

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И. М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Гридасова Ольга Сергеевна

**Клиническое значение определения нейтрофильных внеклеточных ловушек,
провоспалительных цитокинов и маркеров ангиогенеза у женщин с
вульвовагинальной атрофией и гинекологическим раком в анамнезе**

3.1.4. Акушерство и гинекология

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
Хизроева Джамиля Хизриевна

доктор медицинских наук, профессор
Солопова Антонина Григорьевна

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1 Исторические аспекты, эпидемиологическая справка	16
1.2 Этиология вульвовагинальной атрофии	17
1.2.1 Роль эстрогенов	18
1.2.2 Роль андрогенов	20
1.3 Клинические проявления генитоуринарного менопаузального синдрома	21
1.4 Патофизиологические механизмы развития вульвовагинальной атрофии.....	22
1.4.1 Влияние эстрогенов на иммунную систему	23
1.4.2 Нейтрофильные внеклеточные ловушки	25
1.4.3 Влияние эстрогенов на функцию нейтрофилов и формирование внеклеточных нейтрофильных ловушек.....	34
1.4.4 Роль витамина D.....	37
1.4.5 Роль микробиоты влагалища	39
1.5 Вульвовагинальная атрофия у женщин с гинекологическим раком в анамнезе.....	41
1.6 Вульвовагинальная атрофия у женщин, перенесших рак молочной железы ...	43
1.7 Вульвовагинальная атрофия у женщин с постовариэктомическим синдромом (радикального хирургического лечения) без онкогинекологического анамнеза.....	45
1.8 Заключение	46
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	48
2.1 Дизайн настоящего исследования	48
2.2 Характеристика обследованных участниц исследования	49
2.3 Формирование групп исследования	50
2.4 Критерии включения, невключения и исключения в исследование	52
2.4.1 Критерии включения.....	53
2.4.2 Критерии невключения.....	54

2.4.3 Критерии исключения.....	55
2.5 Методы клинического обследования	56
2.6 Методы клинического обследования	62
2.6.1 Исследование маркеров внеклеточных нейтрофильных ловушек.....	62
2.6.2 Исследование компонентов системы комплемента	64
2.6.3 Исследование провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли альфа	65
2.6.4 Определение уровня сосудистого эндотелиального фактора роста	66
2.7 Методы статистической обработки.....	66
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	67
3.1 Клинико-демографическая характеристика обследованных групп.....	67
3.2 Клинические проявления вульвовагинальной атрофии.....	69
3.3 Анализ данных гинекологического осмотра.....	71
3.4 Оценка вагинальной среды и морфофункционального состояния слизистой влагалища	73
3.5 Интегральная клиническая оценка тяжести вульвовагинальной атрофии	74
3.6 Иммунологические, воспалительные и ангиогенные маркеры при вульвовагинальной атрофии	75
3.7 Корреляционный анализ.....	79
3.7.1 Связь интегральной клинической оценки с иммунологическими и воспалительными маркерами.....	79
3.7.2 Корреляции клинических показателей с состоянием вагинальной среды.....	80
3.8 Диаграммы размаха Box-plot	81
3.9 Выводы по Главе 3	87
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	89
4.1 Общая интерпретация полученных результатов	89
4.2 Фенотипы вульвовагинальной атрофии в зависимости от типа менопаузы и противоопухолевого лечения.....	89

4.3 Иммуновоспалительные и ангиогенные механизмы вульвовагинальной атрофии: роль системы комплемента, фактора некроза опухоли альфа и сосудистого эндотелиального фактора роста.....	92
4.4 Интегральная патогенетическая модель вульвовагинальной атрофии	99
4.5 Перспективы патогенетически ориентированной терапии вульвовагинальной атрофии	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	104
ВЫВОДЫ	106
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	107
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	109
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	111
ПРИЛОЖЕНИЕ А	124

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Вульвовагинальная атрофия (ВВА), как одно из проявлений генитоуринарного менопаузального синдрома (ГУМС), является распространённым состоянием у женщин в естественной менопаузе, а также у пациенток репродуктивного и перименопаузального возраста [1, 2], перенесших противоопухолевую терапию (радикальное хирургическое лечение (РХЛ), химиолучевую терапию (ХЛТ), антиэстрогенную терапию (АЭТ)) [3, 4]. В литературе подробно описаны гормональные механизмы её формирования, включая роль дефицита эстрогенов в нарушении структуры эпителия влагалища, снижении васкуляризации, изменении состава внеклеточного матрикса и ухудшении местных защитных механизмов слизистой оболочки, что формирует условия для хронического воспаления и нарушения восстановления слизистой оболочки [5]. Значительное количество исследований посвящено клиническим проявлениям ВВА, влиянию заболевания на качество жизни женщин и вопросам гормональной и негормональной терапии [6, 7, 8]. Существенным патогенетическим звеном ВВА является формирование «низкоинтенсивного» хронического воспаления слизистой вульвы и влагалища. Дефицит эстрогенов сопровождается утратой их иммуномодулирующего и противовоспалительного действия. В этих условиях создаётся дисбаланс между про- и противовоспалительными цитокинами с повышением продукции провоспалительных медиаторов и недостаточностью репаративных процессов. Это поддерживает хроническое воспаление, приводит к нарушению эпителиального барьера, повышенной проницаемости слизистой оболочки и персистирующей активации механизмов врождённого иммунитета, что препятствует полноценному восстановлению тканей.

Последние исследования указывают на существенную роль внеклеточных нейтрофильных ловушек (ВНЛ) в патогенезе хронического повреждения слизистой

[9]. ВНЛ могут поддерживать воспаление, нарушать репарацию тканей и усиливать фиброз. Провоспалительные цитокины, например, фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) и маркеры ангиогенеза – сосудистый эндотелиальный фактор роста (СЭФР) отражают активность воспалительно-репаративных процессов. Особое значение имеет система комплемента, которая взаимодействует с ВНЛ, усиливает воспаление, способствует микрососудистому повреждению и ремоделированию тканей. Определение компонентов комплемента (С3, С4) позволяет глубже оценить иммуновоспалительный каскад у пациенток с ВВА после противоопухолевой терапии.

Отдельное направление исследований касается особенностей течения ВВА у женщин с онкогинекологическими заболеваниями в анамнезе [10, 11]. У таких пациенток различные виды противоопухолевой терапии создают неодинаковые иммуновоспалительные условия для формирования ВВА. Например, РХЛ сопровождается нарушением микроциркуляции и тканевой ишемией; ХЛТ вызывает выраженное микрососудистое повреждение, стойкий окислительный стресс и фиброз; АЭТ формирует глубокий дефицит эстрогенов, усиливающий дисбаланс цитокинов и нарушающий эпителиальную регенерацию. Эти факторы могут по-разному влиять на активность ВНЛ и системы комплемента, создавая вариативные паттерны хронического воспаления и ремоделирования тканей.

Учитывая высокую распространённость ВВА, выраженное влияние на качество жизни и отсутствие чётких иммунологических критериев тяжести и прогрессирования, изучение маркеров ВНЛ, воспаления, ангиогенеза и системы комплемента является актуальной клинической и научной задачей.

Степень разработанности темы исследования

Проблема ВВА в настоящее время достаточно широко представлена в клинических и научных исследованиях [12, 13]. В отечественной и зарубежной литературе подробно изучены эпидемиология заболевания, клинические проявления, влияние ВВА на качество жизни женщин. Существенное внимание

уделено разработке клинических рекомендаций по ведению пациенток с данным состоянием, включая женщин с противопоказаниями к гормональной терапии [14]. Отдельный массив исследований посвящён ВВА у пациенток с онкологическими заболеваниями в анамнезе [15]. В данных работах описаны особенности клинического течения заболевания после различных видов противоопухолевого лечения, вопросы безопасности и эффективности лечебных подходов, а также влияние ВВА на приверженность пациенток противоопухолевой терапии. При этом большинство исследований носят клинико-описательный характер и ориентированы преимущественно на оценку симптомов и качества жизни [12].

Иммунологические аспекты ВВА мало изучены в медицинской литературе. Имеющиеся исследования, как правило, фокусируются на отдельных элементах местного иммунитета слизистой оболочки влагалища, микробиоте и неспецифических маркерах воспаления. Работы, направленные на системную оценку иммуновоспалительных механизмов при ВВА, остаются единичными [16].

Роль маркеров ВНЛ (миелопероксидазы (МПО), цитруллинового гистона H3 (ЦГН3), катепсина G (КатG)), системы комплемента, цитокинового профиля и ангиогенных факторов активно изучается в контексте онкологических заболеваний, хронических воспалительных процессов и нарушений репарации тканей [17, 18, 19]. Однако в доступной литературе данные механизмы преимущественно рассматриваются вне связи с ВВА либо в рамках инфекционно-воспалительных заболеваний. В ряде исследований при ВВА показаны изменения цитокинового профиля, отражающие наличие хронического воспалительного процесса слизистой оболочки влагалища [20]. В этих работах анализируются уровни отдельных провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и их связь с выраженностью клинических симптомов заболевания. Однако большинство подобных исследований носит фрагментарный характер и ограничивается оценкой цитокинов как изолированных маркеров воспаления, без учёта их взаимодействия с другими механизмами врождённого иммунного ответа. Исследования, в которых ВВА анализируется как самостоятельный клинико-иммунологический фенотип с учётом онкогинекологического анамнеза пациенток, практически отсутствуют.

Кроме того, в имеющихся работах отсутствует единый подход к сопоставлению иммуновоспалительных показателей с клиническими параметрами выраженности ВВА и влиянием различных видов противоопухолевой терапии. Это ограничивает возможность объективной стратификации пациенток и оценки патогенетических различий между клиническими группами.

Таким образом, несмотря на значительный объём клинических исследований, посвящённых ВВА, вопросы интегральной оценки иммуновоспалительных механизмов заболевания, особенно у женщин с онкогинекологическим анамнезом и после различных видов противоопухолевого лечения, остаются недостаточно разработанными, что определяет научную обоснованность и необходимость настоящего исследования.

Цель и задачи исследования

Цель работы: оценить роль внеклеточных нейтрофильных ловушек, компонентов системы комплемента, провоспалительных цитокинов, маркеров ангиогенеза у женщин с вульвовагинальной атрофией и онкогинекологическими заболеваниями в анамнезе.

Задачи исследования:

1. Определить базовые уровни антигена миелопероксидазы, цитруллинового гистона, катепсина G, фактора некроза опухоли альфа, сосудистого эндотелиального фактора роста и компонентов системы комплемента C3 и C4 у пациенток с вульвовагинальной атрофией после различных видов противоопухолевой терапии, у женщин без онкологического анамнеза и контрольной группы.
2. Провести сравнительный межгрупповой анализ уровней всех исследуемых биомаркеров.
3. Исследовать корреляционные взаимосвязи между показателями внеклеточных нейтрофильных ловушек, системы комплемента, цитокинов, ангиогенеза и клиническими параметрами вульвовагинальной атрофии.

4. Оценить влияние вида противоопухолевой терапии (радикальное хирургическое лечение, химиолучевая терапия, антиэстрогенная терапия) на выраженность нейтрофильной активации, комплемент-опосредованного ответа и цитокинового профиля у пациенток с вульвовагинальной атрофией.

5. Определить прогностическую значимость маркеров внеклеточных нейтрофильных ловушек, системы комплемента, цитокинов и ангиогенеза для стратификации пациенток с вульвовагинальной атрофией и разработки дифференцированного подхода к их ведению.

Научная новизна

Впервые проведена комплексная оценка маркеров нейтрофильной активации и ВНЛ (МПО, ЦГНЗ, КатG) у женщин с ВВА с учётом онкогинекологического анамнеза и вида предшествующей противоопухолевой терапии.

Впервые показано, что выраженность ВНЛ-активации и ассоциированного иммуновоспалительного ответа при ВВА достоверно различается в зависимости от вида противоопухолевого лечения, с формированием наиболее выраженного иммуновоспалительного фенотипа у пациенток после ХЛТ.

Установлено, что маркеры нейтрофильной активации и нетоза находятся в значимой взаимосвязи с клиническими показателями ВВА, включая индекс вагинального здоровья и вагинальный pH, что подтверждает их патогенетическую роль в формировании тяжёлых форм заболевания.

Показано, что изменения компонентов системы комплемента C3 и C4 при ВВА носят селективный характер и отражают вовлечённость врождённого иммунитета в патологический процесс, однако не обладают самостоятельной прогностической ценностью.

Впервые обоснована целесообразность использования интегральной клинической оценки (англ. Clinical integral score), объединяющей клинические показатели и маркеры иммуновоспалительной активности, для комплексной стратификации пациенток с ВВА и дифференцированного подхода к их ведению.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в ходе исследования данные расширяют современные представления о патогенезе ВВА как многофакторного процесса, выходящего за рамки исключительно гормональной недостаточности. В работе показано значение иммуновоспалительных механизмов, в частности активации ВНЛ, в формировании хронического повреждения слизистой оболочки вульвы и влагалища. Получены новые данные о взаимосвязи маркеров нейтрофильной активации с клиническими проявлениями заболевания, что углубляет понимание механизмов хронизации и тяжести патологического процесса.

Показано, что изменения компонентов системы комплемента и ангиогенных факторов при ВВА носят селективный, что позволяет рассматривать их как элементы сложного иммуновоспалительного каскада, а не как самостоятельные предикторы течения заболевания. Таким образом, результаты работы формируют теоретическую основу для дальнейших исследований, направленных на изучение иммунных фенотипов вульвовагинальной атрофии и их патогенетического значения.

Результаты исследования имеют практическое значение для клинической работы акушеров-гинекологов и онкогинекологов, поскольку позволяют более объективно оценивать выраженность ВВА и учитывать иммуновоспалительный компонент заболевания при ведении пациенток.

Обоснована целесообразность использования маркеров ВНЛ в сочетании с клиническими показателями для стратификации пациенток с ВВА по степени выраженности иммуновоспалительных изменений, особенно у женщин с онкогинекологическим анамнезом и после противоопухолевого лечения.

Предложен интегральный подход к оценке состояния пациенток с использованием интегральной клинической оценки, объединяющей клинические параметры и лабораторные показатели иммуновоспалительной активности, что может быть использовано для динамического наблюдения и обоснования дифференцированного подхода к ведению пациенток.

Результаты работы могут быть использованы в практической деятельности медицинских организаций, а также в образовательном процессе при подготовке врачей акушеров-гинекологов и онкогинекологов, в том числе при изучении вопросов ГУМС и ведения пациенток после противоопухолевого лечения.

Методология и методы исследования

Выполнено поперечное сравнительное исследование с включением пяти параллельных групп, направленное на оценку клинического значения определения ВНЛ, провоспалительных цитокинов и маркеров ангиогенеза у женщин с ВВА с гинекологическим раком в анамнезе и без него. По характеру сбора материала исследование являлось проспективным: включение пациенток, забор крови и регистрация клинических параметров проводились по единому протоколу. Лабораторный анализ осуществлялся однократно, без динамического наблюдения. Объектом исследования были женщины с клинически верифицированной ВВА и гинекологическим раком в анамнезе с различным типом перенесенной противоопухолевой терапии, женщины с доброкачественными заболеваниями женских половых органов и ВВА (без рака женских половых органов), а также женщины контрольной группы без признаков ВВА. Контрольную группу составили 35 женщин без признаков атрофических изменений слизистой оболочки влагалища.

Личный вклад автора

Автором лично разработан дизайн исследования, сформированы цели, задачи научной работы, а также проведён анализ современной отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы.

Автором осуществлён набор клинического материала, сбор анамнестических и клинических данных, формирование исследуемых групп пациенток с учётом онкогинекологического анамнеза и вида противоопухолевой терапии.

Автор принимала непосредственное участие в лабораторном этапе исследования, включая подготовку биологического материала и проведение определения маркеров ВНЛ (МПО, ЦГНЗ, КатG), провоспалительного цитокина ФНО- α , маркера ангиогенеза СЭФР и компонентов системы комплемента (С3, С4), а также верификацию и первичную обработку результатов лабораторных исследований.

Автором самостоятельно выполнена статистическая обработка полученных данных, проведён анализ и интерпретация результатов исследования, сформулированы основные выводы, положения, выносимые на защиту, и практические рекомендации.

Автором подготовлены все разделы диссертационной работы, выполнено оформление результатов в виде таблиц и рисунков, а также осуществлена подготовка публикаций по теме диссертации и докладов на научных конференциях.

Положения, выносимые на защиту

1. Вульвовагинальная атрофия у женщин, в том числе с онкогинекологическим анамнезом, сопровождается выраженными иммуновоспалительными изменениями, ключевое место среди которых занимает активация нейтрофильных внеклеточных ловушек, что свидетельствует о роли врождённого иммунитета в формировании хронического повреждения слизистой оболочки влагалища.

2. Выраженность активации нейтрофилов с формированием нетоза и ассоциированного воспалительного ответа при вульвовагинальной атрофии зависит от вида предшествующей противоопухолевой терапии, при этом наиболее выраженные иммуновоспалительные изменения характерны для пациенток после химио- и лучевой терапии по сравнению с другими клиническими группами.

3. Маркеры внеклеточных нейтрофильных ловушек находятся в статистически достоверной взаимосвязи с клиническими показателями

выраженности вульвовагинальной атрофии, включая индекс вагинального здоровья и вагинальный pH, что подтверждает их патогенетическую значимость в формировании тяжёлых форм заболевания.

4. Интегральная оценка клинических показателей и маркеров иммуновоспалительной активности позволяет объективно стратифицировать пациенток с вульвовагинальной атрофией и обосновать дифференцированный подход к их ведению.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют пунктам 1, 4, 5, 6 паспорта научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология и пункту 10 паспорта научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность и обоснованность результатов настоящего исследования подтверждаются продуманным дизайном работы, достаточным объёмом клинического материала, использованием современных валидированных лабораторных методик, а также применением адекватных методов статистической обработки данных. Полученные в ходе настоящего исследования результаты легли в основу сформулированных научных положений, выводов и практических рекомендаций, отражающих клиническое и патогенетическое значение выявленных закономерностей.

Основные положения и результаты диссертационного исследования были представлены на научных и научно-практических конференциях, посвящённых актуальным вопросам акушерства и гинекологии, онкогинекологии и репродуктивного здоровья женщин, включая Форум РЕЯ (Нижний Новгород, 12

апреля 2025 г.) и Российский конгресс с международным участием «Физическая и реабилитационная медицина» (15–16 декабря 2025 г.).

