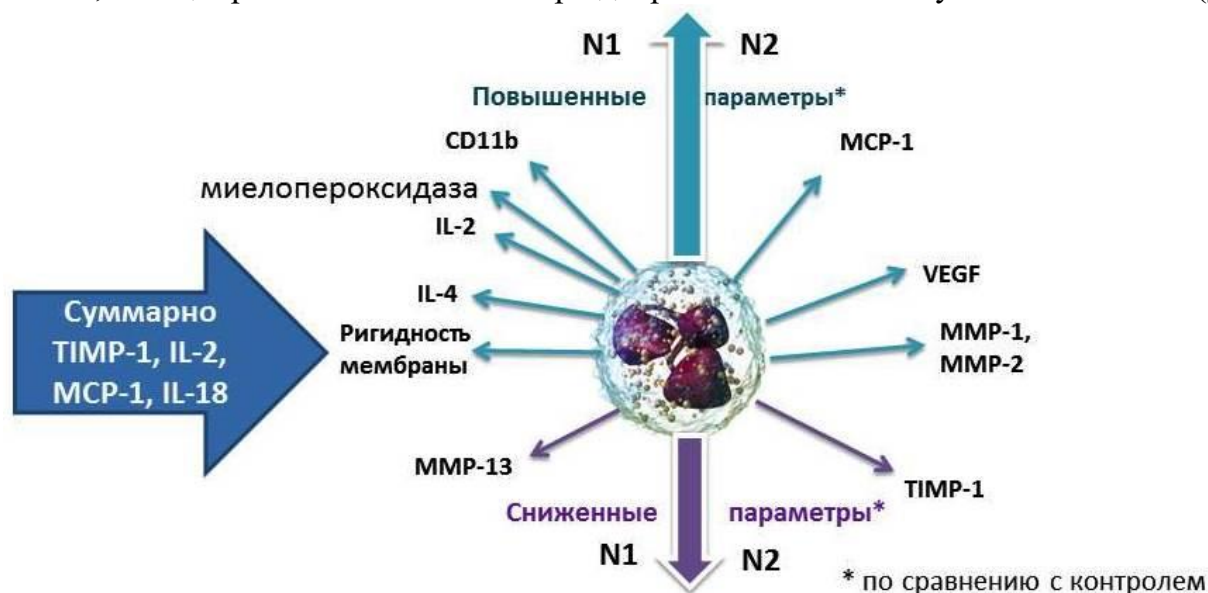


Рисунок 17 - Участие циркулирующих цитокинов в формировании N1 и N2 фенотипов при доброкачественных опухолях яичников (параметры N1 фенотипа слева, N2 - справа)

Примечание: MCP - моноцитарный хемотаксический протеин, MMP - матриксная металлопротеиназа, N1 - противоопухолевый фенотип, N2 - проопухолевый фенотип. VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, TIMP - тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ.

Продуцируемые при развитии злокачественной опухоли яичника факторы способствовали увеличению выхода Нф в кровотоки и увеличению в них синтеза провоспалительных цитокинов, ангиогенных факторов и протеиназ. На *рисунке 18* представлены циркулирующие цитокины, участвующие в формировании N1 и N2.

Вероятно, что NF-kB участвует в поляризации Нф при раке яичников (РЯ) в сторону проопухолевого фенотипа, так как увеличение экспрессии NF-kB приводит к повышению синтеза в Нф IL-6, IL-8, VEGF-A, TNF α (*рисунке 19*).



Рисунок 18 - Участие циркулирующих цитокинов в формировании N1 и N2 фенотипов на разных стадиях рака яичников

Примечание: АФК - активные формы кислорода, MCP - моноцитарный хемотаксический протеин, MMP – матриксная металлопротеиназа, N1 - противоопухолевый фенотип, N2 - проопухолевый фенотип, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, TIMP – тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ.

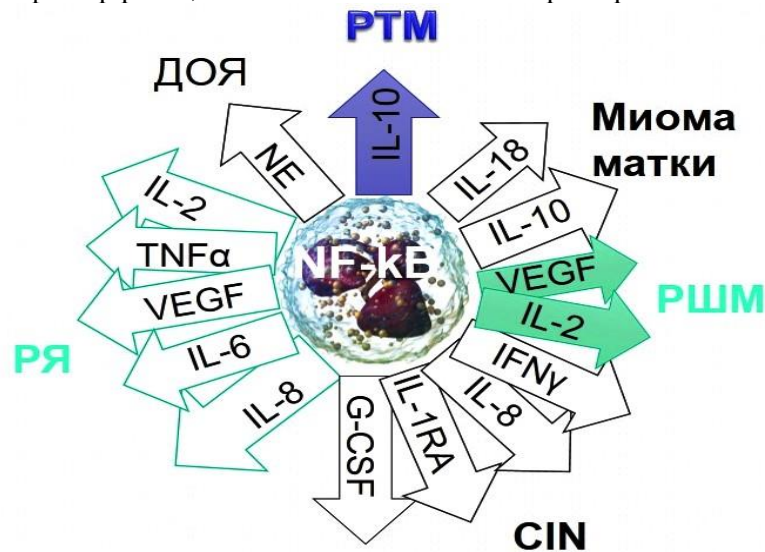


Рисунок 19 – Нейтрофилокины, входящие в NF-kB-сигналинг при опухолях женской репродуктивной системы

Примечание: ДОЯ - доброкачественные опухоли яичников, РТМ - рак тела матки, РЯ - рак яичников, СИН - цервикальная интраэпителиальная неоплазия.

Вероятность возникновения РЯ возрастает при повышенном уровне IL-1 β (более 1,697 пг/мл), и одновременно сниженных уровнях в сыворотке крови G-CSF (менее 0,749 пг/мл) и IL-17A (менее 52,796 пг/мл), при одновременно повышенном уровне МПО (более 2,60 СЦК) и АФК (более 1,08 СЦК) в Нф, и сниженном уровне IFN γ (менее 4,525 пг/мл) в Нф.

Таким образом, результаты полученные методом множественной и линейной регрессии позволяют выявить коктейли сывороточных и единичные цитокины, а также факторы, которые находятся в NF-kB сигналинге, поляризующие циркулирующие Нф в

про- и противоопухолевые популяции в системном кровотоке при ДОЯ и РЯ. Маркерами при дифференциальной диагностике РЯ и ДОЯ могут служить - IL-1 β , G-CSF и IL-17A в сыворотке крови, а также активность МПО, IFN γ в Нф и их активность в НСТ-тесте.

Коктейль циркулирующих цитокинов, участвующих в формировании N1 и N2 при CIN, представлен на *рисунке 20*. Регрессионный анализ позволил установить участие циркулирующих цитокинов в формировании N1 и N2 на разных стадиях рака шейки матки (РШМ) (*рисунк 21*). Риск возникновения РШМ возрастает при сниженных уровнях G-CSF (менее 33,937 пг/мл) и IFN γ (менее 9,137 пг/мл), и одновременно повышенном в сыворотке крови уровне IL-2 (более 3,991 пг/мл), при сниженных уровнях IL-8 (менее 108,694 пг/мл) и ИЛ (менее 1,8 у.е.), и одновременно повышенном уровне в Нф NE (более 0,817 нг/мл).

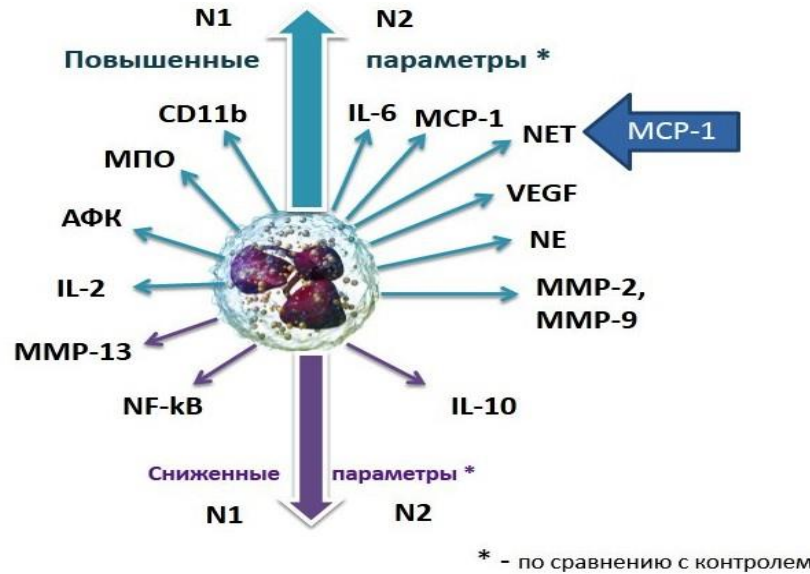
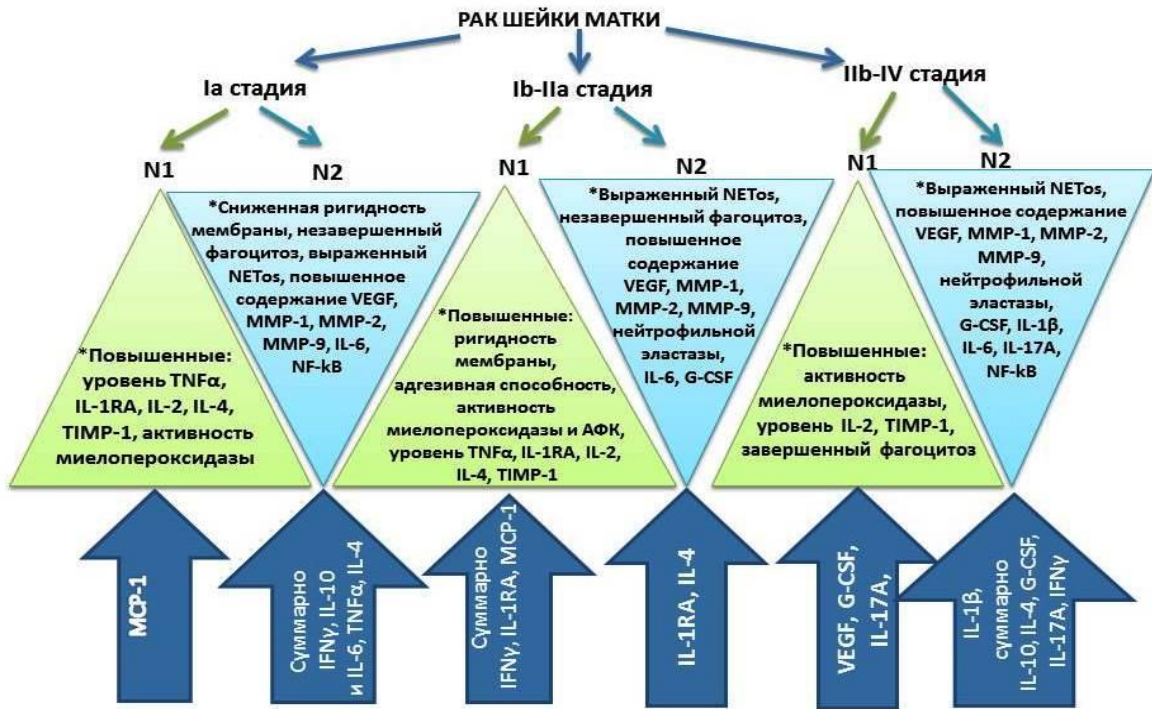


Рисунок 20 - Участие циркулирующих цитокинов в формировании N1 и N2 фенотипов при CIN (параметры N1 фенотипа слева, N2 - справа)

Примечание: АФК - активные формы кислорода, МПО - миелопероксидаза, MCP - моноцитарный хемотаксический протеин, MMP – матриксная металлопротеиназа, N1 - противоопухолевый фенотип, N2 - проопухолевый фенотип, NE - нейтрофильная эластаза, NF-kB - ядерный фактор-каппа В, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста.