Апробация диссертационной работы проведена на конференции кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н. Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва; протокол № 9 от 12.03.2026 г.). По итогам обсуждения диссертация рекомендована к защите.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационного исследования используются в образовательном процессе при подготовке ординаторов и аспирантов на кафедре акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н. Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Полученные данные внедрены в практическую деятельность медицинских организаций, включая ГБУЗ «Городская клиническая онкологическая больница № 1 Департамента здравоохранения г. Москвы» (ГБУЗ «ГКОБ № 1 ДЗМ»), центры амбулаторной онкологической помощи, а также клинические подразделения ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), в том числе кафедру акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н. Ф. Филатова и перинатальный центр ГКБ № 67 имени Л. А. Ворохобова.

Публикации по теме диссертации

Результаты диссертационного исследования отражены в 8 работ, в том числе 5 статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 3 иные публикации по результатам исследования.

Структура и объем диссертации

Диссертационное исследование представлено на 126 страницах и включает введение, обзор литературы, разделы, посвящённые материалам и методам исследования, изложение результатов собственных исследований, их обсуждение, заключение, выводы и практические рекомендации. Работа также содержит список сокращений и условных обозначений, а также библиографический список, включающий 116 источников. Также данный научный материал представлен 16 рисунками и 19 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Исторические аспекты, эпидемиологическая справка

Генитоуринарный менопаузальный синдром (ГУМС) – гипоестрогенное состояние с последствиями, которые затрагивают состояние наружных половых органов, нарушают работу мочеполовой системы вследствие дегенеративно-дистрофических и атрофических изменений в тканях, оказывают влияние на сексуальную жизнь и ухудшают качество жизни женщин в целом. Это хроническое прогрессирующее состояние безусловно недооценено из-за деликатного характера симптомов и нежелания обсуждать пациентками [1, 4].

Вульвовагинальная атрофия (ВВА) является компонентом ГУМС – это хроническое состояние, обусловленное дефицитом эстрогенов и характеризующееся структурными и функциональными изменениями слизистой оболочки влагалища и вульвы. Происходит истончение многослойного плоского эпителия, снижение васкуляризации, уменьшение содержания гликогена, и нарушение местных защитных механизмов, что приводит к развитию воспалительно-дистрофических процессов. Клинически ВВА проявляется субъективными и объективными симптомами генитоуринарного дискомфорта и снижением качества жизни женщин [21].

Одно из самых ранних описаний вульвовагинальной атрофии было сделано французским врачом Коломба де л'Изером в 1845 году [22]. В своем «Трактате о женских болезнях» он включил главу о менопаузе, в которой содержалось следующее: «Вынужденные подчиниться силе времени, женщины теперь перестают существовать для вида и с этого момента живут только для себя. Их черты отмечены печатью возраста, а их половые органы запечатаны печатью бесплодия... Благоразумие требует избегать всех таких обстоятельств, которые могли бы пробудить любые эротические мысли в уме и оживить чувство, которое должно скорее угаснуть, ... на самом деле, все, что рассчитано на то, чтобы вызвать сожаление об утраченных прелестях и наслаждениях, которые теперь закончились

навсегда». Ранее он предлагал аналогию для описания женщины в период менопаузы: Она «теперь напоминает свергнутую королеву или, скорее, богиню, поклонники которой больше не посещают ее святилище. Если она и сохранит несколько придворных, она может привлечь их только очарованием своего ума и силой своих талантов».

Известно, что на сегодняшний день ГУМС встречается у более 50% женщин в периоде менопаузы [1, 2, 3, 7]. По данным ДиБонавентуры [8], распространенность ВВА (57%) и женской сексуальной дисфункции (55%) является достаточно высокой и отмечена многими исследованиями. Как показывают эпидемиологические данные, распространённость симптомов ВВА существенно различается в зависимости от популяции и страны проживания, составляя от 40,0% среди женщин в Германии до 54,42% в Испании [8]. В исследовании, выполненном в Республике Корея, было установлено, что около половины женщин в менопаузе (49%) отмечают наличие вульвовагинальных симптомов, в том числе сухость влагалища и диспареунию [12, 23].

Согласно клиническим рекомендациям 2021 года в России симптомы ВВА встречаются почти у 80% женщин менопаузального периода [14]. Кроме того, синдром или симптомы, похожие на ГУМС, могут наблюдаться и у 15% женщин с дефицитом эстрогенов в пременопаузе [24, 25]. Преждевременное снижение функции яичников в репродуктивном возрасте может быть обусловлено агрессивной противоопухолевой терапией (лучевая терапия, химиотерапия), аутоиммунными заболеваниями, гиперпролактинемией, хронической ановуляцией либо быть следствием хирургической менопаузы.

1.2 Этиология вульвовагинальной атрофии

Этиология ВВА включает, но не ограничивается следующими состояниями:

- Менопауза;
- Лучевая терапия или химиотерапия;
- Овариэктомия, пангистерэктомия в репродуктивном возрасте;

- Использование антиэстрогенных препаратов, таких как тамоксифен, даназол, медроксипрогестерон и агонисты гонадотропин-высвобождающих гормонов (ГнРГ);
- Ранний послеродовой период или период грудного вскармливания;
- Иммунные нарушения;
- Идиопатические причины.

Снижение продукции половых гормонов вызывает физические изменения, которые могут мешать нормальному сексуальному и мочеполовому функционированию у значительного числа женщин в менопаузе.

1.2.1 Роль эстрогенов

Поддержание нормальных физиологических функций урогенитальных тканей напрямую зависит от присутствия в них эстрогенов. Эстрогены, которые способствуют увеличению притока крови к урогенитальной для поддержания надлежащей вагинальной смазки. Эстрогены стимулируют пролиферацию клеток и утолщение эпителия влагалища.

Слизистая оболочка влагалища образована некератинизированным многослойным плоским эпителием, в структуре которого выделяют базальный, промежуточный и поверхностный клеточные слои (Рисунок 1.1). Важной функциональной особенностью влагалищного эпителия является накопление гликогена, который в дальнейшем расщепляется до глюкозы. Последняя служит субстратом для метаболической активности лактобацилл, обеспечивающих образование молочной и уксусной кислот и поддержание кислой среды влагалища с уровнем pH в пределах 3,5–4,5. Однако весь этот путь может быть нарушен, когда уровень эстрогенов низкий [26].

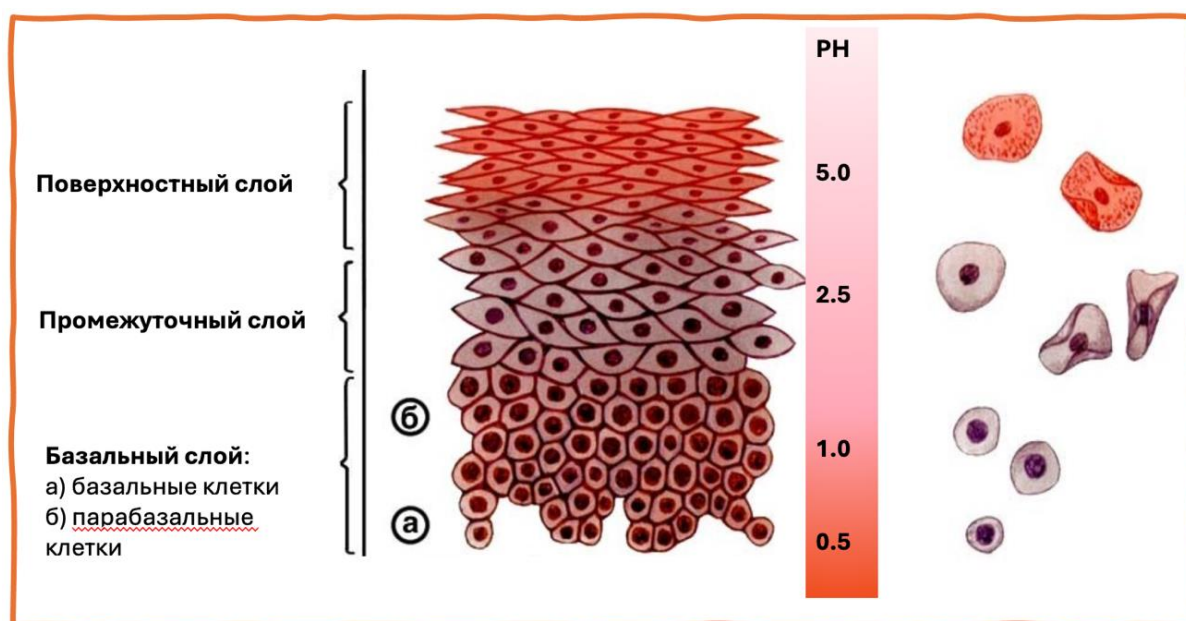


Рисунок 1.1 – Строение и pH вагинального эпителия (рисунок автора)

Биологические эффекты эстрогенов опосредуются через их рецепторы, которые присутствуют во влагалище, вульве, мускулатуре тазового дна, эндопельвикальной фасции, уретре и мочепузырного треугольника на протяжении всей репродуктивной жизни; однако их уровень снижается с наступлением менопаузы. Рецепторы эстрогенов можно разделить на ядерные рецепторы ER α и ER β , которые напрямую взаимодействуют с генами, и мембранно-ассоциированный эстрогеновый рецептор GPER1, который опосредует негеномные эффекты, такие как увеличение потоков ионов кальция Ca $^{2+}$. Распределение рецепторов α и β различается в зависимости от возраста женщины [27]. Например, ER α преимущественно выявляется как у женщин в пременопаузе, так и у женщин в менопаузе, в то время как ER β , экспрессируется исключительно у женщин в пременопаузе. Симптомы и признаки ГУМС напрямую связаны со снижением уровня циркулирующих эстрогенов и их рецепторов, начиная с периода перименопаузы.



Рисунок 1.2 – Стенка влагалища при нормальном и сниженном уровне эстрогенов (рисунок автора)

Дефицит эстрогенов в тканях женских половых органов сопровождается развитием анатомических и гистологических изменений. К ним относятся снижение содержания коллагена, гиалуроновой кислоты и эластина, истончение многослойного плоского эпителия, нарушение функции гладкомышечных клеток, увеличение доли соединительной ткани и уменьшение васкуляризации. Все данные изменения приводят к снижению эластичности влагалища, смещению pH влагалищной среды в щелочную сторону, перестройке микробиоты, уменьшению продукции влагалищной смазки и повышенной восприимчивости слизистой оболочки к механическому воздействию и микротравмам [28]. В результате эпителий становится тоньше, а васкуляризация уменьшается, что делает женщин более склонным к проявлению симптомов ВВА (Рисунок 1.2).

1.2.2 Роль андрогенов

Андрогены, рецепторы которых обнаружены во всех тканях мочеполовой системы, могут независимо от эстрогенов регулировать состояние тканей

влагалища [29]. Они участвуют в регуляции вагинальной и вестибулярной смазки, активности гладких мышц и кровотока; способны вызывать образование муцинозной слизи влагалища даже в отсутствие эстрогенов.

Четыре основных андрогена, присутствующие в системном кровотоке женщин в перименопаузе, – это дегидроэпиандростерон (ДГЭА; в основном в виде сульфата ДГЭА-С), андростендион, тестостерон и 5 α -дигидротестостерон (5 α -ДГТ). Тестостерон и андростендион являются необходимыми предшественниками для образования эстрадиола и эстрона. Можно сказать, что эстрогены являются второстепенным продуктом надпочечников.

Первоначально считалось, что атрофия влагалища меньше распространена у женщин в менопаузе с более высокими уровнями андростендиона и тестостерона, предполагая, что тестостерон превращается в эстрадиол под действием фермента ароматазы. Однако в небольшом исследовании с участием женщин ($n = 21$) с раком молочной железы (РМЖ), проходящих терапию ингибиторами ароматазы (ИА), интравагинальное применение тестостерона в течение 4 недель показало улучшение признаков и симптомов атрофии влагалища (диспареуния, сухость влагалища, pH влагалища и созревание эпителия), что позволяет предположить, что андрогены оказывают независимое влияние на рост вагинального эпителия [30].

1.3 Клинические проявления генитоуринарного менопаузального синдрома

ГУМС представляет собой комплекс клинических проявлений, обусловленных снижением уровня эстрогенов и других половых стероидов, сопровождающийся изменениями в области наружных половых органов, влагалища, мочевыводящие пути. Патологический процесс затрагивает большие и малые половые губы, клитор, преддверие влагалища, уретру и мочевой пузырь. Клиническая картина включает генитальные симптомы, такие как сухость, жжение и раздражение, сексуальные расстройства в виде недостаточной смазки, дискомфорта или болевых ощущений при половом контакте, а также мочевые

проявления, включая дизурию и рецидивирующие инфекции мочевыводящих путей (Рисунок 1.3) [31].

Симптомы Генитоуринарного менопаузального синдрома



Рисунок 1.3 – Клинические проявления генитоуринарного менопаузального синдрома (рисунок автора)

1.4 Патофизиологические механизмы развития вульвовагинальной атрофии

Все важные репродуктивные периоды и события в жизни женщины, включая возраст наступления менархе и менопаузы, паритет, возраст на момент родов, влияют на риск развития хронических заболеваний и оставляют свой след на показателях и маркерах воспаления. К примеру, наступление менопаузы влияет практически на все показатели и биомаркеры воспаления, а **ранний возраст естественной менопаузы связан с большим количеством лейкоцитов и нейтрофилов**, меньшим количеством лимфоцитов, гемоглобина и тромбоцитов [32]. Процесс старения связан с изменениями в иммунной системе, что приводит к повышению уровня базального воспаления и нарушению способности к

формированию эффективных врожденных и адаптивных иммунных ответов. Это свидетельствует о том, что воспалительные/иммунные пути также могут быть вовлечены в связи между репродуктивными событиями и хроническими заболеваниями.

1.4.1 Влияние эстрогенов на иммунную систему

На протяжении многих лет эпидемиологические исследования предоставляют многочисленные доказательства важной роли эстрогенов в регуляции иммунных реакций [33]. Эстрогены, действуя как естественный иммуномодулятор, регулируют иммунную систему как здоровых, так и людей с аутоиммунными заболеваниями либо посредством активации рецепторов ER α и/или ER β , либо посредством ER-независимых механизмов [34]. Однако, обращает внимание различное действие эстрогенов на их рецепторы или клетки-мишени; противоположные эффекты различных концентраций эстрогенов (особенно на пролиферацию клеток); эффекты, оказываемые разнообразными периферическими метаболитами эстрогенов. К примеру, первые публикации, большинство из которых основаны на исследованиях *in vitro*, предполагали, что эстрадиол оказывает противовоспалительное действие на активированные моноциты/макрофагальные клеточные линии или микроглиальные клетки и макрофагальные клетки центральной нервной системы (ЦНС) [35]. Считалось, что данная противовоспалительная активность эстрогенов селективно опосредуется эстрогеновыми рецепторами альфа (ER α), а не ER β , и открывает новый и уникальный механизм противовоспалительной активности E2, который может быть полезен для идентификации более селективных лигандов для предотвращения воспалительной реакции.

Однако, последующие исследования показали, что воздействие эстрогенов *in vivo* стимулирует выработку провоспалительных цитокинов, таких как интерферон-гамма (ИФН- γ), интерлейкин (ИЛ)-6, IL-1 β , хемокинов (например, моноцитарный хемоаттрактантный белок (МХБ)-1 и МХБ-5), и воспалительных

молекул, таких как оксид азота NO в активированных селезеночных лимфоидных клетках и/или перитонеальных макрофагах мышей [36]. Оказалось, что эстрогены стимулируют воспалительные реакции, усиливая способность продуцировать Т хелперы (Тх) 1 типа, стимулирующие провоспалительные цитокины [37]. В последствии другие авторы, например Суси и соавт. [38] также подтвердили, что длительное хроническое воздействие эстрогенов *in vivo* эндогенного или экзогенного происхождения усиливает продукцию провоспалительных цитокинов, а именно ИЛ-1 β , ИЛ-12 и ФНО- α через ER α -зависимые механизмы. Эти расходящиеся результаты (противо- или провоспалительный эффекты действия эстрогенов) могли быть обусловлены различиями в типе клеток, продолжительности (краткосрочной или долгосрочной) воздействия эстрогенов и, конечно, условиями *in vitro* или *in vivo*. Как показали исследования, **хронический провоспалительный эффект эстрадиола *in vivo* контрастирует с противовоспалительным действием эстрогенов *in vitro*** [35]. Действительно, острая (всего несколько часов) обработка *in vitro* макрофагов эстрадиолом вызывает значительное снижение воспалительных медиаторов, в то время хроническое воздействие эстрогенов приводит к выбросу провоспалительных цитокинов. Эти исследования четко демонстрируют **противоположные эффекты краткосрочного воздействия эстрадиола *in vitro* и долгосрочного воздействия *in vivo*** на функцию перитонеальных макрофагов [39]. Неожиданно, несмотря на свой провоспалительный потенциал, эстрогены оказывают защитное действие при некоторых воспалительных заболеваниях, **предотвращая воспалительные процессы в целевых органах или тканях** [40, 41]. Хотя эти эффекты эстрогенов кажутся парадоксальными, недавние эксперименты на мышах ER α подтвердили защитное действие эстрадиола на экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит. Также клинические наблюдения показывают, что ревматоидный артрит и рассеянный склероз ослабевают во время беременности, но обостряются или возникают в послеродовой период, что свидетельствует о положительном воздействии высоких уровней эстриола и эстрадиола при некоторых аутоиммунных процессах. **Эстрогены обладает различными**

иммуномодулирующими свойствами, стимулируя продукцию антител, но подавляя воспаление, опосредованное Тх2-лимфоцитами. Действие эстрогенов, своего рода, палка о двух концах: подавление выработки провоспалительных цитокинов ТН1, таких как ИЛ-12, ФНО-альфа и ИФН-гамма, и стимуляция противовоспалительных цитокинов Тх2, таких как ИЛ-10, ИЛ-4 и трансформирующий фактор роста бета (ТФР-β) [42].

Таким образом, **эстрогены обладают про- и противовоспалительными свойствами в зависимости от типа вовлеченных клеток.** Это может объяснить, почему эстрогены подавляют или усиливают заболевания, опосредованные Т хелперами 1 типа и Т хелперами 2 типа, соответственно. **Изучение механизмов действия эстрогенов на функции клеток иммунной системы позволило бы получить новые знания о механизмах, посредством которых половые гормоны влияют на иммунные и воспалительные реакции у женщин.** Понимание воспалительной иммунной «перестройки», вызванной изменениями в статусе эстрогенов, такими как контрацепция, беременность, менопауза, а также менопаузальная гормональная терапия, может иметь решающее значение для понимания патофизиологии заболеваний, на которые влияют половые гормоны.