Таким образом, результаты, полученные методом множественной и линейной регрессии, позволяют выявить коктейли и единичные сывороточные цитокины, поляризирующие Нф в про- и противоопухолевые популяции в системном кровотоке при РШМ. Также определены нейтрофилокины, входящие в NF-kB-зависимый сигналинг. Маркерами при дифференциальной диагностике РШМ и CIN могут служить - G-CSF, IL-2 и IFN γ в сыворотке крови, а также активность NE, IL-8 в Нф и индекс ловушек.

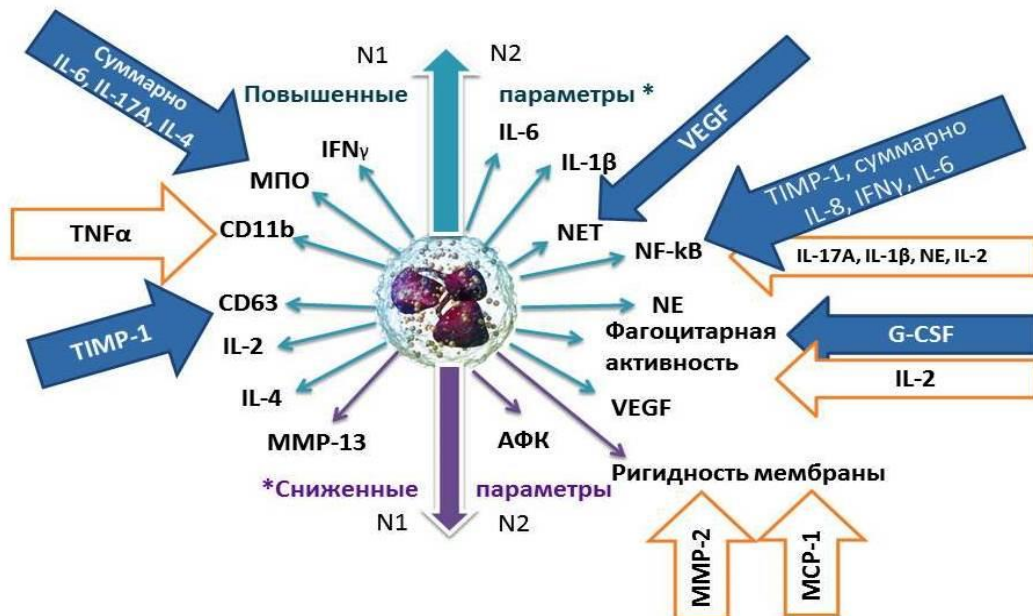
Участие циркулирующих цитокинов в формировании N1 и N2 при миоме матки представлено на *рисунке 22*. Нейтрофилокины, составляющие этот коктейль и входящие в NF-kB-сигналинг, представлены на *рисунке 16*. Регрессионный анализ позволил установить участие циркулирующих цитокинов в формировании N1 и N2 на различных стадиях рака тела матки (РТМ) (*рисунк 23*). Риск возникновения РТМ возрастал при одновременно повышенных уровнях IL-1RA (более 284,22 пг/мл) и IL-6 (более 13,45 пг/мл) или MCP-1 (более 255,14 пг/мл) в сыворотке крови, а также при одновременно повышенных уровнях MCP-1 (более 20,147 пг/мл) в циркулирующих Нф и сниженной способности захватывать частицы с помощью NET (менее 1,32 у.е.).



* по сравнению с контролем

Рисунок 21 - Участие циркулирующих цитокинов в формировании N1 и N2 фенотипов на разных стадиях рака шейки матки

Примечание: АФК - активные формы кислорода, IFN – интерферон, MCP - моноцитарный хемотаксический протеин, MMP – матриксная металлопротеиназа, N1 - противоопухолевый фенотип, N2 - проопухолевый фенотип, NET - внеклеточные нейтрофильные ловушки, NF-kB - ядерный фактор-каппа В, TNF - фактор некроза опухоли, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста, TIMP – тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ.



* - по сравнению с контролем

Рисунок 22 - Участие циркулирующих цитокинов в формировании N1 и N2 фенотипов при миоме матки (параметры N1 фенотипа слева, N2 - справа)

Примечание: АФК - активные формы кислорода, МПО - миелопероксидаза, G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, MMP – матриксная металлопротеиназа, N1 - противоопухолевый фенотип, N2 - проопухолевый фенотип, NET - внеклеточные нейтрофильные ловушки, NF-kB - ядерный фактор-каппаВ, TIMP – тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ, TNF - фактор некроза опухоли, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста.

Опухолеассоциированное воспаление сопровождается выработкой различных типов хемокинов и цитокинов. Провоспалительная функция Нф регулируются NF-kB, который является центральным фактором транскрипции и изменяет в Нф экспрессию генов цитокинов. Нами выявлено влияние циркулирующих цитокинов при различных локализациях гинекологического рака на экспрессию ядерного NF-kB в Нф. Следовательно, таргетное ингибирование специфической экспрессии генов этого сигнального пути может являться мишенью для предотвращения опухолеассоциированного воспаления. Поляризация Нф в проопухолевый фенотип имеет место для РЯ и РТМ уже при доброкачественных опухолях и на стадии CIN. Каждая исследуемая локализация опухоли характеризовалась индивидуальным коктейлем цитокинов, способствующих поляризации N2.



* по сравнению с контролем

Рисунок 23 - Участие циркулирующих цитокинов в формировании N1 и N2 фенотипов на разных стадиях рака тела матки

Примечание: G-CSF - гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, MCP - моноцитарный хемотаксический протеин, MMP – матриксная металлопротеиназа, N1 - противоопухолевый фенотип, N2 - проопухолевый фенотип, NET - внеклеточные нейтрофильные ловушки, NF-kB - ядерный фактор-каппа В, VEGF - васкулоэндотелиальный фактор роста.

Понимание потенциальной роли «перепрограммированных опухолью» Нф необходимо для разработки методов лечения рака. При этом, цитокины регулирующие функции Нф, являются потенциальными терапевтическими мишенями для модулирования этих функций.

ВЫВОДЫ

1. Цитокины периферической крови могут определять праймирование нейтрофилов и участие ядерного фактора-каппаВ (NF-kB) в регуляции продукции нейтрофилокинов: нейтрофильная эластаза (NE) при доброкачественных опухолях яичников, IL-6, IL-8, фактора некроза опухоли (TNFα) при раке яичников, IL-2 при раке шейки матки, IL-18, IL-10 при миоме матки, IL-10 при раке тела матки.

2. Выявлена взаимосвязь циркулирующих цитокинов с повышением ригидности и адгезионных свойств мембраны нейтрофилов: при доброкачественных опухолях яичников - тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ-1 (TIMP-1), IL-2, IL-18, моноцитарный

хемотаксический протеин-1 (MCP-1), на начальных стадиях рака яичников - IL-17A и IL-10, при раке шейки матки - суммарно IFN γ , IL-1RA, MCP-1 и NE, при миоме матки - MCP-1 и матриксная металлопротеиназа-2 (MMP-2), а также NE, о чем свидетельствует коэффициент линейной регрессии.

3. Цитокины крови могут определять способность нейтрофилов к фагоцитозу: при доброкачественных опухолях яичников - IL-10, при раке яичников - гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), IL-2, MMP-13 и на начальных стадиях - IL-6, при раке шейки матки – суммарно IL-4, IL-10, IL-18, G-CSF, NE, васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), а также IL-1 β , IL-6, MCP-1, G-CSF, при миоме матки - IL-17A и NE, при раке тела матки - MCP-1, о чем свидетельствует модель линейной регрессии.

4. На повышение дегрануляции нейтрофилов могут влиять циркулирующие цитокины: при доброкачественных опухолях яичников – суммарно MMP-1, MMP-9, MMP-13, при раке яичников – суммарно G-CSF и NE, при раке шейки матки – IL-1 β , IL-2, IL-17A, при миоме матки - TIMP-1, при раке тела матки - IL-18, о чем свидетельствует коэффициент регрессионной взаимосвязи этих параметров.

5. Методом линейной регрессии выявлено цитокиновое микроокружение, которое может определять цитотоксичность нейтрофилов: при доброкачественных опухолях яичников – IL-1RA, при раке яичников – суммарно G-CSF и IL-10, а также IL-8, при местноограниченном раке шейки матки – IL-1RA, при распространенном раке шейки матки IL-1 β , при миоме матки – суммарно IL-4, IL-6, IL-17A, а также IFN γ , при раке тела матки - IL-6, NE, IL-18.

6. Циркулирующие цитокины могут способствовать вступлению нейтрофилов на путь апоптоза: при доброкачественных опухолях яичников – MMP-9 и IL-8, при распространенном раке яичников – суммарно IL-1RA, IL-2, NE, при местноограниченном раке шейки матки – IL-1RA, при миоме матки – VEGF, MMP-13, NE, что подтверждается в модели линейной регрессии.

7. Регрессионный анализ показал взаимосвязь цитокинов периферической крови и способности нейтрофилов к нетозу: при раке яичников – IL-2, IL-6, IL-17A, TNF α , VEGF, NE, при дисплазии - MCP-1, при миоме матки – VEGF, MMP-2, при начальных стадиях раке тела матки - IL-2 и VEGF.

8. Корреляционный анализ показал связь нейтрофилокинов с ангиогенным фактором гранулоцитов: при доброкачественных опухолях яичников – MMP-2, при раке яичников – IL-6, G-CSF, при цервикальной интраэпителиальной неоплазии - IL-1 β , TNF α , при раке шейки матки - IL-4, IL-10, IL-2, IL-17A, IL-8, IL-18, MMP-2 и TIMP-1, при миоме матки- IL-8, при раке тела матки - IL-17A.

9. Внутриклеточные цитокины ассоциированы с киллинговой активностью NET: при доброкачественных опухолях яичников – IL-18, при раке яичников – MCP-1, IFN γ , TNF α , а также NF-kB, при цервикальной интраэпителиальной неоплазии - IL-8, IL-1 β , при раке шейки матки - NE, G-CSF, IL-6, TNF α , при миоме матки- IL-2, TIMP-1, при раке тела матки - IL-17A.