1.4.2 Нейтрофильные внеклеточные ловушки

Осознание роли воспаления в патогенезе хронических заболеваний привело к интересу к биомаркерам воспаления. В настоящее время большое внимание уделяется нейтрофилам и нейтрофильным сериновым протеазам, таким как нейтрофильная эластаза (НЭ), протеиназа 3 (Пр3) и катепсин G (КатG), которые необходимы для нейтрофильной очистки от инфекционных агентов. Как известно, нейтрофилы, как основная лейкоцитарная субпопуляция врожденных иммунных клеток, являются первой линией клеточной защиты от чужеродных патогенов. Помимо своей основной роли во врожденных иммунных реакциях и воспалении, нейтрофилы вовлечены в адаптивный иммунный ответ, привлекая Т-клетки к местам воспаления и/или запуская и вовлекая активацию Т-клеток. Хотя на

протяжении многих лет их считали «машиной для убийств», внедряемой в ткани для уничтожения патогенов, теперь очевидно, что нейтрофилы вовлечены во многие другие процессы, начиная от острых повреждений и восстановления, хронических воспалительных процессов, рака и аутоиммунитета. Нейтрофилы известны уже много лет, однако, до сих пор удивляют ученых. Можно сказать, что нейтрофилы переживают своего рода ренессанс. В литературе последних лет подчеркивается фенотипическая и функциональная гетерогенность среди нейтрофилов, тогда как ранее эта популяция считалась однородной [43]. Они характеризуются разной продолжительностью жизни, уровнем активности при воспалении, способностью к фагоцитозу и про- или противоопухолевыми свойствами. Нейтрофильные сериновые протеазы могут регулировать воспаление посредством активации рецепторов клеточной поверхности, таких как интегрины, активируемые протеазой рецепторы (АПР) и толл-подобные рецепторы, также они играют важную роль в регуляции воспаления с помощью протеолиза цитокинов, хемокинов и сигнальных молекул, включая транскрипционный фактор NF- κ B (ядерный фактор «каппа-би»; англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B) и ингибитор пролиферации p21 [44, 45].

В 2004 году в исследованиях, выполненных Ф. Бринкманом и А. Зихлински в Институте Макса Планка (Германия), была описана особая форма гибели нейтрофилов, отличная как от апоптоза, так и от некроза. Указанный процесс сопровождается высвобождением внеклеточных трёхмерных структур, сформированных из тонких волокон хроматина, на поверхности которых обнаруживаются гранулярные и цитоплазматические белки и пептиды (Рисунок 1.4) [46, 47].

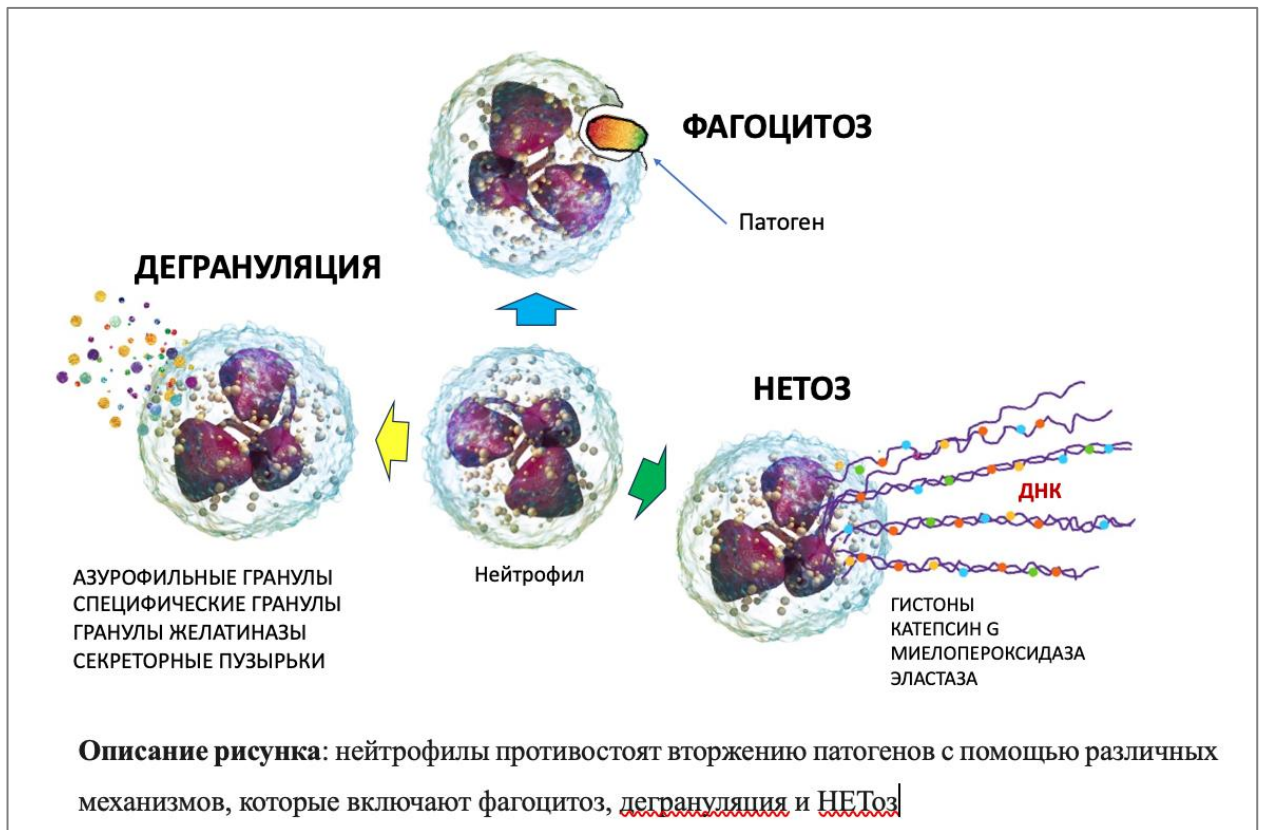


Рисунок 1.4 – Основные функциональные механизмы нейтрофилов (рисунок автора)

В дальнейшем описанные трёхмерные структуры получили название внеклеточных нейтрофильных ловушек (ВНЛ; от англ. Neutrophil Extracellular Traps, NETs). Процесс их формирования, обозначаемый термином «нетоз», сопровождается активацией нейтрофилов и высвобождением внеклеточной ДНК в комплексе с гранулярными и цитоплазматическими компонентами, что приводит к образованию характерных сетчатых структур. Это своего рода сети, которые представляют собой паутины деконденсированного «раскрученного» хроматина в комплексе с антимикробными белками, высвобождаемыми нейтрофилами для того, чтобы зафиксировать и убивать патогенные микробы [47]. Таким образом, ВНЛ способны захватывать бактерии, грибы, простейшие и вирусы (Рисунок 1.5), ограничивать патогенный агент *in situ*, предотвращать системное распространение патогенов и помогать фагоцитам в убийстве патогенов. Сегодня нетоз можно рассматривать как новый способ врожденного иммунного ответа.

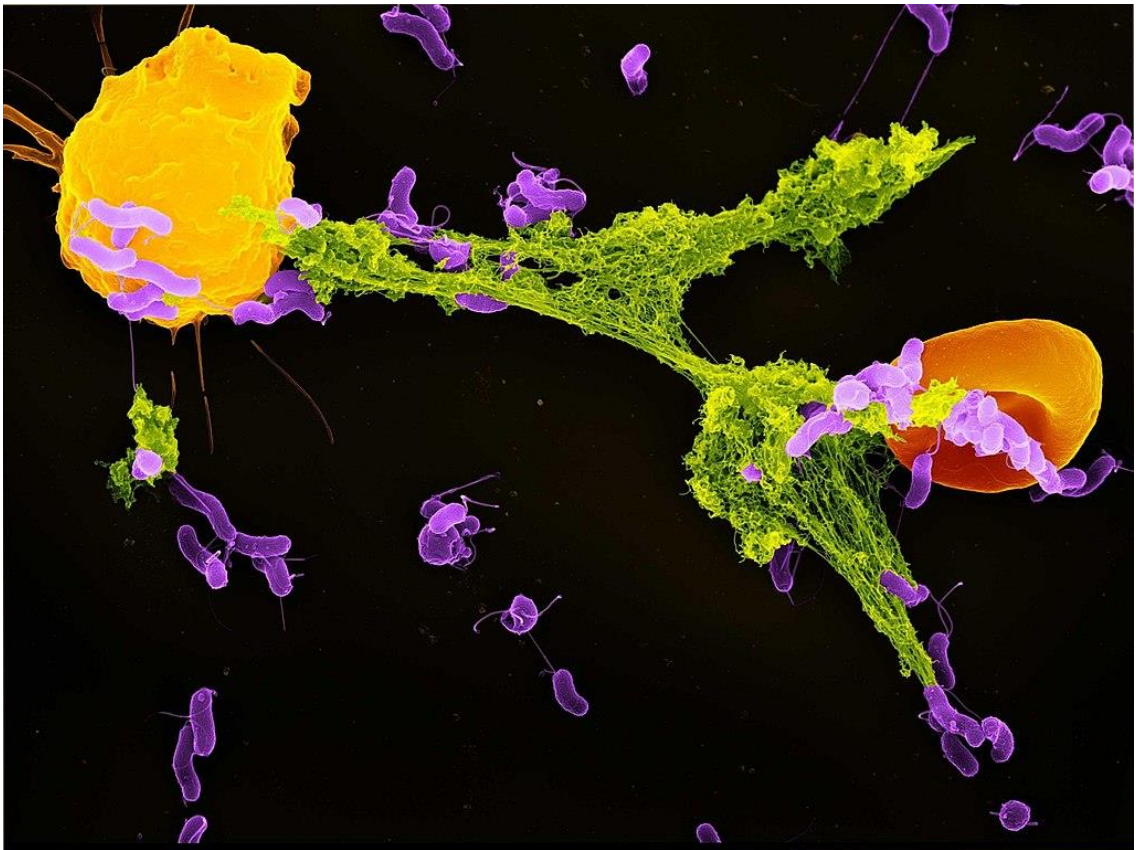


Рисунок 1.5 – Нейтрофил (желтый) выбрасывает сеть (зеленый) для захвата бактерий (фиолетовый). Эритроцит (оранжевый) также попадает в нейтрофильные внеклеточные ловушки (CHDENK/Wikimedia Commons) [48]

Суицидальный и витальный нетоз

Согласно различиям в патогенной стимуляции нейтрофилов, активации сигнальных путей и целостности клеточной мембраны, образование ВНЛ разделено на два типа: **суицидальный нетоз и витальный (или прижизненный) нетоз**.

При суицидальном нетозе после стимуляции ИЛ-8 или бактериальными антигенами нейтрофилы активируют различные рецепторы (Fc-рецепторы иммуноглобулинов, толл-подобные, комплемент-рецепторы) [49]. Также происходит активация коэнзима оксидазы II, которая приводит к увеличению активных форм кислорода (АФК), под действием которых белок пептидиларгининдезиминаза 4 (ПАД4) дополнительно цитруллинирует хроматин, вызывая «размотку» ДНК. АФК способствуют высвобождению фермента миелопероксидазы (МПО) и НЭ в гранулах; в свою очередь, НЭ проникает в ядро,

ускоряя расщепление гистонов, что способствует еще большему раскручиванию ДНК. МПО требуется для разрушения хроматина и ядерной оболочки. После разрыва ядра раскрученные нити ДНК и гистоны попадают в цитоплазму нейтрофила, где антибактериальные белки МПО, цитруллиновый гистон НЗ (ЦГНЗ), НЭ и КатG образуют ранние или внутриклеточные ВНЛ. Через 120 минут после образования ранних ВНЛ нейтрофилы инициируют программу клеточной смерти, наружная мембрана нейтрофилов разрывается, и зрелые ВНЛ высвобождались через перфорацию плазматической мембраны и лизис клеток во внеклеточное пространство. Этот процесс происходит через несколько часов после провоцирующих стимулов, и после высвобождения эти структуры ДНК могут связывать как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии.

В отличие от суицидального, прижизненный или витальный нетоз происходит как после прямого микробного воздействия, так и после воздействия липополисахаридов. Например, золотистый стафилококк вызывает быстрое высвобождение ВНЛ (<30 минут) *in vitro* и *in vivo*. При витальном нетозе активация ПАД4 осуществляется по АФК-независимому механизму и не сопровождается нарушением целостности ядерной или клеточной мембран. Нейтрофилы сохраняют жизнеспособность, а деконденсированные нити ДНК отпочковываются в цитоплазму с последующим формированием ранних внеклеточных нейтрофильных ловушек. Высвобождение данных структур происходит посредством везикулярного транспорта во внеклеточное пространство. Несмотря на отсутствие ядерной ДНК, такие нейтрофилы сохраняют функциональную активность, включая способность к фагоцитозу и уничтожению микроорганизмов.

В дальнейшем ВНЛ были ассоциированы с патогенезом других состояний, включая аутоиммунные заболевания, диабет, рак, преэклампсия [50].

Цитруллинированный гистон НЗ

Гистоны – это положительно заряженные белки, которые упаковывают отрицательно заряженную ДНК в нуклеосомы, основные субъединицы хроматина. Решающая роль ЦГНЗ в деконденсации хроматина иммунных клеток сделала ЦГНЗ центральным маркером ВНЛ. Высокий уровень циркулирующего ЦГНЗ

является предиктором плохого клинического исхода у онкологических больных с двукратным увеличением риска краткосрочной смертности [51].

Миелопероксидаза

МПО является важной молекулой для формирования и функционирования ВНЛ [52]. Наиболее распространенное место синтеза МПО находится в промиелоцитах костного мозга и в определенных популяциях стволовых клеток CD34+, а местом локализации МПО - первичные или азурофильные гранулы нейтрофилов. Фермент относится к семейству ферментов пероксидаз [53] и представляет собой катионную молекулу, связывающуюся со многими отрицательно заряженными структурами на поверхности патогена, которая активируется выработкой супероксида нейтрофилами во время их респираторного взрыва [53]. **Неконтролируемое высвобождение МПО способствует хроническому воспалению** [54] и действует как положительная обратная связь в этом процессе [55].

Катепсин G

КатG член семейства белков пептидазы S1, представляет собой сериновую протеазу с трипсино- и химотрипсин-подобной специфичностью. Зрелый катепсин G содержит 235 аминокислотных остатков и весит 26 кДа и в основном экспрессируется в нейтрофилах и моноцитах в месте воспаления, хранится в азурофильных гранулах и высвобождается при дегрануляции [56]. КатG оказывает влияние на воспаление и иммунную реакцию и может быть главным фактором в патогенезе некоторых аутоиммунных заболеваний. При активации нейтрофилов иммунными комплексами, некоторыми фармакологическими агентами или фагоцитозом, КатG высвобождается из первичных гранул во внеклеточное пространство [57]. После высвобождения в плазму он расщепляет белки внеклеточного матрикса, включая ламинин, протеогликаны, коллаген, фибронектин и эластин, что подразумевает роль в локальном разрушении соединительной ткани в местах повреждения. Также КатG расщепляет комплемент C3 на фрагменты, подобные C3a и C3b и обрабатывает хемокины, функционируя как хемоаттрактант для Т-клеток и других лейкоцитов [58]. Катепсин G

поддерживает острую патологию тканей, опосредованную нейтрофилами, и последующий фиброз после ишемии/реперфузионного повреждения.

Функциональная роль КатГ может реализовываться как в виде **провоспалительных, так и противовоспалительных** эффектов. Направленность его действия определяется физиологическими условиями, локализацией секреции фермента и особенностями субстратов, подвергающихся протеолизу. В результате КатГ-опосредованная активность способна как усиливать воспалительный ответ, так и способствовать его ограничению [59]. Соответственно, было предложено, что ***ингибиторы КатГ могут проявлять потенциал в лечении определенных воспалительных заболеваний***, таких как астма, хроническая обструктивная болезнь легких, эмфизема, реперфузионное повреждение, псориаз и ревматоидный артрит [60]. Однако ингибитор КатГ недоступен для терапевтического использования, а данные клинических испытаний соответствующих кандидатов до сих пор отсутствуют. Одним из кандидатов на роль ингибиторов катепсина G являются босвеллиевые кислоты, которые подавляют функциональные клеточные реакции, опосредованные КатГ. Более того, босвеллиевые кислоты эффективно ингибируют все три нейтрофильные сериновые протеазы азурофильных гранул (КатГ, НЭ и ПР3) [61, 62, 63, 64].

Фактор некроза опухоли

ФНО- α , также известный как кахектин и TNFSF1A, является лигандом суперсемейства ФНО. Это плеiotропный цитокин, который играет центральную роль в воспалении, развитии иммунной системы, апоптозе и метаболизме липидов. ФНО-альфа также участвует в ряде патологических состояний, включая астму, болезнь Крона, ревматоидный артрит, нейропатическую боль, ожирение, септический шок, аутоиммунные заболевания и рак [65, 66]. Он способствует уклонению злокачественных клеток от иммунного ответа, их выживанию и устойчивости к лечению за счет создания благоприятной для развития опухоли микро среды [67]. ФНО- α является ключевым цитокином в развитии нескольких воспалительных заболеваний, вызывая активацию эндотелиальных клеток сосудов и макрофагов. Он способствует развитию диабета 2 типа посредством воздействия

на резистентность к инсулину и метаболизм жирных кислот. Также играет роль в ангиогенезе, стимулируя выработку сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР) синергически с ИЛ-1бета и ИЛ-6 [68]. Сам ФНО- α действует как мощный индуктор других провоспалительных цитокинов и хемокинов, тем самым еще больше усиливая воспалительную реакцию.

Сосудистый эндотелиальный фактор роста

СЭФР – это сигнальный белок, в первую очередь отвечающий за стимулирование роста и поддержание кровеносных сосудов и играет важную роль в регуляции ангиогенеза, процесса, посредством которого новые кровеносные сосуды образуются из существующих [69, 70]. Процесс ангиогенеза – это сложное явление, выходящее за рамки нашего воображения, а постоянство ангиогенеза – основа жизни. Он присутствует как в здоровых, так и в патологических физиологических процессах и играет важную роль в росте, развитии или прогрессировании заболеваний. Эффекты ангиогенеза в организме человека представляют собой состояние баланса между ангиогенными стимуляторами (ангиогенными факторами) и ангиогенными ингибиторами (антиангиогенными факторами). Тонкий баланс между про- и антиангиогенными факторами может быть смодулирован таким образом, чтобы привести к физиологическому заживлению ран или патологическому метастазированию опухолей. Когда тканям требуются кровеносные сосуды, увеличивается секреция факторов, способствующих ангиогенезу, и баланс склоняется в сторону ангиогенеза, что создает возможности для роста новых кровеносных сосудов. Например, восстановление эндометрия после менструации и подготовка эндометрия к имплантации подразумевают глубокие ангиогенные изменения. Заживление раны требует новых кровеносных сосудов для снабжения кислородом и питательными веществами, а также для обеспечения канала для «вызова» иммунных или стволовых клеток, которые способствуют заживлению раневой поверхности.

СЭФР привлекает внимание исследователей в связи с его ролью в патогенезе злокачественных новообразований, сердечно-сосудистых заболеваний и хронических воспалительных состояний [69]. Повышение концентрации СЭФР в

плазме нередко ассоциировано с опухолевым ростом и метастазированием, что обусловлено потребностью пролиферирующих опухолевых клеток в формировании развитой сосудистой сети [71]. По мере прогрессирования опухолевого процесса усиливается секреция СЭФР, стимулирующая ангиогенез за счёт активации эндотелиальных клеток и образования новых кровеносных сосудов, обеспечивающих метаболическую поддержку опухоли. Следовательно, определение уровней СЭФР в плазме может помочь в ранней диагностике и прогнозировании рака, а также служить потенциальной терапевтической целью.

Система комплемента

Система комплемента включает в себя ряд белков, которые играют важную роль во врожденном иммунитете и воспалительных реакциях. Активация системы комплемента продуцирует провоспалительные медиаторы, которые могут воздействовать на эндотелий и усиливать приток лейкоцитов к очагам воспаления [72]. Среди различных белков системы комплемента решающую роль в активации системы играют белки C3 и C4 [73]. Предыдущие исследования показали, что уровень C3 в сыворотке крови у женщин значительно выше, чем у мужчин [74], причем у женщин старше 50 лет уровень C3 значительно выше, чем у более молодых женщин [74]. Эта закономерность повышает вероятность того, что репродуктивные гормоны играют определенную роль в выработке белков комплемента [75]. Неясно, связано ли повышение уровня белков комплемента с менопаузальным переходом или играет какую-либо роль в объяснении увеличения риска различных заболеваний у женщин после менопаузы. В 2013 году были опубликованы результаты пилотного исследования 100 женщин "Исследование женского здоровья по всей стране" (англ. Study of Women's Health Across the Nation, SWAN) [75]. В период с 1996 по 1997 год было набрано 3302 участника в возрасте 42-52 лет из семи различных географических областей США (Бостон, Массачусетс; Детройт, Мичиган; Окленд, Калифорния; Лос-Анджелес, Калифорния; Питтсбург, Пенсильвания; Чикаго, Иллинойс; и Ньюарк, Нью-Джерси). Критериями отбора для участия в исследовании SWAN были: 1) интактная матка и, по крайней мере, 1 яичник, 2) отсутствие беременности или грудного вскармливания, 3) по крайней

мере, 1 менструация в течение последних 3 месяцев, 4) отсутствие применения гормональной терапии в течение последних 3 месяцев.

В рамках исследования [75] они оценили, связаны ли более высокие уровни белков комплемента с менопаузальным статусом, независимо от возраста, расы и ИМТ, и попытались определить их взаимосвязь с маркерами гемостаза/тромбообразования (фактор VIIc, фибриноген, антиген ингибитора активатора плазминогена 1-го типа (англ. plasminogen activator inhibitor type 1, PAI-1) и антиген тканевого активатора плазминогена (англ. tissue plasminogen activator – antigen, tPA-ag)) в выборке женщин среднего возраста. Полученные результаты показали, что сывороточный **С3, но не С4**, был *значимо связан* с менопаузальным статусом независимо от возраста, расы и ИМТ. Оба компонента (и С3, и С4) коррелировали с показателями гемостаза (PAI-1, tPA, фибриноген, FVIIc); авторы рассматривают их как один из путей повышения сердечно-сосудистого риска у менопаузальных женщин. Несмотря на полученные выводы, что компонент С3 связан с состоянием менопаузы, дальнейшие исследования о роли С3 в генезе состояний, связанных с менопаузой, не проводились.

Другое исследование показало значительное повышение уровней белков комплемента С3 и С4 в период последней менструации женщины, при этом у С3 подъем более крутой [75].

1.4.3 Влияние эстрогенов на функцию нейтрофилов и формирование внеклеточных нейтрофильных ловушек

Хотя регуляторная роль эстрогенов в отношении Т/В-лимфоцитов и макрофагов хорошо известна, их влияние на нейтрофилы остается недостаточно изученной. Половые различия в количестве нейтрофилов предполагают потенциальную регуляторную роль половых гормонов, но, к сожалению, на сегодняшний день имеются лишь ограниченные данные относительно влияния эстрогенов на нейтрофилы и опосредованных нейтрофилами воспалительные реакции.

Исследования 1980-х годов показали, что эстрогены нарушают кроветворение и снижают количество клеток костного мозга, вызывая лимфопению и нейтропению у мышей женского пола [76]. Более позднее исследование показало, что 17-бета эстрадиол и его метаболиты стимулируют гранулоцитарную дифференциацию в миобластах и вызывают нейтрофилию [77]. Лечение эстрогенами было способно уменьшить реакцию на сосудистое повреждение посредством ингибирования продукции воспалительных медиаторов, а затем ослабления инфильтрации нейтрофилов в поврежденные артерии [26]. В другой модели инфекции гриппа введение эстрогенов усиливало привлечение нейтрофилов для потенцирования вирус-специфического ответа Т-клеток [78]. Это свидетельствует о том, что влияние эстрогенов на нейтрофилы зависит от типа ткани. Выявление рецепторов эстрогенов ER α , ER β и GPER на поверхности нейтрофилов привело к пониманию молекулярного механизма действия эстрогенов (17 β -эстрадиола, эстрона и эстриола) на функцию нейтрофилов [79]. В своей работе Молеро с соавт. [79] установили, что 17 β -эстрадиол регулирует экспрессию ER (ER α и ER β) в нейтрофилах женщины. Помимо ER α и ER β , GPER остается потенциальной мишенью для эстроген-зависимой регуляции функционирования иммунных клеток. GPER локализуется в эндоплазматическом ретикулуме и в клеточной мембране нейтрофилов. Активация рецептора эстрогенов GPER1 способствует активации нейтрофилов в сторону провоспалительного фенотипа.

Согласно данным Национального обследования здоровья и питания (англ. National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES), у женщин в менопаузе наблюдается снижение количества нейтрофилов [25]. Количество нейтрофилов в кровотоке увеличивается с увеличением концентрации эстрогенов с задержкой в один-два дня [80]. В возрасте до 50 лет у женщин процент нейтрофилов значительно выше, а уровень лимфоцитов ниже. К 50 годам уровень нейтрофилов падает, в то время как лимфоцитов растет. После 56 лет у женщин уровень нейтрофилов постепенно увеличивается [81]. Во время менопаузы падает уровень эстрадиола падает примерно на 70%, что приводит к более высоким показателям апоптоза нейтрофилов и увеличению выработки лимфоцитов [81]. **Измененный**

апоптоз нейтрофилов участвует в патогенезе ряда воспалительных состояний. Изменяя фенотип нейтрофилов, половые гормоны «подготавливают» женский организм к потенциальным воспалительным воздействиям.

Интересный результат был получен при исследовании различных доз эстрогенов на дегрануляцию нейтрофилов. **Был продемонстрирован дозозависимый эффект эстрадиола** – воздействие высокой концентрации эстрадиола (3 мкг/мл), ингибирует высвобождение β -глюкуронидазы и лизоцима из цитоплазматических гранул нейтрофилов [82], тогда как физиологическая концентрация эстрадиола (10 нМ) не влияет на дегрануляцию [83]. Более того, **высокая концентрация эстрадиола (10 мкМ) ингибирует дегрануляцию МПО, эластазу и высвобождение АФК** из цитоплазматических гранул нейтрофилов, тогда как **физиологическая концентрация эстрогенов усиливает этот процесс** [83, 84].

Исследование, проведенное на мышах, инфицированных *Pseudomonas aeruginosa*, стало важной вехой в исследованиях, связанных с противовоспалительным механизмом действия эстрогенов [85]. Нейтрофилы, собранные *in vitro* у животных особей, которым вводили эстрадиол, нарушали уничтожение бактерий, но одновременно усиливали высвобождение МПО и НЭ. Возможно, усиленная продукция МПО и НЭ была вызвана генерацией нейтрофильных внеклеточных ловушек, что позволяет предположить, что этот аспект биологии нейтрофилов также регулируется эстрогенами. Данная гипотеза была подтверждена в некоторых исследованиях, которые продемонстрировали увеличение **генерации ВНЛ *in vitro* в нейтрофилах, инкубированных с эстрадиолом** [86]. Наблюдалась повышенная экспрессия гистонов H3, МПО и ПАД4, а также генерация АФК. Более того, экспрессия мРНК генов ПАД4, НЭ, МПО, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α **увеличивалась в ответ на физиологическую концентрацию эстрадиола.** И, напротив, ингибирование рецепторов эстрогенов ER α и ER β подавляло генерацию ВНЛ. Хотя целью формирования ВНЛ является уничтожение патогена, содержимое клеток, которое выбрасывается в окружающую среду, усиливает продолжающееся воспаление. Это может привести к

прогрессированию некоторых заболеваний, включая аутоиммунные состояния. Например, до 50–60% беременностей связаны с обострениями системной красной волчанки; большинство из них происходят во втором и третьем триместрах, когда уровень эстрогенов самый высокий. Эти наблюдения предполагают, что воздействие эстрогена на нейтрофилы может вызывать как провоспалительные, так и противовоспалительные реакции.

Хотя накоплен значительный объем знаний о бимодальной роли эстрогенов в регуляции иммунных реакций, их влияние на формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек у женщин с ГУМС и дефицитом эстрогенов в различные возрастные периоды изучено не было. Различные доказательства аберрантной активности нейтрофилов при некоторых аутоиммунных состояниях, опухолях, тяжелых осложнениях беременности предполагают, что такая явная активность нейтрофилов способствует увеличению образования нейтрофильных внеклеточных ловушек. **Первоначальной обнаруженный как механизм врожденной защиты врожденной иммунной системы, ВНЛ при нарушении своего формирования могут вызывать повреждение или гибель клеток и эндотелиальную дисфункцию с нарушением кровоснабжения тканей.**

Помимо дефицита стероидных гормонов, нельзя недооценивать роль других факторов в возникновении вульвовагинальной атрофии как симптома ГУМС.

1.4.4 Роль витамина D

В последние годы спектр органов-мишеней витамина D расширился за пределы гомеостаза кальция в костной ткани, и появилось все больше доказательств относительно потенциальной роли витамина D в мужской и женской репродуктивной функции с особым акцентом на стероидогенез и продукцию гонадных пептидных гормонов [87]. Ткани мочеполовых органов крайне чувствительны к изменениям уровня витамина D. Многочисленные клинические исследования также отмечают его связь с различными мочеполовыми расстройствами и улучшением вульвовагинальных симптомов, связанных с ГУМС

при приеме добавок витамина D [88]. Известно положительное влияние витамина D на различные аспекты, такие как pH влагалища, сухость, сексуальная функция, снижение либидо и уменьшение инфекций мочевыводящих путей [26].

Было предложено много механизмов, лежащих в основе этих фармакологических эффектов [89]. Эффекты витамина D опосредованы рецептором витамина D (PBD), который экспрессируется вместе с ферментами, метаболизирующими витамин D в поверхностных слоях репродуктивных тканей. Это означает, что репродуктивные органы реагируют на витамин D и способны метаболизировать его локально [86]. PBD являются одними из регуляторов развития и дифференцировки эпителия мочевыводящих путей и наружных половых органов [26, 90].

Кроме того, витамин D индуцирует экспрессию белков семейства моэзин-эзрин-радиксин-мерлин (МЭРМ), которые широко представлены в толще вагинальной ткани. Влагалище выполняет репродуктивную, опорную и барьерную функции, которые строго контролируются ключевыми белками различных эпителиальных клеток. Одними из таких ключевых белков вагинальной стенки являются цитоскелетные белки, которые определяют клеточную полярность и специализацию мембран путем интеграции актинового цитоскелета с клеточными мембранами. Эта интеграция является областью цитоскелетных белков, включая семейство белков МЭРМ [91]. Они влияют на прочность и упругость трубчатой структуры влагалища. Эстрадиол индуцирует экспрессию белка эзрина, который активно экспрессируется в стенке влагалища и играет роль в обеспечении механической устойчивости и эластичности его трубчатой структуры. Во влагалище, как и в других тканях, белок эзрин, модулирует взаимодействие между клетками влагалища, регуляцию эластичности влагалища и регуляцию микробного и химического трафика, который определяет pH и микробную среду влагалища. Сформированный цитоскелет вагинального эпителия играет важную роль в поддержании структурной целостности слизистой оболочки и регуляции локальной микробной среды, включая уровень pH и механическую гибкость стенок влагалища. Кроме того, витамин D повышает экспрессию корнефина β – маркера

плоскоклеточной дифференцировки, а также индуцирует экспрессию генов, кодирующих белки межклеточных соединений, что способствует сохранению барьерной функции влагалищного эпителия. По данным экспериментальных и клинических исследований, индуцированная витамином D реэпителизация влагалищной слизистой сопоставима по выраженности с эффектами, наблюдаемыми при применении эстрогенов [26, 90].

При достаточном уровне витамина D поддерживается регуляция углеводного обмена во влагалищном эпителии, что сопровождается увеличением накопления гликогена и способствует сохранению физиологически кислого pH влагалищной среды [26].

Наряду с этим витамин D играет важную роль в поддержании иммунного гомеостаза и защитных механизмов организма [92]. Различные защитные факторы, включая антимикробные пептиды и врожденную иммунную систему, усиливаются при адекватном уровне витамина D. У женщин после наступления менопаузы наблюдаются нарушения иммунной регуляции, проявляющиеся повышением провоспалительных маркеров, снижением количества CD4⁺ Т- и В-лимфоцитов и увеличением цитотоксической активности естественных киллерных клеток [26].

Поскольку исследования в этой области продолжаются, существует потенциал для витамина D поддерживать урогенитальное и сексуальное здоровье женщин в период менопаузального перехода и менопаузального периода.

1.4.5 Роль микробиоты влагалища

На сегодняшний день многие исследования сосредоточены на изучении вагинальной микробиоты у женщин с ГУМС [93, 94, 95]. Известно, что микробиота играет важную роль в здоровом гомеостазе влагалища, включая поддержание баланса pH и исключение патогенов. Исследования, демонстрирующие взаимосвязь между симптомами ГУМС и снижением лактобактерий во влагалище у женщин в менопаузе, позволяют предположить, что степень колонизации влагалища лактобациллами играет роль в прогрессировании ГУМС [96].

Для изучения различий в микробиоте влагалища у женщин без ГУМС, и женщин, страдающих ГУМС, Зенг и соавт. [93] провели клиническое исследование, в котором приняли участие 96 женщин перименопаузального и менопаузального периодов. Пациенты с ГУМС, включенные в исследование, были в возрасте от 42 до 85 лет. Авторы обнаружили, что 83,58% (56/67) женщин испытывали симптомы ГУМС в перименопаузе и менопаузе. Среди этих женщин с ГУМС 23,21% (13/56), 23,21% (13/56) и 53,57% (30/56) имели один тип, два типа и три типа симптомов ГУМС соответственно. В группе пациенток с двумя симптомами ГУМС клинические проявления были представлены исключительно сочетанием генитальных и сексуальных симптомов (100%). Напротив, у женщин с одним симптомом наблюдались только генитальные (30,77%), урологические (23,08%) либо сексуальные (46,15%) расстройства.

Как представлено на Рисунке 1.6, разнообразие вагинальной микробиоты у женщин постепенно увеличивалось от репродуктивного до менопаузального периодов. Более того, наблюдались значительные различия в составе влагалищного микробиоценоза в зависимости от наличия или отсутствия симптомов ВВА. Лактобактерии являлись доминирующим видом бактерий в репродуктивной и перименопаузальной группах, но не в ранней менопаузальной и поздней постменопаузальной группах. Была очевидная разница в количестве лактобацилл у женщин с проявлениями и без симптомов ГУМС. Присутствие лактобацилл было обратно связано с дебютом заболевания, его тяжестью и выраженностью симптомов, тогда как увеличение доли таких родов, как *Escherichia-Shigella*, *Anaerococcus*, *Finnegoldia*, *Enterococcus*, *Peptoniphilus harei* и *Streptococcus*, ассоциировалось с усилением генитальных и сексуальных проявлений ГУМС.

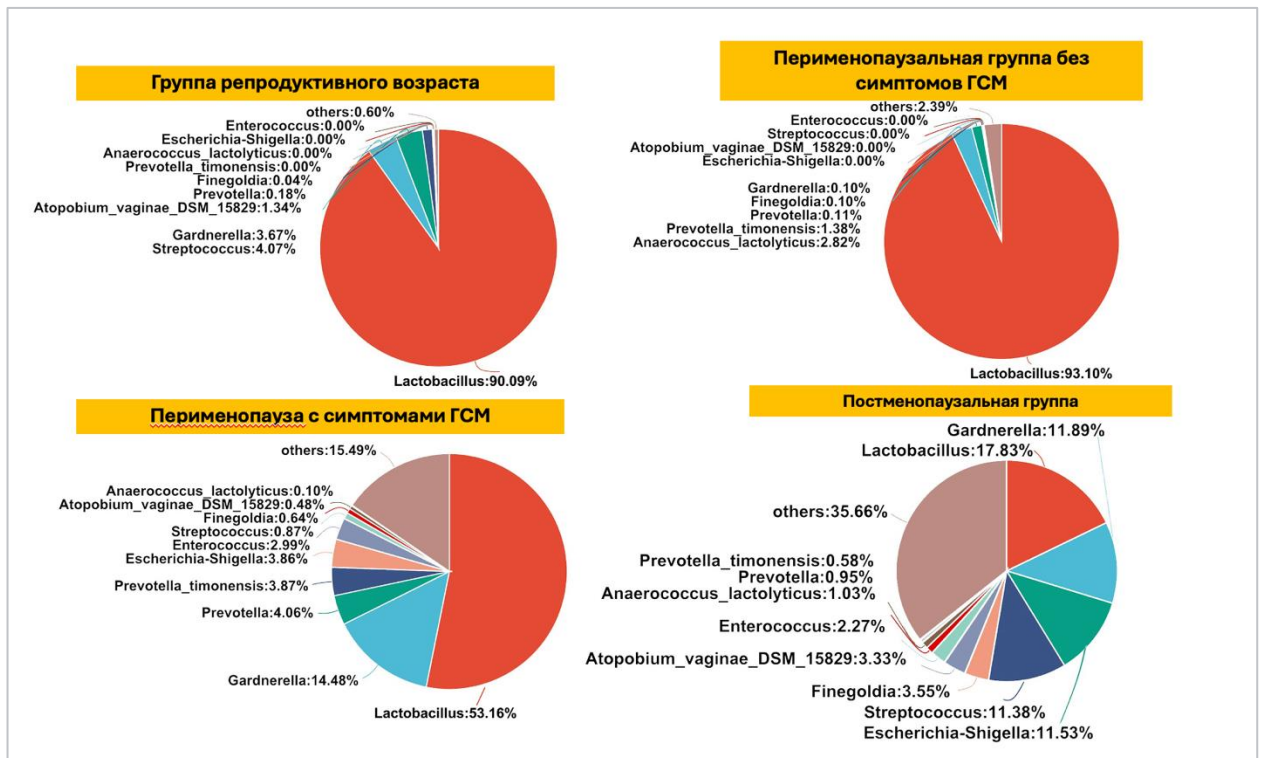


Рисунок 1.6 – Анализ микробиоты влагалища у женщин с или без проявлений ГУМС [93]

Эти результаты показали, что вагинальная микробиота связана с симптомами ВВА у женщин [96].