10. Маркерами дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей яичников может служить предложенный перечень параметров - уровень IL-1 β , G-CSF и IL-17A сыворотки, и активность МПО, АФК, IFN γ в нейтрофилах; рака шейки матки и дисплазии - уровень G-CSF, IFN γ , IL-2 в сыворотке крови, а также IL-8, NE и индекс ловушек нейтрофилов; рака тела и миомы матки - уровень IL-1RA, IL-6/MCP-1 в сыворотке крови, а также MCP-1 и индекс ловушек циркулирующих нейтрофилов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В практике онкоиммунологии для оценки вероятности 97,6% развития рака яичника могут быть использованы: уровень IL-1 β , G-CSF и IL-17A в сыворотке крови, и при значениях IL-1 β более 1,697 пг/мл, G-CSF менее 0,749 пг/мл и IL-17A менее 52,796 пг/мл можно предположить развитие рака яичников.

2. Оценить риск развития рака яичника возможно по значениям уровня миелопероксидазы (более 2,60 СЦК) и $IFN\gamma$ (менее 4,525 пг/мл) в нейтрофилах, и активности последних в НСТ-тесте (более 1,08 СЦК) с вероятностью 95,1%.

3. Чтобы оценить риск возникновения рака шейки матки, необходимо определить уровень G-CSF, IL-2 и $IFN\gamma$ в сыворотке крови, и при значениях G-CSF менее 33,937 пг/мл и $IFN\gamma$ менее 9,137 пг/мл, а также одновременно повышенном уровне IL-2 (более 3,991 пг/мл) можно предположить развитие рака шейки матки с вероятностью 96.2%.

4. Возникновение рака шейки матки при значении индекса ловушек (менее 1,8 у.е.) и уровню нейтрофилокинов IL-8 (менее 108,694 пг/мл) и нейтрофильной эластазы (более 0,817 нг/мл) возможно с вероятностью 100%.

5. Для оценки риска возникновения рака тела матки необходимо определить концентрации IL-1RA и IL-6/MCP-1 в сыворотке крови, MCP-1 в лизате нейтрофилов и величины индекса ловушек. При значениях IL-1RA более 284,22 пг/мл, IL-6 более 13,45 пг/мл / MCP-1 более 255,14 пг/мл в сыворотке можно диагностировать рак тела матки с вероятностью с 96.2%/88.5%, а при уровне MCP-1 более 20,147 пг/мл в циркулирующих нейтрофилах, а также индексе ловушек менее 1,32 у.е. – с вероятностью 96 %.

6. Определение в сыворотке крови уровней цитокинов, влияющих на активацию NF-kB, цитотоксичность нейтрофилов и эффекторы NF-kB-сигнального пути в нейтрофилах: нейтрофильная эластаза - при доброкачественных опухолях яичников, $TNF\alpha$ - при раке яичников I-II стадии, IL-2 – при раке шейки матки на Ib-IIa стадии, IL-18, IL-10 - при миоме матки, IL-10 - при распространенном раке тела матки, позволяют оценить наличие опухолеассоциированного воспаления.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рецензируемых ВАК, и в международных реферативных базах данных Scopus и Web of Science

1. Влияние провоспалительных цитокинов на ригидность мембраны и морфофункциональное состояние циркулирующих нейтрофилов при опухолях яичников / Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, С.О. Генинг, И.И. Антонева, А.Б. Песков // Медицинская иммунология. 2022. Т. 24, № 1. С. 1357-1366. doi:10.15789/1563-0625-IOP-2333 (ИФ РИНЦ – 0.740, Q4. IF Scopus – 0.13).

2. Абакумова, Т.В. Ангиогенный потенциал нейтрофилов циркулирующей крови при раке эндометрия / Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, С.О. Генинг, И.И. Антонева // Медицинская иммунология. 2021. №2. С.317-322. doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1127-1138 (ИФ РИНЦ – 0.740, Q4. IF Scopus – 0.13).

3. Нейтрофилокины и морфофункциональное состояние циркулирующих нейтрофилов при опухолях яичников / Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, И.И. Антонева, С.О. Генинг, В.В. Гноевых // Российский иммунологический журнал. 2021. Т.24, №3. С. 355-362. doi: 10.46235/1028-7221-985-NAT (ИФ РИНЦ - 0.671).

4. Abakumova, T. CCL2 expression and the neutrophil plasma membrane characteristics in blood in different stages of endometrial cancer / T. Abakumova, S. Gening, T. Gening // Annals of Oncology. 2021. Vol. 32, suppl_6. S1345-S1371. 10.1016/annonc/annonc740 (Q1. IF WoS – 32,976).

5. Abakumova, T. CCL2 in Regulation of the Circulating Neutrophils Killing Capacity in the Uterine Body Tumors / T. Abakumova, S. Gening, T. Gening // European Journal of Clinical Investigation. 2021. Vol. 51, iss. S1. doi.org/10.1111/eci.13567 (Q2. IF WoS – 4.686).

6. Abakumova, T. IL-17A and CCL2 in blood serum and circulating neutrophils in patients with ovarian tumors / T. Abakumova, S. Gening, T. Gening // J Clin Oncol. 2021. Vol.39, suppl 15; abstr e17536. doi:10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.e17536 (Q1. IF WoS – 44.544).

7. Extracellular traps of the circulating neutrophils in CIN and cervical cancer / T. Abakumova, I. Antoneeva, S. Gening, A. Peskov, T. Gening // Annals of Oncology. 2021. Vol. 32, suppl_5. S725-S772. doi 10.1016/annonc/annonc703 (Q1. IF WoS – 32,976).

8. Abakumova, T. IL-8 in circulating neutrophils as a potential biomarker in ovarian cancer / T. Abakumova, D. Dolgova, I. Myagdieva, T. Gening // European Journal of Clinical Investigation. 2020. Vol.50, Issue S1. Special Issue: ESCI Virtual Meeting 2020. COVID Edition. P.69. doi I: 10.1111/eci.13369 (Q2. IF WoS – 4.686).