1.5 Вульвовагинальная атрофия у женщин с гинекологическим раком в анамнезе

Опухоли женских половых путей, так же, как и лечение гинекологических неоплазий хирургическим путем, химиотерапией и/или лучевой терапией влияют на репродуктивные органы, сексуальное здоровье и личные аспекты жизни пациентки [21, 97, 98]. Вагинальные симптомы, распространенные у онкологических больных, включают вагинальную боль (40%), кровотечение (35%), вагинизм (28%), воспаление (20%), сухость (45%), отсутствие смазки (33%) и диспареуния (32%) [99].

ВВА является одним из морфологических изменений, наблюдаемых у лиц с анамнезом гинекологического рака, на которое влияют как биологическая среда

опухолей, так и основные применяемые методы противоопухолевой терапии [47, 100, 101]. У пациенток с онкогинекологическими заболеваниями, проходящих гормональную терапию, системную химиотерапию, лучевую терапию или хирургическое вмешательство, происходит повреждение или удаление яичников, что приводит к дефициту эстрогенов и возникновению или ухудшению симптомов ВВА [102, 103]. Все методы лечения рака оказывают непосредственное воздействие на наружные половые органы, что сочетается с последующим гипоестрогенным состоянием менопаузы и приводит к более выраженному истончению слизистой влагалища и вульвы.

Химиотерапевтические препараты оказывают гонадотоксическое действие, вызывая разрушение фолликулов и недостаточность яичников [11]. Аменорея во время лечения может быть связана с менопаузой, положительными гормональными рецепторами, использованием тамоксифеном и антиэстрогенами. Индуцированная менопауза является результатом пангистерэктомии или двусторонней сальпингоофорэктомии. Лучевая терапия оказывает гонадотоксическое действие, нарушает васкуляризацию и иннервацию вульвы и влагалища, вызывая измененную или повышенную чувствительность тканей [88, 102]. После радиотерапии органов малого таза кожа вокруг вульвы становится сухой, болезненной. Наблюдается сухость и стеноз влагалища, что способствует болезненности при половом контакте и делает будущие вагинальные исследования некомфортными. Другим побочным эффектом радиотерапии является хроническая боль и утолщение тканей влагалища вследствие развития фиброза. После противоопухолевой терапии наблюдались выраженные морфологические изменения влагалища, наиболее выраженные у получивших самую высокую дозу облучения в месте биопсии. Атрофия слизистой оболочки вульвы и влагалища наблюдается у 91%, а фиброз таза – у 97%. У женщин, перенесших радиотерапию рака шейки матки, выявлены признаки эласто́за с толстыми агрегированными эластиновыми волокнами, неравномерно разбросанными по всей соединительной ткани, в то время как у контрольной группы эластиновые волокна находились в тонком субэпителиальном слое. Это ведет к укорочению и сужению вульвы и

влагалища, причем первоначальные изменения происходят в течение нескольких недель и ухудшаются с течением времени. У пациентов с РШМ наблюдаются более высокие показатели стеноза, чем при раке эндометрия (79% против 67%) [88, 103].

Хирургическое лечение также может привести к образованию рубцовой ткани или нарушению иннервации, что вызывает хроническую боль, онемение, измененную или повышенную чувствительность.

В отличие от здоровых женщин, пациентов с онкогинекологическими заболеваниями наблюдается низкая численность лактобацилл и преобладание множественных условно-патогенных бактерий.

1.6 Вульвовагинальная атрофия у женщин, перенесших рак молочной железы

Каждый год все больше новых случаев РМЖ диагностируется среди женщин репродуктивного возраста. Улучшение скрининга и лечения РМЖ привело к повышению показателей выживаемости за последние два десятилетия, что привело к увеличению в мире популяции женщин с РМЖ, но и увеличению в мире популяции женщин с РМЖ в анамнезе [104]. Многие женщины после терапии РМЖ, особенно молодые, испытывают симптомы ГУМС, как прямое следствие химиотерапии, тамоксифена, ингибиторов ароматазы (ИА) и подавления функции яичников. У пациенток с РМЖ после проведения противоопухолевой терапии значительно чаще наблюдаются сухость наружных половых органов, жжение и раздражение, эпизоды кровянистых выделений при половом контакте, дискомфорт или болевые ощущения при гинекологическом осмотре, а также склонность к рецидивирующим инфекциям мочевыводящих путей [10].

Гормональная терапия гормон-зависимых опухолей молочной железы включает применение ИА у пациенток в менопаузе и селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов (СМЭР), как правило, тамоксифен, для пациенток в пременопаузе или с низким риском менопаузы. ИА подавляют выработку эстрогенов, в то время как метаболит тамоксифена, эндоксифен, действует как

антагонист эстрогеновых рецепторов, но стимулирует альфа-эстрогеновые рецепторы во влагалище, потенциально увеличивая секрецию и снижая риск ВВА. Отношение онкологов-маммологов к назначению адъювантной терапии соответствует последним рекомендациям по лечению РМЖ, отдавая предпочтение ИА вместо тамоксифена. Пациенты, особенно те, кто использует ИА [88, 105] называют ВВА одним из самых неприятных побочных эффектов. К примеру, в Италии препаратом первой линии (65% случаев) у женщин в перименопаузе является тамоксифен с подавлением функции яичников в качестве антигормональной адъювантной терапии; ИА с подавлением функции яичников назначаются только в 15% случаев [97]. У женщин в менопаузе онкологи назначают ИА в качестве лечения первого выбора (83% случаев), тогда как тамоксифен назначается только у 17% пациенток. Как показали результаты обзора, у 60% женщин в менопаузе (принимали тамоксифен) и 39% женщин в перименопаузе (принимали ИА) развились симптомы ВВА. Почти 42% пациенток с РМЖ, получавших лечение ИА, были недовольны своей сексуальной жизнью, а 50% сообщили о снижении сексуального интереса; что намного чаще, чем у пациенток, получавших лечение тамоксифеном, и контрольной группы ($P < 0,05$). Пациентки, получавшие лечение ИА, сообщили о недостаточной смазке в 73,9% случаев и диспареунии в 56,5% случаев, что было значительно более распространено, чем в контрольной группе, независимо от приема гормонов ($P < 0,05$). Пациентки, получавшие лечение тамоксифеном, предъявляли жалобы на значительно большую частоту диспареунии (31,3%; $P < 0,05$), но соответствовали контрольную группу по всем другим параметрам.

Риби с соавт. [93] проанализировали качество жизни у 1722 перименопаузальных пациенток с гормонально-позитивным раком молочной железы, рандомизированных на тамоксифен с супрессией яичников или только на тамоксифен. Отмечалась потеря сексуального интереса уже через 6 месяцев и сухость влагалища до 60 месяцев у женщин, получавших тамоксифен с супрессией функции яичников по сравнению с тамоксифеном без супрессии [106].

1.7 Вульвовагинальная атрофия у женщин с постовариэктомическим синдромом (радикального хирургического лечения) без онкогинекологического анамнеза

Постовариэктомический синдром, развивающийся у женщин после двусторонней овариэктомии, представляет собой совокупность клинических, метаболических и психоэмоциональных нарушений, обусловленных резким и необратимым прекращением функции яичников [96, 97, 101]. В отличие от естественной менопаузы, при которой снижение продукции половых стероидов носит постепенный характер, хирургическая менопауза сопровождается внезапным и выраженным дефицитом эстрогенов и андрогенов, что приводит к более раннему и тяжёлому развитию менопаузальных симптомов.

Одним из ключевых проявлений постовариэктомического синдрома является ВВА. У женщин без онкогинекологического анамнеза двусторонняя овариэктомия чаще всего выполняется по поводу доброкачественных гинекологических заболеваний, таких как эндометриоз, миома матки, хронический болевой синдром, воспалительные заболевания органов малого таза или в рамках профилактических хирургических вмешательств [101]. Несмотря на доброкачественный характер исходной патологии, гормональные последствия радикального хирургического лечения оказываются клинически значимыми и во многом сопоставимыми, а в ряде случаев и превосходящими по выраженности изменения, наблюдаемые при естественной менопаузе. Клинические проявления ВВА у женщин с постовариэктомическим синдромом включают сухость влагалища, жжение, зуд, диспареунию, рецидивирующий дискомфорт в области вульвы и влагалища, а также нарушение сексуальной функции. У пациенток репродуктивного и перименопаузального возраста данные симптомы часто имеют более выраженный характер по сравнению с женщинами в естественной менопаузе, что обусловлено резким гормональным «обрывом» и отсутствием периода адаптации. Это оказывает существенное негативное влияние на качество жизни,

психоэмоциональное состояние и сексуальное здоровье женщин, перенесших радикальное хирургическое лечение [96].

В отличие от пациенток с онкогинекологическими заболеваниями, у женщин с постовариэктомическим синдромом без онкологического анамнеза применение гормональной терапии не имеет принципиальных ограничений и рассматривается как патогенетически обоснованный подход к коррекции гипоестрогенных нарушений, включая вульвовагинальную атрофию. Использование системной и/или локальной гормональной терапии позволяет уменьшить выраженность атрофических изменений и улучшить качество жизни пациенток.

1.8 Заключение

ВВА, как проявление ГУМС, – это хроническое прогрессирующее рецидивирующее состояние, которое затрагивает наружные половые органы и связано со снижением уровня эстрогенов при наступлении менопаузы. С уменьшением циркулирующих половых стероидов и их предшественников, симптомы ВВА могут начаться в перименопаузе, усиливаться в раннем менопаузальном периоде и еще больше проявляются в течение 2–3 лет после наступления менопаузы. Симптомы варьируют по степени тяжести от легких до тяжелых. В отличие от вазомоторных симптомов, вагинальные симптомы, связанные с ГУМС, не проходят спонтанно и усиливаются с течением времени. Учитывая рецидивирующий характер заболевания, симптомы при отсутствии должного пациент-ориентированного лечения, возобновляются. В связи с этим требуется постоянная коррекция симптомов, что приводит к дистрессу и депрессии.

Без понимания факторов риска и патогенетических механизмов возникновения заболевания невозможно раннее выявление и индивидуально подобранное фармакологическое (эстрогены, селективный модулятор рецепторов эстрогена, синтетический стероид, окситоцин и дегидроэпиандростерон) и/или нефармакологическое (лазерная терапия, увлажнители и лубриканты,

гомеопатические средства, изменение образа жизни) лечение, которое имеют первостепенное значение не только для улучшения качества жизни, но и для предотвращения обострения симптомов.

Опираясь на существующие на сегодняшний день исследования, можно предположить, что существует дозозависимое влияние эстрогенов на врожденную иммунную систему и нейтрофилы, в частности. При нарушении баланса провоспалительных и противовоспалительных эффектов эстрогенов нейтрофилы формируют ВНЛ, что, в свою очередь, приводит к повреждению тканей и является одним из триггеров ВВА. Компоненты ВНЛ вызывают повреждение окружающих тканей, усиливают провоспалительный статус и вызывают нарушения микроциркуляции. То есть, ВНЛ могут играть роль в усилении воспаления, наблюдаемого при различных аутоиммунных заболеваниях, онкологическом процессе и, возможно, патогенетически связаны с более тяжелыми формами ВВА. Ингибирование ВНЛ может снизить тяжесть многих заболеваний, улучшая выживаемость этих пациентов.

В связи с чем, мы предполагаем, что ингибирование формирования ВНЛ или блокирование одного из компонентов ВНЛ может являться потенциальной терапевтической мишенью и быть патогенетически обусловленной терапией при персонифицированном подходе к ведению пациентов с ВВА.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационное исследование выполнено на кафедре акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) (заведующий кафедрой – д.м.н., профессор, академик РАН А. Д. Макацария) в период с 2023 по 2025 гг.

Исследование проведено в соответствии с этическими принципами медицинских исследований, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г., с последующими пересмотрами). Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И. М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); выписка из протокола заседания ЛЭК № 25–25 от 15.12.2025 г.

Перед включением в исследование все пациентки были подробно проинформированы о его целях, методах и потенциальных рисках, после чего дали письменное информированное добровольное согласие на участие в медицинском исследовании.

2.1 Дизайн настоящего исследования

Настоящее исследование выполнено как наблюдательное сравнительное, поперечное по дизайну, направленное на оценку клинического значения определения ВНЛ, провоспалительных цитокинов и маркеров ангиогенеза у женщин с ВВА с гинекологическим раком в анамнезе и без него.

По сбору материала (клинических данных и биологических образцов) исследование являлось проспективным: включение пациенток, забор крови и регистрация клинических параметров проводились по единому протоколу.

Лабораторный анализ осуществлялся однократно, без динамического наблюдения (поперечное исследование).

Набор пациенток осуществлялся нерандомно, в зависимости от клинической ситуации. Объектом исследования были женщины с клинически верифицированной ВВА и гинекологическим раком в анамнезе с различным типом перенесенной противоопухолевой терапии, женщины с доброкачественными заболеваниями женских половых органов и ВВА (без рака женских половых органов), а также женщины контрольной группы без признаков ВВА. В зависимости от наличия ВВА и характера анамнеза (в том числе перенесённой противоопухолевой терапии) было сформировано пять параллельных групп.

Пациентки получали стандартную диагностику и лечение без каких-либо вмешательств. Мы провели только один дополнительный забор венозной крови (5–8 мл), что по требованиям ЛЭК является минимальным вмешательством. Других диагностических или лечебных процедур не было.

Предметом исследования стали клинические проявления ВВА и показатели иммуновоспалительного профиля. В частности, маркеры ВНЛ, провоспалительные цитокины, маркеры ангиогенеза и компоненты системы комплемента.

Пациентки с перенесенным гинекологическим раком были включены нами в работу минимум через шесть месяцев после завершения противоопухолевой терапии. Это позволяло минимизировать влияние острых эффектов лечения на исследуемые показатели.

2.2 Характеристика обследованных участниц исследования

В исследовании приняли участие 215 женщин в возрасте 53 лет ([49,1-58,1]), из которых 180 женщин имели ВВА, подтверждённую на основе жалоб, данных гинекологического осмотра и морфологической верификации. В исследование вошли пациентки с разным клиническим анамнезом, в том числе те, кто проходил радикальное хирургическое лечение (РХЛ), химиолучевую терапию (ХЛТ) или антиэстрогенную терапию (АЭТ) по поводу злокачественных опухолей женской

репродуктивной системы, а также женщины без онкогинекологического анамнеза. Контрольную группу составили 35 женщин без признаков атрофических изменений слизистой оболочки влагалища. Все участницы находились в менопаузе разной продолжительности или имели индуцированную менопаузу после противоопухолевого лечения [107].

На начальном этапе были оценены симптомы ВВА, такие как сухость влагалища, дискомфорт, жжение, диспареуния и дизурические расстройства. При анализе акушерско-гинекологического и соматического анамнезов уделялось длительности гипоэстрогенного состояния и сопутствующим соматическим заболеваниям. При гинекологическом осмотре изучали состояние слизистой влагалища и наружных половых органов, оценивая цвет, степень истончения эпителия, эластичность тканей, выраженность складчатости, микротрещины и петехии. Клинические показатели, отражающие функциональное состояние влагалищной слизистой, использовались для объективной оценки степени атрофических изменений.

По результатам гинекологического осмотра женщины в контрольной группе не имели клинических признаков атрофических изменений слизистой оболочки влагалища и не имели жалоб, характерных для ВВА. Менопаузальный статус женщин контрольной группы соответствовал возрастным физиологическим изменениям.

Таким образом, группы пациенток были однородными по клиническим и возрастным характеристикам. Это позволило провести последующее сравнение показателей иммунновоспалительного профиля и симптомов ВВА в соответствии с анамнезом пациенток.

2.3 Формирование групп исследования

Клинический анамнез, тип противоопухолевого лечения и наличие или отсутствие ВВА определяли состав исследуемых групп. Распределение пациентов осуществлялось нерандомизированно, что отражало естественное течение

заболевания и особенности проведенной раньше терапии. Для выполнения поставленной цели и задач нами было сформировано пять параллельных клинических групп:

Первая группа включала женщин с ВВА, развившейся после радикального РХЛ по поводу гинекологических злокачественных новообразований ($n = 52$). У всех пациенток данной группы имела место индуцированная хирургическая менопауза, обусловленная пангистерэктомией, без последующего проведения химиотерапии или лучевой терапии малого таза. Из 52 пациенток первой группы - 38 женщин с раком шейки матки (РШМ) cancer in situ; IA; IB1; IB2 и 14 женщин с раком эндометрия (РЭ) I-II стадии.

Вторая группа состояла из женщин с ВВА после ХЛТ по поводу гинекологического рака ($n = 27$). В нее вошли женщины, завершившие курс лучевой терапии малого таза, с химиотерапией или без неё, не ранее чем через 6 месяцев до момента включения в исследование. Все женщины были с РШМ IB2; IB3; IIA1; IIA2.

В третью группу вошли женщины с ВВА после АЭТ по поводу РМЖ (ИА, селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов), без лучевой терапии малого таза ($n = 48$). В третью группу вошли женщины с перенесенным РМЖ I-II стадии.

Четвёртая группа состояла женщины с клинико-морфологическим диагнозом ВВА в естественной менопаузе без хирургического вмешательства и онкогинекологических заболеваний в анамнезе ($n = 53$).

Пятую (контрольную) группу составили практически здоровые женщины, у которых не было признаков ВВА и онкологических заболеваний в анамнезе ($n = 35$) [47].

В результате сформированные группы позволяли провести сравнительную оценку клинических проявлений ВВА и показателей иммунновоспалительного профиля в зависимости от наличия злокачественных опухолей женской репродуктивной системы в анамнезе и характера проведённого противоопухолевого лечения.

Графическая схема всех групп представлена на Рисунке 2.1.



Примечание: ВВА – вульвовагинальная атрофия; РХЛ – радикальное хирургическое лечение; РШМ – рак шейки матки; РЭ – рак эндометрия; РМЖ – рак молочной железы; АЭТ – антиэстрогенная терапия; ХЛТ – химиолучевая терапия; ВНЛ – внеклеточные нейтрофильные ловушки; ФНО-альфа – фактор некроза опухоли альфа; СЭФР – сосудистый эндотелиальный фактор роста.

Рисунок 2.1 – Графическая схема дизайна исследования

2.4 Критерии включения, невключения и исключения в исследование

Формирование групп для участия в проводимой нами научной работе осуществлялось с учётом заранее установленных критериев включения, невключения и исключения.

2.4.1 Критерии включения

В исследование включались пациентки при одновременном соблюдении следующих условий:

- наличие подписанного информированного добровольного согласия на участие в исследовании;
- женский пол;
- возраст от 40 до 70 лет;
- наличие клинико-морфологически верифицированной вульвовагинальной атрофии (код N95.2 по МКБ-10) – для основных клинических групп;
- Отсутствие соматической патологии в тяжелой степени [106].

Критерии включения, специфические для отдельных групп:

Группа 1. Женщины с ВВА после радикального хирургического лечения:

- наличие клинико-морфологически верифицированной ВВА (код N95.2 по МКБ-10);
- наличие в анамнезе радикального хирургического лечения по поводу гинекологического злокачественного новообразования с выполнением пангистерэктомии;
- наличие индуцированной хирургической менопаузы;
- отсутствие в анамнезе химиотерапии и лучевой терапии малого таза;
- завершение хирургического лечения не менее чем за 6 месяцев до включения в исследование.

Группа 2. Женщины с ВВА после химиолучевой терапии:

- наличие клинико-морфологически верифицированной ВВА (код N95.2 по МКБ-10);
- наличие в анамнезе лучевой терапии малого таза по поводу гинекологического рака, с химиотерапией или без неё;
- завершение курса лучевой терапии не менее чем за 6 месяцев до момента включения в исследование.

Группа 3. Женщины с ВВА на фоне антиэстрогенной терапии:

- наличие клинико-морфологически верифицированной ВВА (код N95.2 по МКБ-10);
- проведение антиэстрогенной терапии (ингибиторы ароматазы, селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов) по поводу РМЖ;
- отсутствие в анамнезе лучевой терапии малого таза;
- длительность антиэстрогенной терапии не менее 6 месяцев к моменту включения в исследование.

Группа 4. Женщины с ВВА без онкогинекологического анамнеза:

- наличие клинико-морфологически верифицированной ВВА (код N95.2 по МКБ-10);
- наличие естественной менопаузы;
- отсутствие в анамнезе онкологических заболеваний;
- отсутствие в анамнезе противоопухолевой терапии (хирургической, химиотерапии, лучевой терапии, антиэстрогенной терапии).

Группа 5. Контрольная группа (практически здоровые женщины):

- отсутствие субъективных жалоб, характерных для ВВА;
- отсутствие клинических и объективных признаков атрофических изменений слизистой оболочки влагалища по данным гинекологического осмотра;
- отсутствие онкологических заболеваний и противоопухолевого лечения в анамнезе;
- отсутствие гормонозависимых заболеваний, требующих длительной гормональной терапии [66].

2.4.2 Критерии невключения

Пациентки не включались в исследование при наличии хотя бы одного из следующих факторов:

- возраст до 40 лет и после 70 лет;

- беременность или период лактации;
- острые воспалительные заболевания органов малого таза;
- активные аутоиммунные заболевания;
- сахарный диабет в стадии декомпенсации;
- хроническая болезнь почек III стадии и выше;
- выраженная печёночная недостаточность;
- проведение иммуносупрессивной терапии в течение 3 месяцев, предшествующих включению в исследование;
- антибактериальная терапия менее чем за 14 дней до включения;
- психические заболевания, ограничивающие возможность соблюдения протокола исследования;
- наличие онкологических заболеваний иной локализации, за исключением ранее леченного гинекологического рака;
- любые иные состояния, которые, по мнению исследователя, могли повлиять на безопасность пациентки или корректность получаемых данных.

2.4.3 Критерии исключения

Пациентка могла быть исключена из исследования на любом этапе при возникновении одного из следующих обстоятельств:

- добровольный отказ от дальнейшего участия в исследовании;
- невозможность соблюдения протокола исследования (утрата контакта, переезд);
- начало иммуносупрессивной или противовоспалительной терапии, способной повлиять на изучаемые лабораторные показатели;
- развитие острого инфекционного после включения в исследование;
- несоответствие установленным критериям включения или невключение после начала участия в исследовании.

2.5 Методы клинического обследования

Сбор жалоб и анамнестических данных, общий и гинекологический осмотр, а также оценка симптомов ВВА были частью клинического обследования пациенток по единому стандартизированному протоколу.

Таблица 2.1 отражает структуру гинекологических заболеваний у обследованной когорты пациенток с ВВА (n=180). Наибольшую долю в структуре женщин с ВВА составили злокачественные новообразования: РШМ был диагностирован у 65 пациенток (36,1%), РМЖ – у 48 пациенток (28,7%), РЭ – у 14 пациенток (7,8%) [106].

Среди доброкачественных гинекологических заболеваний наиболее часто встречалась миома матки – у 27 пациенток (15,0%), а также аденомиоз – у 23 пациенток (12,8%). Кисты яичников были выявлены у 21 пациентки и представлены преимущественно эндометриоидными кистами (12 пациенток; 6,7%), реже – дермоидными кистами (5 пациенток; 2,8%) и простой кистаденомой (4 пациентки; 2,2%).

Таблица 2.1 – Структура гинекологических заболеваний у обследованной когорты пациентов [106]

Гинекологические заболевания	Количество пациенток с ВВА	
	абс.	%
Рак шейки матки	65	36,1
Рак молочной железы	48	28,7
Рак эндометрия	14	7,8
Миома матки	27	15,0
Аденомиоз	23	12,8
Кисты яичников эндометриоидные	12	6,7
Кисты яичников дермоидные	5	2,8
Простая кистаденома	4	2,2
ИТОГО	180	100
Примечание: ВВА – вульвовагинальная атрофия.		

Таблица 2.2 представляет структуру экстрагенитальных заболеваний у обследованной когорты пациенток с ВВА и в контрольной группе. У пациенток с ВВА (n = 180) наиболее часто выявлялся синдром раздражённого кишечника, диагностированный у 111 женщин (61,7%). Значимую долю также составили артериальная гипертензия – у 76 пациенток (42,2%), хронический холецистит – у 73 пациенток (40,6%), хронический гастрит – у 68 пациенток (37,7%) и дерматозы – у 68 пациенток (37,7%). Патология щитовидной железы была отмечена у 44 пациенток (24,4%), метаболический синдром – у 38 пациенток (21,1%), варикозная болезнь нижних конечностей – у 20 пациенток (11,1%). Реже встречались хронический пиелонефрит (5,0%) и другие сопутствующие заболевания.

Таблица 2.2 – Структура экстрагенитальных заболеваний у обследованных пациенток

Экстрагенитальные заболевания	Количество пациенток с ВВА (n=180)		Контрольная группа (n=35)	
	абс.	%	абс.	%
Синдром раздраженного кишечника	111	61,7	18	51,4
Артериальная гипертензия	76	42,2	12	34,3
Хронический холецистит	73	40,6	22	62,9
Хронический гастрит	68	37,7	17	48,6
Дерматозы	68	37,7	4	11,4
Патология щитовидной железы	44	24,4	6	17,1
Метаболический синдром	38	21,1	5	14,3
Варикозная болезнь нижних конечностей	20	11,1	4	11,4
Хронический пиелонефрит	9	5,0	2	5,7
Примечание: ВВА – вульвовагинальная атрофия.				

В контрольной группе (n = 35) структура экстрагенитальной патологии в целом была сопоставимой, однако отмечались некоторые отличия. Наиболее часто регистрировались хронический холецистит – у 22 пациенток (62,9%), синдром раздражённого кишечника – у 18 пациенток (51,4%) и хронический гастрит – у 17 пациенток (48,6%). Артериальная гипертензия была выявлена у 12 пациенток (34,3%), патология щитовидной железы – у 6 пациенток (17,1%), метаболический

синдром – у 5 пациенток (14,3%). Частота варикозной болезни нижних конечностей и хронического пиелонефрита в контрольной группе была сопоставима с основной группой.

После сбора анамнеза следующим этапом исследования стало проведение клинического обследования пациенток. Таблица 2.3 отражает протокол клинического обследования, включающий оценку жалоб, данных анамнеза, результатов гинекологического осмотра и интегральных показателей тяжести ВВА.

Таблица 2.3 – Протокол клинического обследования

Методы клинического обследования	Параметры/признаки/жалобы:
Жалобы/субъективные симптомы	Сухость влагалища; жжение и зуд; чувство дискомфорта; диспареуния; дизурические расстройства; эпизоды контактного кровомазания.
Особенности анамнеза	Возраст наступления менопаузы, длительность гипоэстрогенного периода, сведения о ранее проведённом лечении, наличие сопутствующих соматических заболеваний
Гинекологический осмотр	Цвет слизистой оболочки, степень истончения эпителия, выраженность складчатости, эластичность тканей, наличие микротрещин, петехиальных элементов и контактной кровоточивости
Оценка симптомов вульвовагинальной атрофии	Определение влагалищного pH; расчёт индекса здоровья влагалища; интегральная клиническая оценка тяжести вульвовагинальной атрофии

Интенсивность субъективных симптомов оценивалась с использованием *визуально-аналоговой шкалы* (ВАШ, англ. Visual Analog Scale, VAS), которая является валидизированным и широко применяемым инструментом оценки симптомов ВВА и ГУМС.

ВАШ (0–10 баллов):

0 – отсутствие симптома;

1–3 – слабая выраженность;

4–6 – умеренная выраженность;

7–10 – выраженные симптомы [106].

Для объективной оценки функционального состояния влагалищной слизи проводилось *определение влагалищного pH* с использованием индикаторных тест-полосок.

Интерпретация:

$\text{pH} \leq 4,5$ – нормальное состояние влагалищной среды;

$\text{pH} 4,6\text{--}5,5$ – умеренные атрофические изменения;

$\text{pH} \geq 5,6$ – выраженные атрофические изменения.

Повышение pH отражает гипоэстрогенное состояние и является одним из диагностических критериев ВВА.

Индекс вагинального здоровья (ИВЗ, англ. vaginal health index, VHI), который состоит из оценки пяти параметров, был использован для комплексной объективной оценки состояния влагалищной слизи: эластичность слизистой оболочки; количество и характер влагалищного отделяемого; состояние эпителия (влажность); цвет слизистой оболочки; выраженность складчатости.

Каждый параметр фиксировался по шкале от 1 до 5 баллов. Суммарное значение оценивалось следующим образом:

- 5–10 баллов – выраженные атрофические изменения;
- 11–15 баллов – умеренно выраженные атрофические изменения;
- 16–20 баллов – минимальные атрофические изменения;
- 21–25 баллов – нормальное состояние слизистой оболочки влагалища.

ВВА – многофакторное состояние, и ни один отдельный показатель (ни pH, ни ИВЗ, ни жалобы) не отражает её полностью. Поэтому для обобщённой оценки тяжести ВВА использовался *интегральный клинический показатель* (англ. Clinical Severity Score). Он позволил провести комплексную стратификацию пациенток по степени тяжести ВВА и рассчитывался на основании совокупности клинических параметров: суммарная оценка субъективных симптомов (ВАШ); влагалищный pH; ИВЗ; наличие выраженных объективных признаков атрофии (микротрещины, петехии).

Общая характеристика всех клинических шкал и объективных показателей, которые были использованы в работе, представлены в Таблице 2.4.

Таблица 2.4 – Клинические шкалы и показатели, использованные для диагностики и оценки тяжести вульвовагинальной атрофии [106]

Шкала / показатель	Оцениваемые параметры	Диапазон значений	Клиническая интерпретация
Визуально-аналоговая шкала	Субъективная выраженность симптомов ВВА (сухость влагалища, жжение, зуд, дискомфорт, диспареуния, дизурические расстройства)	0–10 баллов	0 – отсутствие симптомов; 1–3 – слабая выраженность; 4–6 – умеренная; 7–10 – выраженные симптомы
Влагалищный pH	Кислотность влагалищной среды	$\text{pH} \leq 4,5$; 4,6–5,5; $\geq 5,6$	$\leq 4,5$ – норма; 4,6–5,5 – умеренные атрофические изменения; $\geq 5,6$ – выраженная атрофия
Индекс здоровья влагалища	Эластичность слизистой, количество отделяемого, влажность эпителия, цвет слизистой, складчатость	5–25 баллов	5–10 – выраженная атрофия; 11–15 – умеренная; 16–20 – минимальные изменения; 21–25 – нормальное состояние
Гинекологический осмотр (объективные признаки ВВА)	Бледность слизистой, истончение эпителия, снижение эластичности, микротрещины, петехии, контактная кровоточивость	Качественная оценка (да/нет)	Наличие объективных признаков атрофических изменений слизистой влагалища

Продолжение Таблицы 2.4

Интегральная клиническая оценка (Clinical Severity Score)	Суммарная оценка: ВАШ + влагалищный pH + ИВЗ + выраженные объективные признаки	Композитный показатель	Комплексная стратификация степени тяжести ВВА (лёгкая, умеренная, тяжёлая)
Примечание: ВАШ – визуально-аналоговая шкала; ИВЗ – индекс вагинального здоровья; ВВА – вульвовагинальная атрофия.			

Каждому компоненту присваивались баллы в зависимости от того, насколько показатели отклонялись от физиологической нормы (Таблица 2.5).

Таблица 2.5 – Балльная система расчёта интегрального клинического показателя тяжести вульвовагинальной атрофии

Компонент	Критерий	Баллы
Визуально-аналоговая шкала	0–3 / 4–6 / 7–10	0 / 1 / 2
Влагалищный pH	$\leq 4,5$ / $4,6–5,5$ / $\geq 5,6$	0 / 1 / 2
Индекс здоровья влагалища	≥ 16 / $11–15$ / ≤ 10	0 / 1 / 2
Объективные повреждения	нет / есть	0 / 2
Примечание: максимум: 8 баллов; минимум: 0 баллов. Интерпретация баллов: 0–2 - лёгкая ВВА; 3–5 - умеренная ВВА; ≥ 6 - тяжёлая ВВА.		

Исследование ВАШ, ИВЗ и pH включало оценку от 0 до 2 баллов. При этом 0 баллов отражало отсутствие изменений, 1 – умеренные и 2 – выраженные атрофические изменения. Объективные повреждения слизистой оболочки влагалища оценивались бинарно как «нет» или «есть». При наличии каждому из них присваивалось по два балла. Общее значение баллов варьировало от 0 до 8, где 0–2 балла соответствовали легкой степени ВВА, 3–5 баллов – умеренной ВВА, а ≥ 6 – тяжелой ВВА. Градация степени тяжести ВВА применялась исключительно в аналитических целях. Использование интегрального показателя позволило провести клиническую стратификацию пациенток и оценить связь степени выраженности ВВА с исследуемыми иммуновоспалительными и ангиогенными маркерами.

2.6 Методы клинического обследования

2.6.1 Исследование маркеров внеклеточных нейтрофильных ловушек

Для исследования маркеров внеклеточных ловушек брали венозную кровь из периферической вены локтевого сгиба с 8 до 11 утра. У каждого участника отбирали 6 мл венозной крови в вакуумную пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) К2-ЭДТА. Плазму получали по протоколу двойного центрифугирования, так как в плазме остаются лейкоциты/тромбоциты, которые продолжают выделять белки/ДНК и дают ложноположительные результаты. Для всех маркеров ВНЛ использовалась центрифуга с функцией охлаждения при +4 °С, что обусловлено высокой чувствительностью данных показателей к температуре и активации клеточных компонентов крови.

Измерение уровня МПО в плазме проводилось иммуноферментным методом (ИФА) с использованием набора МРО Human ELISA Kit (Nuncult Biotech, Нидерланды), каталожный номер НК324 в соответствии с инструкциями производителя. Стандартный диапазон измерения включает значения от 0,4 до 100 нг/мл; нормативные значения в контрольной группе составили 5,5 нг/мл. Использовали плазму, стабилизированную К₂-ЭДТА, так как этот тип образца лучше всего подходит для анализа маркеров ВНЛ, включая МПО-антиген. Это позволяет избежать искусственного высвобождения МПО, которое происходит при свертывании крови в сыворотке.

Концентрацию ЦГНЗ измеряли в плазме методом сэндвич-ИФА с использованием набора CitH3 (Clone 11D3) ELISA Kit (Cayman Chemical, США), каталожный номер 501620; диапазон измерения 0,15–10,00 нг/мл. Среднее значение в контрольной группе в нашей работе составило 0,15 нг/мл.

Надо отметить, что ЦГНЗ – температурно чувствителен. Для его исследования допускается и плазма, и сыворотка, однако консерванты ЭДТА и гепарин могут завышать значения. В частности, ЭДТА хелатирует ионы кальция Ca²⁺; нарушает клеточные мембраны; и может способствовать высвобождению

ядерных компонентов при задержке обработки образцов крови. Гепарин, который используется в качестве консерванта для получения, способен активировать нейтрофилы; усиливает дегрануляцию; и может стимулировать нетоз *ex vivo*. Таким образом, ВНЛ могут индуцироваться *in vitro*, уже после забора крови, если нейтрофилы остаются активными. Любые задержки центрифугирования, комнатная температура, повторные циклы заморозки-оттаивания, на фоне ЭДТА/гепарина усиливают фон и вариабельность. В результате уровень ЦГНЗ в плазме повышается не потому, что его было больше *in vivo*, а потому что он высвободился после забора крови. Из-за возможной преаналитической активации нейтрофилов при использовании ЭДТА и гепарина для определения ЦГНЗ нами применялся стандартизированный протокол быстрой обработки образцов с обязательным охлаждением, что минимизировало влияние антикоагулянта на получаемые результаты. В связи с этим мы использовали единый тип пробирок и строго контролировали преаналитический этап, поэтому возможное влияние антикоагулянта носило системный характер и не влияло на сравнительный анализ между группами».