9. Abakumova, T. Pro-oncogenic status of circulating neutrophils in cervical intraepithelial neoplasia / T. Abakumova, S. Gening, T. Gening // Annals of Oncology. 2020. Vol. 31, suppl_5. S1217-S1239. doi: 10.1016/annonc/annonc321 (Q1. IF WoS – 32,976).

10. CXCL8 and CCL2 production in circulating neutrophils in endometrial cancer / T. Abakumova, I. Antoneeva, S. Gening, T. Gening, D. Dolgova // Annals of Oncology. 2020. Vol. 31, suppl. 7. P. S1454. doi:10.1016/j.annonc.2020.10.581 (Q1. IF WoS – 32,976).

11. *Абакумова, Т.В.* Уровень VEGF-A в сыворотке и нейтрофилах при прогрессировании цервикальной интраэпителиальной неоплазии / *Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, Д.Р. Долгова // Успехи молекулярной онкологии.* 2019. Т.6, №4. С.61 (ИФ РИНЦ - 0.535).
12. Влияние уровня провоспалительных цитокинов на образование внеклеточных нейтрофильных ловушек при распространенном раке яичников / *Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, И.И. Антонеева, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг // Российский иммунологический журнал.* 2019. Т.13 (22), № 2. С.704-706 (ИФ РИНЦ - 0.671).
13. Фенотип циркулирующих нейтрофилов на разных стадиях неоплазии шейки матки / *Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, С.О. Генинг, Д.Р. Долгова, А.Б. Песков, Т.П. Генинг // Медицинская иммунология.* 2019. Т. 21, № 6. С. 1127-1138. doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1127-1138 (ИФ РИНЦ – 0.740, Q4. IF Scopus – 0.13).
14. The role of circulating neutrophils in the regulation of neoangiogenesis in ovarian cancer / *T. Abakumova, S.Gening, T. Gening, D. Dolgova, I. Antoneeva // Annals of Oncology.* 2019. Vol.30, Supplement 11. doi: 10.1093/annonc/mdz447|x16 (Q1. IF WoS – 32,976).
15. Фенотип нейтрофилов периферической крови на начальной стадии рака тела матки / *Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг // Цитология.* 2016. Т.58, № 1. С.23-29 (ИФ РИНЦ - 0,622, Q4. IF Scopus – 0.13).
16. The phenotype of peripheral blood neutrophils during the early stage of endometrial cancer / *T.V. Abakumova, I.I. Antoneeva, T.P. Gening, D.R. Dolgova, S.O. Gening // Cell and Tissue Biology.* 2016. Vol. 10, iss. 3. P. 206-212. doi: 10.1134/S1990519X16030020 (Q4. IF Scopus – 0.19).
17. Цитокиновый статус сыворотки крови у больных раком тела матки / *Т.В. Абакумова, С.О. Генинг, Д.Р. Долгова, А.В. Фомина, А.А. Михеенко // Вестник РГМУ.* 2015. № 2. С.21-22 (ИФ РИНЦ - 0.499).
18. *Абакумова, Т.В.* Изменение цитокинового статуса на поздних стадиях рака яичников / *Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг // Вестник РГМУ.* 2014. № 2. С.53-54 (ИФ РИНЦ - 0.499).
19. *Абакумова, Т.В.* Провоспалительные цитокины и фактор роста в сыворотке крови при прогрессировании рака шейки матки / *Т.В. Абакумова, С.О. Генинг, Д.Р. Долгова, А.В. Фомина // Сибирский онкологический журнал.* 2014. № 1, прил. С.37 (ИФ РИНЦ - 0.698).
20. Динамика уровня провоспалительных цитокинов и их роль в развитии локальных и системных эффектов при прогрессировании рака шейки матки / *Т.П. Генинг, Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, А.Б. Песков, Е.Г. Сидоренко, С.О. Генинг, Д.Р. Долгова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2014. Т.157, № 6. С.748-752. doi: 10.1007/s10517-014-2665-z (ИФ РИНЦ – 0.932; Q3. IF Scopus – 0.29; Q4. IF WoS – 0.804).
21. Цитокиновый профиль и метаболическая активность нейтрофилов периферической крови при прогрессировании неоплазмы / *Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, С.О. Генинг, Д.Р. Долгова, А.В. Фомина // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2014. № 4. С.86-90 (ИФ РИНЦ - 0.466, Scopus).
22. Цитокиновый статус и фенотип нейтрофилов при прогрессировании рака шейки матки / *Т.П. Генинг, Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, С.О. Генинг, А.Б. Песков, Д.Р. Долгова // Вопросы онкологии.* 2014. Т.60, № 5. С.584-589 (ИФ РИНЦ – 0.271; Q4. IF Scopus – 0.11).
23. *Абакумова, Т.В.* Модификация морфо-функционального состояния нейтрофилов в динамике рака шейки матки у женщин в репродуктивном периоде и в постменопаузе / *Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, С.О. Генинг, Т.П. Генинг // Вопросы онкологии.* 2013. Т.59, № 3, прил. С. 17 (ИФ РИНЦ - 0.271).
24. *Абакумова, Т.В.* Показатели фагоцитарной активности и уровень матриксных металлопротеиназ нейтрофильных лейкоцитов на поздних стадиях рака яичников / *Т.В. Абакумова, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг // Вестник РГМУ.* 2013. № 1, спец.вып. С.5 (ИФ РИНЦ - 0.499).
25. Антонеева, И.И. Динамика изменений уровня цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β) и их роль в развитии полимодальных локальных и дистантных эффектов при прогрессирующих формах рака яичников / *И.И. Антонеева, Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, С.О. Генинг // Цитокины и воспаление.* 2013. Т.12, № 4. С.43-49 (ИФ РИНЦ - 0.317).
26. Антонеева, И.И. Динамика уровня провоспалительных цитокинов и их роль в развитии полимодальных локальных эффектов при прогрессировании рака яичников / *И.И. Антонеева, Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, С.О. Генинг // Известия Самарского научного центра РАН.* 2013. Т.15, № 4 (3). С.713-718 (ИФ РИНЦ - 0.347).
27. Генинг, С.О. Исследование матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови при прогрессировании рака яичников / *С.О. Генинг, Т.В. Абакумова // Успехи современного естествознания.* 2013. № 9. С.26-27 (ИФ РИНЦ - 0.300).