Уровень КатG в плазме крови определяли количественно методом обнаружения двойных антител-сэндвич-ИФА с использованием тест системы Human Cathepsin G AssayMax ELISA Kit (США); каталожный номер EC3237-1. Стандартный диапазон измерений составляет 3.125–100 нг/мл. Валидированные референсные значения КатG для сыворотки крови в настоящее время не установлены; в связи с этим интерпретация результатов проводилась на основании межгрупповых сравнений. В нашей работе медиана контрольной группы составила 5,00 нг/мл. Для предотвращения преаналитического высвобождения КатG образцы обрабатывали в стандартные сроки, центрифугировали при контролируемой температуре и хранили аликвотами без повторных циклов оттаивания-размораживания.

В Таблице 2.6 подробно представлены все особенности обработки и хранения образцов крови для определения маркеров ВНЛ.

Таблица 2.6 – Преаналитическая обработка и условия хранения образцов для определения маркеров внеклеточных нейтрофильных ловушек

Биомаркер	Материал	Тип пробирки	Цвет	Объём крови	Условия до центрифугирования	Центрифугирование	Ключевые особенности (по инструкции)	Хранение образцов	Метод
МПО	Плазма (предпочтительно гепарин)	Гепарин	Зелёная	5–8 мл	Кровь на льду, ≤20 мин	1500 g, 15 мин, +4 °C → повторно 1500 g, 15 мин, +4 °C	Двукратная центрифугировка обязательна для исключения лейкоцитов; сыворотка НЕ рекомендована	≤ –20 °C, предпочтительно –70 °C	ИФА
ЦГНЗ	Плазма или сыворотка (цитрат предпочтительнее)	Цитрат / Сыворотка	Голубая / жёлтая	5–8 мл	≤30–60 мин	1500–2000 g, 10–15 мин, +4 °C	Обязательное разведение ≥1:2; ЭДТА и гепарин могут давать интерференцию	–20 °C (допустимо), –80 °C предпочтительно	ИФА
КатG	Плазма / сыворотка	Цитрат / Сыворотка	Голубая / жёлтая	5–8 мл	≤60 мин	3000 g, 10 мин, +4 °C	Допускаются ЭДТА /гепарин; избегать повторных freeze–thaw	≤ –20 °C (до 3 мес)	ИФА

Цвет крышки пробирок указан в соответствии с международной системой цветовой маркировки вакуумных систем забора крови.

2.6.2 Исследование компонентов системы комплемента

Уровни компонентов комплемента C3 и C4 в сыворотке крови определяли методом иммунотурбидиметрии, которая является стандартным клиническим методом количественного определения компонентов комплемента, обеспечивает высокую воспроизводимость и минимальную преаналитическую вариабельность. Исследование проводилось с использованием коммерческих реагентов Roche Diagnostics (Швейцария) на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas c303.

Венозную кровь собирали утром натощак в пробирки без консервирующего антикоагулянта. После центрифугирования на скорости 1500–2000 оборотов в минуту в течение 15 минут сыворотку отделяли и хранили при температуре –80 °C до проведения анализа.

Количественное определение С3 и С4 основывалось на измерении степени помутнения реакционной смеси, возникающего в результате образования иммунных комплексов «антиген–антитело». Повторные циклы замораживания–оттаивания образцов не допускались.

Для определения компонентов системы комплемента использовали сыворотку крови, поскольку антикоагулянты (в частности ЭДТА) ингибируют каскад комплемента и могут искажать результаты количественного анализа. Преаналитическая обработка образцов проводилась с соблюдением температурного режима и стандартизированных сроков центрифугирования. Подробная информация представлена в Таблице А.2 в Приложении А.

Референсные интервалы составляли 0,83–1,80 г/л для С3 и 0,14–0,54 г/л для С4.

2.6.3 Исследование провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли альфа

Определение уровня ФНО- α в сыворотке крови проводилось методом «сэндвич»-ИФА с использованием коммерческого набора RayBio® Human TNF- α ELISA Kit (ELH-TNF α -1). Анализ проводился в соответствии с инструкцией производителя; чувствительность метода составляла 30 пг/мл; диапазон измерения - 30–6000 пг/мл (0,03–6 нг/мл). Образцы анализировали с предварительным разведением; повторные циклы замораживания–оттаивания не допускались. Поскольку для иммуноферментного определения ФНО- α отсутствуют универсальные референсные значения, интерпретацию проводили относительно контрольной группы, сформированной в рамках исследования (группа 5). Медиана в контрольной группе составила 67 пг/мл.

2.6.4 Определение уровня сосудистого эндотелиального фактора роста

Уровни циркулирующего СЭФР в образцах сыворотки определяли количественно с помощью наборов ELISA Human VEGF (Quantikine ELISA DVE00; R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителей. Стандартный диапазон анализа составлял 15,6–1000 пг/мл (супернатанты клеточной культуры) и 31,3–2000 пг/мл (сыворотка, плазма с ЭДТА, плазма с гепарином, плазма с цитратом). Средняя медиана в контрольной группе составила 190 пг/мл.

В Приложении А представлены детальные данные по преаналитической обработке образцов.

2.7 Методы статистической обработки

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием программного обеспечения StatTech версии 4.8.11 (ООО «Статтех», Россия).

При числе исследуемых более 50 количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с использованием критерия Колмогорова–Смирнова; при объёме выборки менее 50 наблюдений – критерия Шапиро–Уилка. При отсутствии нормального распределения количественные данные описывались с использованием медианы (Me) и межквартильного интервала (Q1–Q3). Для сравнения трёх и более независимых групп по количественным показателям с ненормальным распределением применялся критерий Краскела–Уоллиса с последующим попарным сравнением с использованием критерия Манна–Уитни и поправки Бонферрони [108].

Оценка взаимосвязей между клиническими и лабораторными показателями проводилась с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Статистически значимыми считались различия при уровне значимости $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данной главе представлены результаты собственного клинико-лабораторного исследования, направленного на оценку клинических проявлений, объективных признаков, интегральной тяжести и иммуновоспалительных механизмов ВВА у женщин с различным клиническим анамнезом. Анализ проводился с поэтапным сопоставлением клинических и лабораторных данных. В исследование включены пять групп: пациентки с ВВА после РХЛ (n=52), после ХЛТ (n=27), на фоне АЭТ (n=48), женщины с ВВА без онкологического анамнеза (n=53) и контрольная группа (n=35) [73].

3.1 Клинико-демографическая характеристика обследованных групп

Результаты клинико-демографических данных всех обследованных пациенток представлены в Таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Основные клинико-демографические характеристики пациенток, включенных в исследование [109]

Показатель	ВВА + РХЛ (n=52)	ВВА + ХЛТ (n=27)	ВВА + АЭТ (n=48)	ВВА без онкоана мнеза (n=53)	Конт роль (n=35)	p
Возраст, лет, М ± SD	49,1 ± 9,1	52,3 ± 5,9	48,0 ± 5,7	57,6 ± 5,2	58,1 ± 9,9	0,60
Индекс массы тела, кг/м ² , М ± SD	27,2 ± 3,1	26,8 ± 3,4	27,5 ± 3,2	26,9 ± 3,0	26,4 ± 2,8	0,58
Возраст наступления менопаузы, лет, М ± SD	46,2 ± 3,1	47,3 ± 3,4	49,0 ± 3,0	50,8 ± 2,8	51,2 ± 2,7	<0,001
Длительность менопаузы, лет, М ± SD	8,9 ± 4,2	9,3 ± 4,5	9,0 ± 4,0	6,7 ± 3,8	7,1 ± 3,6	0,003

Продолжение Таблицы 3.1

Длительность симптомов ВВА, мес, $M \pm SD$	14,8 $\pm$ 7,2	18,6 $\pm$ 8,5	16,2 $\pm$ 7,9	10,4 $\pm$ 5,8	–	<0,001
Артериальная гипертензия, n (%)	23 (44,2)	13 (48,1)	20 (41,7)	20 (37,7)	12 (34,3)	0,71
Метаболический синдром, n (%)	11 (21,2)	7 (25,9)	11 (22,9)	9 (17,0)	5 (14,3)	0,62
Примечание: p – значение межгруппового сравнения (Краскел–Уоллис для количественных показателей, χ^2 для категориальных); ВВА – вульвовагинальная атрофия; РХЛ – радикальное хирургическое лечение; ХЛТ – химиолучевая терапия; АЭТ – антиэстрогенная терапия.						

Возраст участниц статистически значимо не различался между группами ($p=0,64$), средние значения при этом находились в диапазоне 49,1–58,1 года (максимальное значение в контрольной группе: $58,1 \pm 9,9$; минимальное – у пациенток после хирургического вмешательства: $49,1 \pm 9,1$). Индекс массы тела (ИМТ) был сопоставим во всех группах ($p=0,58$) и составлял в среднем 26,4–27,5 кг/м². Отсутствие межгрупповых различий по ИМТ снижает вероятность его влияния на изучаемые показатели. По возрасту наступления менопаузы были статистически значимые межгрупповые различия ($p<0,001$). У пациенток после ХЛТ возраст наступления менопаузы был $47,3 \pm 3,4$ лет, а у женщин после РХЛ – $48,2 \pm 3,1$ лет, на фоне терапии АЭТ – $49,0 \pm 3,0$ лет, у пациенток с ВВА без онкологического анамнеза – $50,8 \pm 2,8$ лет и в контрольной группе – $51,2 \pm 2,7$ лет. По длительности менопаузы также наблюдались достоверные различия ($p=0,003$). Наибольшие значения были у пациенток после ХЛТ ($9,3 \pm 4,5$ года), РХЛ ($8,9 \pm 4,2$ года) и АЭТ ($9,0 \pm 4,0$ года). В группах ВВА без онкологического анамнеза ($6,7 \pm 3,8$ года) и контрольной ($7,1 \pm 3,6$ года) длительность менопаузы была меньше, что связано с более поздним возрастом наступления естественной менопаузы и отсутствием индуцирующих факторов.

По длительности клинических проявлений ВВА выявлены наиболее достоверные различия между группами ($p<0,001$). Максимальная длительность ВВА была у пациенток после ХЛТ ($18,6 \pm 8,5$ месяца). Это можно связать с более глубоким и стойким повреждением вульварной и вагинальной слизистой при

Таким образом, группы были сопоставимы по возрасту и ИМТ, а статистически значимые различия касались характера менопаузы и проявлений ВБА, которые ожидаемо максимальны были у пациенток после ХЛТ.

3.2 Клинические проявления вульвовагинальной атрофии

В Таблице 3.2 представлена частота основных клинических симптомов ВВА в обследованных группах. Анализ показал наличие статистически значимых межгрупповых различий по всем оцениваемым симптомам, включая дизурию, однако выраженность различий по дизурии была меньше.

Таблица 3.2 – Частота клинических симптомов ВВА

Симптом	ВВА + РХЛ	ВВА + ХЛТ	ВВА + АЭТ	ВВА без онко	Контроль	р
Сухость влагалища, n (%)	42 (80,8)	25 (92,6)	41 (85,4)	39 (73,6)	4 (11,4)	<0,001
Жжение/дискомфорт, n (%)	28 (53,8)	19 (70,4)	28 (58,3)	22 (41,5)	3 (8,6)	<0,001
Диспареуния, n (%)	31 (59,6)	22 (81,5)	30 (62,5)	26 (49,1)	4 (11,4)	<0,001
Контактное кровомазание, n (%)	9 (17,3)	11 (40,7)	10 (20,8)	5 (9,4)	0	<0,001
Дизурические расстройства, n (%)	12 (23,1)	10 (37,0)	12 (25,0)	10 (18,9)	4 (11,4)	0,02

Примечание: р – значение межгруппового сравнения (Краскел–Уоллис для количественных показателей, χ^2 для категориальных); ВВА – вульвовагинальная атрофия; РХЛ – радикальное хирургическое лечение; ХЛТ – химиолучевая терапия; АЭТ – антиэстрогенная терапия.

Ощущение сухости влагалища было наиболее частой жалобой женщин с ВВА ($p < 0,001$). Чаще всего данный симптом встречался у пациенток после ХЛТ (92,6%) и на фоне АЭТ (85,4%); у женщин после хирургической менопаузы сухость влагалища выявлялась реже (80,8%), занимая промежуточное положение. В группе женщин с доброкачественными заболеваниями женских половых органов и без онкогинекологического анамнеза сухость выявлялась у 73,4%, что также превышало показатели в контрольной группе (11,4%).

Жжение и субъективный дискомфорт во влагалище чаще встречались у женщин после ХЛТ (70,4%), что статистически значимо отличалось от контрольной группы (8,6%; $p < 0,001$). В группах АЭТ (58,3%) и РХЛ (53,8%) данный симптом выявлялся с умеренной частотой, тогда как у женщин с ВВА без онкологического анамнеза жжение отмечалось в 41,5% случаев.

Частота диспареунии также статистически значимо различалась между группами ($p < 0,001$). При этом чаще она встречалась у пациенток после ХЛТ (81,5%). В группах АЭТ (62,5%) и хирургической менопаузы (59,6%) диспареуния наблюдалась реже, но существенно чаще по сравнению с женщинами без ВВА в контрольной группе (11,4%). У пациенток с ВВА без онкологического анамнеза диспареуния регистрировалась в 49,1% случаев.

Жалобы на контактное кровомазание были характерны преимущественно для пациенток с наиболее тяжёлыми формами ВВА. Максимальная частота наблюдалась в группе ХЛТ (40,7%), что статистически значимо превышало показатели всех остальных групп ($p < 0,001$). В группах АЭТ (20,8%) и РХЛ (17,3%) контактное кровомазание выявлялось реже. У женщин с ВВА без онкологического анамнеза данный симптом был в 9,4% случаев, тогда как в контрольной группе он отсутствовал.

По сравнению с другими симптомами ВВА дизурические расстройства выявлялись реже. Наибольшая их частота отмечена у пациенток после ХЛТ (37,0%), минимальная – в контрольной группе (11,4%). Несмотря на наличие статистически достоверных различий между группами ($p = 0,02$), выраженность

межгрупповых различий по дизурии была менее значимой по сравнению с вагинальными проявлениями ВВА.

Таким образом согласно Таблице 3.2, анализ клинической симптоматики демонстрирует явный градиент нарастания выраженности симптомов ВВА от контрольной группы к пациенткам после ХЛТ. Пациентки, получающие АЭТ, а также женщины с хирургической менопаузой занимали промежуточное положение по выраженности клинических проявлений. У женщин с ВВА без онкологического анамнеза симптомы были менее выражены, однако их показатели достоверно превышали значения, характерные для физиологической менопаузы [71].

3.3 Анализ данных гинекологического осмотра

По данным гинекологического осмотра (Таблица 3.3) выявлены статистически значимые межгрупповые различия по всем объективным признакам ВВА ($p < 0,001$) [71].

Таблица 3.3 – Объективные признаки вульвовагинальной атрофии

Признак	ВВА + РХЛ	ВВА + ХЛТ	ВВА + АЭТ	ВВА без онко	Контроль	р
Бледность слизистой	67,3%	88,9%	70,8%	58,5%	20,0%	<0,001
Истончение эпителия	71,2%	92,6%	75,0%	62,3%	9%	<0,001
Снижение эластичности	69,2%	92,6%	66,7%	56,6%	7,1%	<0,001
Микротрещины/петехии	19,2%	48,1%	18,8%	11,3%	0	<0,001
Скудность отделяемого	82,7%	96,3%	81,3%	69,8%	22,9%	<0,001
Примечание: р – значение межгруппового сравнения (Краскел–Уоллис для количественных показателей, χ^2 для категориальных); ВВА – вульвовагинальная атрофия; РХЛ – радикальное хирургическое лечение; ХЛТ – химиолучевая терапия; АЭТ – антиэстрогенная терапия.						

Один из ранних и наиболее характерных признаков гипоестрогенного состояния, бледность слизистой влагалища, наиболее часто выявлялась у пациенток после ХЛТ (88,9%). В группах АЭТ (70,8%) и РХЛ (67,3%) данный признак занимал промежуточное положение. У женщин с ВВА без

онкологического анамнеза бледность слизистой отмечалась в 58,5% случаев, тогда как в контрольной группе – в 20,0%, что отражает преимущественно возрастные изменения без клинически значимой атрофии.

Истончение эпителия чаще всего выявлялось в группе после ХЛТ (92,6%), что статистически значимо превышало показатели всех остальных групп. В группах АЭТ (75,0%) и РХЛ (71,2%) истончение эпителия наблюдалось несколько реже. У женщин с ВВА без онкологического анамнеза - в 62,3% случаев, тогда как в контрольной группе – 9,0%.

Снижение эластичности стенок влагалища, свидетельствующее о структурных изменениях соединительнотканного и эпителиального компонентов слизистой, наиболее часто отмечалось у пациенток после ХЛТ (92,6%). В группах РХЛ, АЭТ и у женщин с ВВА без онкологического анамнеза эластичность стенок была снижена в 69,2%, 66,7% и 56,6%, соответственно, тогда как в контрольной группе – в 7,1% случаев.

Наличие микротрещин и петехий слизистой оболочки влагалища является признаком более тяжёлого повреждения тканей. Наиболее высокая их частота выявлена у пациенток после ХЛТ (48,1%), что достоверно превышало показатели всех остальных групп ($p < 0,001$). В группах хирургической менопаузы (19,2%), АЭТ (18,8%) и у женщин с ВВА без онкологического анамнеза микротрещины и петехии выявлялись значительно реже. В контрольной группе данный признак отсутствовал.

Скудность отделяемого влагалища, которая является следствием снижения секреторной активности слизистой оболочки, чаще всего наблюдалась у женщин после ХЛТ (96,3%). У женщин после РХЛ (82,7%) и на фоне АЭТ (81,3%) данный признак также выявлялся часто. У женщин с ВВА без онкологического анамнеза скудность отделяемого отмечалась в 69,8% случаев, тогда как в контрольной группе – в 22,9% [106].

Таким образом, объективные данные гинекологического осмотра показали, что наиболее тяжёлые структурные изменения слизистой оболочки влагалища выявлены у пациенток после ХЛТ. Группы АЭТ и РХЛ занимали промежуточное

положение, тогда как у женщин с ВВА без онкологического анамнеза признаки атрофии выражены меньше. В контрольной группе были лишь минимальные возрастные изменения без клинически значимой ВВА.