28. Иммунофенотип синдрома вторичного иммунодефицита при раке яичников / И.И. Антонеева, Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, О.С. Воронова, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг // Мед. альманах. 2013. № 5 (29). С.77-82 (ИФ РИНЦ - 0.474).

29. Секреторная активность нейтрофилов периферической крови на начальной стадии рака шейки матки / Т.В. Абакумова, С.О. Генинг, О.С. Воронова, И.И. Антонеева, С.С. Пирмамедова // Российский иммунологический журнал. 2013. Т. 7 (16), № 2-3. С.138 (ИФ РИНЦ - 0.671).

30. Синдром опухоль-ассоциированного вторичного иммунодефицита на различных клинических стадиях рака шейки матки / Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, О.С. Воронова, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг // Российский аллергологический журнал. 2013. № 2. С.14-15 (ИФ РИНЦ - 0.349).

31. Абакумова, Т.В. Фемтосекундное лазерное излучение в модулировании неспецифического иммунитета на начальной стадии рака шейки матки / Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, Д.Р. Долгова, С.С. Пирмамедова // Креативная хирургия и онкология. 2012. № 3. С.18-21 (ИФ РИНЦ - 0.299).

32. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови на различных клинических стадиях рака шейки матки / Т.В. Абакумова, С.О. Генинг, Д.Р. Арсланова, О.С. Воронова, Е.Г. Сидоренко, П.Г. Долгов // Вестник РГМУ. 2012. № 1, спец.вып. С.222-223 (ИФ РИНЦ - 0.499).

33. Цитоархитектоника и фагоцитарная активность нейтрофилов больных раком шейки матки при фемтосекундном лазерном излучении *in vitro* / Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, И.И. Антонеева, Д.Р. Арсланова, В.В. Светухин, С.О. Генинг // Вестник новых медицинских технологий. 2012. Т. XIX, № 3. С.34-37 (ИФ РИНЦ - 0.151).

34. Цитокиновый статус и фенотип нейтрофилов периферической крови на терминальных стадиях рака яичников / Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, И.И. Антонеева, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг, М.А. Благовская // Российский иммунологический журнал. 2012. Т.6 (14), № 3 (1). С.60-61 (ИФ РИНЦ - 0.671).

35. Neutrophils of the patients with cervical cancer after femtosecond laser radiation *in vitro* / T. Abakumova, A. Sysoliatin, I. Antoneeva, V. Svetukhin, D. Arslanova, S. Gening // Proc. SPIE. Biophotonics and Immune Responses VII. 2012. Vol.8224. doi: 10.1117/12.907288 (WoS).

Патенты:

36. Способ дифференциальной диагностики рака шейки матки / Т.П. Генинг, С.О. Генинг, Т.В. Абакумова, Д.Р. Арсланова, И.И. Антонеева, Л.Г. Рябова, Е.Г. Сидоренко // Патент на изобретение RU 2488823 С1, 27.07.2013. Заявка № 2012107983/15 от 01.03.2012.

37. Способ уточнения стадии распространенного рака шейки матки / Т.П. Генинг, Т.В. Абакумова, Д.Р. Долгова, И.И. Антонеева, С.О. Генинг, А.А. Михеенко, А.В. Фомина, Л.Г. Комарова, И.А. Корчагина, А.Ю. Тузеева // Патент на изобретение RU 2582979 С1, 27.04.2016. Заявка № 2015109694/15 от 19.03.2015.

Монографии:

38. Абакумова, Т.В. Неспецифический иммунитет при онкогинекологической патологии: монография. Ульяновск: Ульянов. гос. ун-т, 2018. 112с. ISBN: 978-5-88866-688-3.

39. Атомно-силовая микроскопия в биомолекулярной аналитике: монография / Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, М.Н. Артамонова, Р.И. Бахтияров, Д.Р. Долгова, Е.С. Махмутова, Б.Б. Костишко, И.Б. Костишко, И.С. Немова, А.С. Нестеров, А.В. Нестерова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, А.С. Хитрова, О.В. Столбовская, А.Ю. Федотова, Р.М. Хайруллин. Ульяновск: Ульянов. гос. ун-т, 2018. 122 с. ISBN: 978-5-88866-749-1.

40. Успехи и проблемы современной онкологии: монография / Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, В.Ю. Барштейн, Т.П. Генинг, Е.А. Гревцева, Т.А. Круподёрова, Т.Л. Настаушева, Е.А. Рябова, Е.В. Шумейко, Н.В. Шумейко, Н.Б. Юдина, В.П. Волков. Новосибирск: Ассоциация научных сотрудников "Сибирская академическая книга", 2014. 108 с. ISBN: 978-5-4379-0383-4.

Публикации в других изданиях:

41. Функциональное состояние нейтрофилов при инкубации с аутологичными опухолевыми клетками / Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг // Медико-физиологические проблемы экологии человека: материалы VI Всерос. конф. с междунар. участием (19-23 сент. 2016 г., г. Ульяновск). Ульяновск, 2016. С.201.

42. Morphofunctional state of neutrophils and cytokine status in patients with ovarian cancer / T.V. Abakumova, I.I. Antoneeva, T.P. Gening, D.R. Dolgova, S.O. Gening // J Mol Pathophysiol. 2015. Vol.4, №1. P.1-5. doi: 10.5455/jmp.20150112022308

43. Tumor-associated neutrophils in ovarian cancer / T. Abakumova, T. Gening, D. Dolgova, S. Gening, I. Antoneeva // European Journal of Cancer Supplement. 2015. Vol.13, № 1. P.17-18.

44. Синдром вторичного иммунодефицита на терминальных стадиях рака яичников / Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, С.О. Генинг, С.С. Пирмамедова, Д.Р. Долгова, И.В.

Волгина // Клиническая иммунология и аллергология-междисциплинарные проблемы: тр. междунар. форума (14-17 мая 2014 г., Казань). Казань, 2014. С.8-9.

45. *Абакумова, Т.В.* Рецепторный статус и ригидность мембраны нейтрофилов периферической крови при распространенном раке яичников / *Т.В. Абакумова, С.О. Генинг, Д.Р. Долгова, О.С. Воронова* // Украинский научно-медицинский молодежный журнал. 2013. Спец.вып. С.36.

46. *Абакумова, Т.В.* Фенотип нейтрофильных гранулоцитов при распространенном раке яичников / *Т.В. Абакумова, С.О. Генинг, Е.Г. Сидоренко* // Биология – наука XXI века: сб.тез. 17 Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых (Пушино, 21-26 апр. 2013г.). Пушино, 2013. С. 389.

47. Нейтрофилы периферической крови при распространенных стадиях рака яичников / *С.О. Генинг, Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг* // Тезисы докладов XXII Съезда физиологического общества им. И.П.Павлова (Москва-Волгоград, 16-20 сент. 2013). Москва; Волгоград, 2013. С.116.

48. Опухоловоассоциированная иммунопатология при распространенном раке яичников / *Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, И.И. Антонеева, О.С. Воронова, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг* // Ульяновский медико-биологический журнал. 2013. № 1. С.83-92.

49. Роль цитокинов в развитии полимодальных локальных и дистантных эффектов при прогрессировании рака шейки матки / *Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, И.И. Антонеева, Е.Г. Сидоренко, С.О. Генинг, Д.Р. Долгова* // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация: сборник статей международной конференции (Пушино, 27-30 мая 2013). Пушино, 2013. С.519-523.

50. *Абакумова, Т.В.* Морфофункциональное состояние нейтрофильных лейкоцитов в динамике рака шейки матки / *Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева* // Экологическая физиология и медицина: наука, образование, здоровье населения: материалы Всероссийской конференции с международным участием (12-14 сентября 2012г., г.Ульяновск). Ульяновск, 2012. С.3-5.

51. *Абакумова, Т.В.* Неспецифический клеточный иммунитет на разных стадиях рака шейки матки / *Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева* // Ульяновский медико-биологический журнал. 2012. № 2. С.104-110.

52. Матриксные металлопротеиназы при раке яичников / *Т.В. Абакумова, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг, Е.Г. Сидоренко, О.С. Воронова* // Украинский медико-биологический молодежный журнал. 2012. № 3, спец.вып. С.236-237.

53. Молекулярно-биологические факторы при прогрессировании рака яичников / *И.И. Антонеева, Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, Д.Р. Арсланова, Е.В. Васильева, С.О. Генинг* // Материалы Глобального онкологического форума EAF0 (4-6 мая 2012, Москва). Москва, 2012. С.90-91.

54. Оценка микробицидной активности нейтрофилов крови больных раком шейки матки / *Т.В. Абакумова, Д.Р. Арсланова, С.О. Генинг, Е.Г. Сидоренко, О.С. Воронова, Т.П. Генинг* // Завадские чтения: сборник материалов VII научно-практической конференции молодых ученых с международным участием (24.03.2012г., Ростов-на-Дону). Ростов-на-Дону, 2012. С.35-36.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АСМ - атомно-силовая микроскопия
АФК - активные формы кислорода
ДОЯ - доброкачественные опухоли яичников

ИЗФ - индекс завершеного фагоцитоза
ИЛ - индекс ловушек
Мпа - мегапаскаль
МПО - миелопероксидаза
НСТ - нитросиний тетразолий
Нф - нейтрофилы
РТМ - рак тела матки
РШМ - рак шейки матки
РЯ - рак яичников
СЦК - средний цитохимический коэффициент
ФИ - фагоцитарный индекс

ФЧ - фагоцитарное число
ЧЛ / ЧВЛ - число ловушек / число
внутриклеточных ловушек

CD - кластер дифференцировки
CIN - цервикальная интраэпителиальная неоплазия
G-CSF - гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
IFN - интерферон
IL - интерлейкин
MMP - матриксная металлопротеиназа
N1 - противоопухолевые нейтрофилы
N2 - проопухолевые нейтрофилы
NE - нейтрофильная эластаза
NET - neutrophil extracellular traps
NF-kB - ядерный фактор - каппаВ
NLR - нейтрофильно-лимфоцитарное отношение
MCP - моноцитарный хемоаттрактант
TIMP - тканевый ингибитор матриксных
металлопротеиназ
TNF - фактор некроза опухоли

**АБАКУМОВА
ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА**

**ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ ВО ВЗАИМОСВЯЗИ С
ЦИТОКИНАМИ ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ ОПУХОЛЕЙ ЖЕНСКОЙ
РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ**

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
доктора биологических наук