3.4 Оценка вагинальной среды и морфофункционального состояния слизистой влагалища

Таблица 3.4 – Значения pH и индекса здоровья влагалища в группах

Параметр M ± SD	Группа 1 ВВА + РХЛ n = 52	Группа 2 ВВА + ХЛТ n = 27	Группа 3 ВВА + АЭТ n = 48	Группа 4 ВВА без онкологии n = 53	Группа 5 Контроль n = 35
pH влагалища	5,6	6,8	6,0	5,1	4,4
Me [Q1-Q3]	[5,2–6,0]	[6,3–7,2]	[5,6–6,5]	[4,8–5,5]	[4,2–4,7]
ИВЗ, баллы (0–25)	13 [11–15]	8 [6–10]	11 [9–13]	16 [14–17]	22 [21–24]
Примечание: ВВА – вульвовагинальная атрофия; ХЛТ – химиолучевая терапия; РХЛ – радикальное хирургическое лечение; АЭТ – антиэстрогенная терапия; Me – медиана; pH – показатель кислотности влагалищной среды; ИВЗ – индекс вагинального здоровья; pH ≤ 4,5 – нормальное состояние влагалищной среды; pH 4,6–5,5 – умеренные атрофические изменения; pH ≥ 5,6 – выраженные атрофические изменения. Каждый параметр ИВЗ оценивался по пятибалльной шкале (от 1 до 5 баллов), где более низкие значения соответствуют более выраженным атрофическим изменениям. Суммарное значение индекса ИВЗ может варьировать от 5 до 25 баллов.					

Наиболее выраженное смещение pH в щелочную сторону было в группе женщин после ХЛТ (6,8 [6,3–7,2]) свидетельствуя о выраженных атрофических процессах. У женщин в группах АЭТ (6,0 [5,6–6,5]) и хирургической менопаузы (5,6 [5,2–6,0]) значения pH также были повышены. У женщин с ВВА без онкологического анамнеза средние значения pH (5,1 [4,8–5,5]) соответствовали умеренной гипоестрогенной атрофии. В контрольной группе сохранялись наиболее низкие значения pH (4,4 [4,2–4,7]), характерные для относительно сохранённого состояния вагинальной слизистой в менопаузе. Полученные различия по показателям pH и ИВЗ демонстрируют не только степень гипоестрогении, но и глубину морфофункциональных нарушений слизистой оболочки влагалища.

Наиболее низкие значения ИВЗ были зарегистрированы у пациенток после ХЛТ (8 [6–10] баллов), что соответствует тяжёлой степени ВВА. Данные значения согласуются с высокой частотой клинических симптомов и выраженными объективными признаками атрофии слизистой оболочки влагалища. В группах пациенток с ВВА на фоне АЭТ и после РХЛ медианные значения ИВЗ составили 11 [9–13] и 13 [11–15] баллов. Указанные группы занимали промежуточное положение между пациентками после ХЛТ и женщинами с ВВА без онкологического анамнеза. У пациенток 4 группы он был выше и составил 16 [14–17] баллов, что соответствует умеренной–минимальной степени атрофии, характерной для физиологической менопаузы без дополнительного повреждающего воздействия. Наиболее высокие значения ИВЗ наблюдались в контрольной группе – 22 [21–24] балла, что демонстрирует относительно сохранённое морфофункциональное состояние слизистой оболочки влагалища в отсутствие клинически значимой ВВА. Таким образом, значения ИВЗ статистически значимо различались между группами и отражали нарастание тяжести ВВА, с минимальными значениями у пациенток после ХЛТ и максимальными – в контрольной группе.

3.5 Интегральная клиническая оценка тяжести вульвовагинальной атрофии

Результаты интегральной клинической оценки (англ. Clinical Severity Score) рассчитывались на основе совокупной оценки субъективных симптомов (ВАШ), влагалищного pH, ИВЗ, наличия выраженных объективных признаков атрофии слизистой оболочки влагалища и представлены в Таблице 3.5 в виде медианы и межквартильного интервала (Me [Q1–Q3]). Post-hoc сравнения выполнены с использованием критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Коэффициент g отражает размер эффекта (0,30–0,49 – средний; $\geq 0,50$ – крупный).

Таблица 3.5 – Интегральная клиническая оценка тяжести ВВА

Группа	Clinical Severity Score, Me [Q1–Q3]	Post-hoc <i>p</i> (vs контроль)	<i>r</i>
ВВА + ХЛТ – 2 гр	8,5 [7,8–9,3]	<0,001	0,68
ВВА + АЭТ – 3 гр	6,9 [6,1–7,6]	<0,001	0,61
ВВА + РХЛ – 1 гр	6,2 [5,5–7,0]	<0,001	0,55
ВВА без онкоанамнеза	4,1 [3,6–4,9]	0,004	0,34
Контроль	1,2 [0,8–1,9]	–	–
Примечание: ВВА – вульвагинальная атрофия; АЭТ – антиэстрогенная терапия; РХЛ – радикальное хирургическое лечения; различия являются статистически значимым при $p < 0,001$ Kruskal–Wallis.			

Анализ показал статистически значимые межгрупповые различия по ($p < 0,001$). Максимальные значения показателя были зарегистрированы у пациенток после ХЛТ – 8,5 [7,8–9,3] балла, что соответствует тяжёлой степени ВВА. В группах пациенток с ВВА на фоне АЭТ и после РХЛ медианные значения интегрального показателя составили 6,9 [6,1–7,6] и 6,2 [5,5–7,0] балла, соответственно, что также соответствует тяжёлой степени ВВА, однако с меньшей выраженностью по сравнению с группой ХЛТ. У женщин с ВВА без онкологического анамнеза показатель был значительно ниже – 4,1 [3,6–4,9] балла. В контрольной группе медианные значения интегрального показателя составили 1,2 [0,8–1,9] балла, что обусловлено отсутствием клинически значимой атрофии.

Таким образом, интегральная клиническая оценка продемонстрировала чёткую градацию тяжести ВВА в зависимости от клинического анамнеза, с максимальной выраженностью нарушений у пациенток после ХЛТ.

3.6 Иммунологические, воспалительные и ангиогенные маркеры при вульвовагинальной атрофии

Так как ВВА является многофакторным состоянием, в патогенезе которого участвуют не только гипоестрогенные изменения, но и процессы хронического воспаления, иммунной активации и нарушения ангиогенеза, то следующим этапом

исследования стала оценка иммунных, воспалительных и ангиогенных маркеров у обследованных пациенток. В связи с этим были проанализированы показатели компонентов системы комплемента, маркеры ВНЛ, уровень провоспалительного цитокина ФНО- α и СЭФР с целью выявления их ассоциации с клинической выраженностью ВВА. Они представлены в Таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Иммунологические показатели компонентов системы комплемента С3 и С4, уровня провоспалительного цитокина ФНО- α , фактора ангиогенеза СЭФР и уровней маркеров ВНЛ – ЦГНЗ, МПО и КатG в обследованных группах [106]

Параметр	Группа 1 ВВА + РХЛ n = 52	Группа 2 ВВА + ХЛТ n = 27	Группа 3 ВВА + АЭТ n = 48	Группа 4 ВВА без онкологии n = 53	Группа 5 Контроль n = 35
С3, г/л (норма 0,83–1,80 г/л)	1,35 $\pm$ 0,22	2,12 $\pm$ 0,25	1,48 $\pm$ 0,23	0,80 $\pm$ 0,20	1,12 $\pm$ 0,18
С4, г/л (норма 0,14–0,54 г/л)	0,25 $\pm$ 0,06	0,32 $\pm$ 0,07	0,28 $\pm$ 0,06	0,23 $\pm$ 0,05	0,19 $\pm$ 0,04
ФНО- α , пг/мл (диапазон измерения 0–6 нг/мл)	3,8 $\pm$ 1,4	5,6 $\pm$ 1,2	4,9 $\pm$ 0,6	1,4 $\pm$ 2,8	0,7 $\pm$ 2,3
СЭФР (диапазон измерения 31,3–2000 пг/мл), Me [Q1-Q3]	450,0 [280,0–600,5]	828,0 [209,5–1238,5]	632,0 [360,0–1110,5]	323,0 [283,5–394,5]	190,0 [124,5–210,0]
ЦГНЗ, нг/мл мл (диапазон измерения 0.15–10,00 нг/мл), Me [Q1-Q3]	0,50 [0,35–0,60]	0,65 [0,50–0,80]	0,55 [0,40–0,70]	0,22 [0,15–0,30]	0,15 [0,10–0,20]
МПО, нг/мл мл (диапазон измерения 0,4 до 100 нг/мл), Me [Q1-Q3]	14,00 [10,00–18,00]	24,00 [18,00–30,00]	17,00 [12,00–22,00]	7,50 [5,00–10,00]	5,50 [3,00–7,00]
КатG, нг/мл (диапазон измерения 3.125–100 нг/мл), Me [Q1-Q3]	9,00 [8,00–11,00]	14,00 [12,00–16,00]	13,00 [10,00–15,00]	6,00 [5,00–7,00]	5,00 [4,05–6,05]
Примечание: ВВА – вульвовагинальная атрофия; РХЛ – радикальное хирургическое лечение; ХЛТ – химиолучевая терапия; АЭТ – антиэстрогенная терапия; С3, С4 – компоненты системы комплемента; ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа; СЭФР – сосудистый эндотелиальный фактор роста; ЦГНЗ – цитруллиновый гистон НЗ; МПО – миелопероксидаза; КатG – катепсин G.					

Компоненты системы комплемента C3 и C4

Наиболее высокие уровни C3 были зарегистрированы у пациенток с ВВА после ХЛТ – $2,12 \pm 0,25$ г/л. В группах пациенток после АЭТ ($1,48 \pm 0,23$ г/л) и РХЛ ($1,35 \pm 0,22$ г/л) уровни C3 занимали промежуточное положение. У женщин с ВВА без онкологического анамнеза выявлены наиболее низкие значения C3 – $0,80 \pm 0,20$ г/л, соответствующие нижней границе референсного диапазона. В контрольной группе уровень C3 составил $1,12 \pm 0,18$ г/л.

Аналогичная тенденция отмечалась и для компонента C4: максимальные значения зарегистрированы в группе после ХЛТ ($0,32 \pm 0,07$ г/л), несколько более низкие – в группах АЭТ ($0,28 \pm 0,06$ г/л) и РХЛ ($0,25 \pm 0,06$ г/л). В группе ВВА без онкологического анамнеза уровень C4 составил $0,23 \pm 0,05$ г/л, а минимальные значения отмечены в контрольной группе – $0,19 \pm 0,04$ г/л.

Таким образом, хотя в целом показатели C3 и C4 компонентов системы комплемента находились в пределах референсных значений, все же между группами наблюдались различия.

Провоспалительный цитокин ФНО-α

Уровни ФНО-α демонстрировали выраженные межгрупповые различия. Максимальные значения ФНО-α выявлены у пациенток после ХЛТ – $5,6 \pm 1,2$ пг/мл. В группах АЭТ ($4,9 \pm 0,6$ пг/мл) и РХЛ ($3,8 \pm 1,4$ пг/мл) уровни ФНО-α были ниже, но превышали показатели групп без онкологического анамнеза. У женщин с ВВА без онкологической патологии уровень ФНО-α составил $1,4 \pm 2,8$ пг/мл, тогда как в контрольной группе зарегистрированы минимальные значения – $0,7 \pm 2,3$ пг/мл.

Фактор ангиогенеза СЭФР

Максимальные уровни СЭФР наблюдались у пациенток после ХЛТ – 828,0 [209,5–1238,5] пг/мл. В группах РХЛ и АЭТ медианные значения СЭФР составили 450,0 [280,0–600,5] пг/мл и 632,0 [360,0–1110,5] пг/мл. У женщин с ВВА без онкологического анамнеза медиана СЭФР была ниже – 323,0 [283,5–394,5] пг/мл, тогда как минимальные значения отмечены в контрольной группе – 190,0 [124,5–210,0] пг/мл.

Таким образом, иммунологические показатели системы комплемента, уровень ФНО- α и концентрации СЭФР демонстрировали градиентные межгрупповые различия, соответствующие клинической выраженности ВВА и характеру предшествующего лечения. Максимальная выраженность иммуновоспалительной и ангиогенной активации отмечена у пациенток после ХЛТ, тогда как у женщин с ВВА без онкологического анамнеза и в контрольной группе данные показатели были существенно ниже.

Маркеры нейтрофильных внеклеточных ловушек

Нами были выявлены выраженные межгрупповые различия по всем исследуемым маркерам ВНЛ, отражающие степень нейтрофильной активации и тканевого повреждения [71].

Наиболее высокие значения ЦГНЗ наблюдались у пациенток с ВВА после ХЛТ – 0,65 [0,50–0,80] нг/мл. В группах пациенток на фоне АЭТ (0,55 [0,40–0,70] нг/мл) и после РХЛ (0,50 [0,35–0,60] нг/мл) средние значения ЦГНЗ были несколько ниже, однако существенно превышали показатели групп без онкологического анамнеза. У женщин с ВВА без онкологической патологии уровень ЦГНЗ составил 0,22 [0,15–0,30] нг/мл, тогда как минимальные значения отмечены в контрольной группе – 0,15 [0,10–0,20] нг/мл.

Аналогичная градиентная динамика наблюдалась для антигена МРО. Максимальные значения МПО выявлены у пациенток после ХЛТ – 24,00 [18,00–30,00] нг/мл. В группах АЭТ (17,00 [12,00–22,00] нг/мл) и РХЛ (14,00 [10,00–18,00] нг/мл) уровни МПО занимали промежуточное положение. У женщин с ВВА без онкологического анамнеза уровень МРО составил 7,50 [5,00–10,00] нг/мл, тогда как в контрольной группе были наименьшие значения – 5,50 [3,00–7,00] нг/мл.

Уровни КатГ также различались между группами. Наиболее высокие значения КатГ выявлены у пациенток после ХЛТ – 14,00 [12,00–16,00] нг/мл. В группах АЭТ (13,00 [10,00–15,00] нг/мл) и РХЛ (9,00 [8,00–11,00] нг/мл) показатели КатГ были ниже, но превышали значения групп без онкологического анамнеза. У женщин с ВВА без онкологической патологии медиана КатГ составила 6,00 [5,00–

7,00] нг/мл, а минимальные значения отмечены в контрольной группе – 5,00 [4,05–6,05] нг/мл.

Таким образом, маркеры ВНЛ демонстрировали чёткий градиент увеличения от контрольной группы к пациенткам после ХЛТ. Максимальная активация ВНЛ была характерна для пациенток с наиболее тяжёлыми клиническими фенотипами ВВА, тогда как у женщин с ВВА без онкологического анамнеза и в контрольной группе уровни маркеров ВНЛ оставались минимальными.

3.7 Корреляционный анализ

С целью оценки взаимосвязи клинической выраженности ВВА с иммунологическими, воспалительными и ангиогенными показателями был проведён корреляционный анализ Спирмена (r) между интегральной клинической оценкой тяжести ВВА, ИВЗ, значением вагинального pH и исследуемыми лабораторными маркерами.

3.7.1 Связь интегральной клинической оценки с иммунологическими и воспалительными маркерами

Наиболее выраженная корреляция отмечена между интегральной клинической оценкой ВВА и уровнем ФНО- α , СЭФР, а также маркерами ВНЛ (ЦГНЗ, МПО и КатG), что обусловлено нарастанием иммуновоспалительных и тканевых повреждающих процессов по мере увеличения клинической тяжести ВВА. Корреляция между интегральным клиническим показателем и уровнями компонентов системы комплемента C3 и C4 была умеренной, что связано с различиями в механизмах системной и локальной активации комплемента у пациенток с различными клиническими фенотипами ВВА.

3.7.2 Корреляции клинических показателей с состоянием вагинальной среды

Выявлена отрицательная корреляция между ИВЗ и большинством исследуемых иммунологических маркеров, включая ФНО- α , СЭФР и маркеры ВНЛ. Это свидетельствует об ухудшении морфофункционального состояния слизистой оболочки влагалища при усилении иммунновоспалительных процессов.

В то же время обнаружена положительная корреляция между значением вагинального pH и уровнями ФНО- α , СЭФР и маркеров ВНЛ, что указывает на связь нарушения микробиоценоза и щелочного сдвига вагинальной среды с активацией воспалительных и ангиогенных механизмов.

Таблица 3.7 – Корреляционные связи клинических показателей с иммунологическими, воспалительными и ангиогенными маркерами. Коэффициент корреляции Спирмена (r)

Показатель	С3	С4	ФНО- α	СЭФР	ЦГНЗ	МПО	КатG
Clinical Severity Score	0,32*	0,29*	0,58*	0,55*	0,61*	0,63*	0,59*
Индекс здоровья влагалища	– 0,28*	– 0,26*	–0,54*	–0,52*	– 0,57*	– 0,60*	– 0,56*
pH влагалища	0,30*	0,27*	0,56*	0,53*	0,59*	0,62*	0,58*

Примечание: * – $p < 0,05$; жирным выделены корреляции средней и высокой силы ($r \geq 0,5$).
 Clinical Severity Score – интегральная клиническая оценка тяжести ВВА; pH – показатель кислотности влагалищной среды; С3, С4 – компоненты системы комплемента; ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа; СЭФР – сосудистый эндотелиальный фактор роста; ЦГНЗ – цитруллинный гистон НЗ; МПО – миелопероксидаза; КатG – катепсин G.
 Интерпретации корреляции: $|r| = 0,10-0,29$ – слабая связь; $|r| = 0,30-0,49$ – корреляция средней силы; $|r| \geq 0,50$ – сильная положительная/отрицательная корреляционная связь; положительная корреляция ($r > 0$) – оба показателя меняются в одном направлении; отрицательная корреляция ($r < 0$) – показатели меняются в противоположных направлениях.

Положительные корреляции:

Clinical Severity Score $\leftrightarrow$ МПО / ЦГНЗ / КатG (чем тяжелее ВВА, тем выше активация ВНЛ);

Clinical Severity Score $\leftrightarrow$ СЭФР (чем тяжелее клиника, тем выше ангиогенный ответ);

$\text{pH} \leftrightarrow \text{ФНО-}\alpha / \text{ВНЛ}$ (чем более щелочная вагинальная среда, тем выраженнее воспаление).

Отрицательные корреляции:

$\text{ИБЗ} \leftrightarrow \text{ВНЛ} / \text{ФНО-}\alpha / \text{СЭФР}$ (чем хуже состояние слизистой (ниже ИБЗ), тем выше воспаление и повреждение);

$\text{ИБЗ} \leftrightarrow \text{pH}$ (чем ниже ИБЗ, тем выше pH; ухудшение слизистой сопровождается щелочным сдвигом).

Таким образом, корреляционный анализ подтвердил тесную взаимосвязь клинической тяжести ВВА с активацией иммуновоспалительных, ангиогенных и нейтрофильных механизмов, что указывает на их патогенетическую значимость.

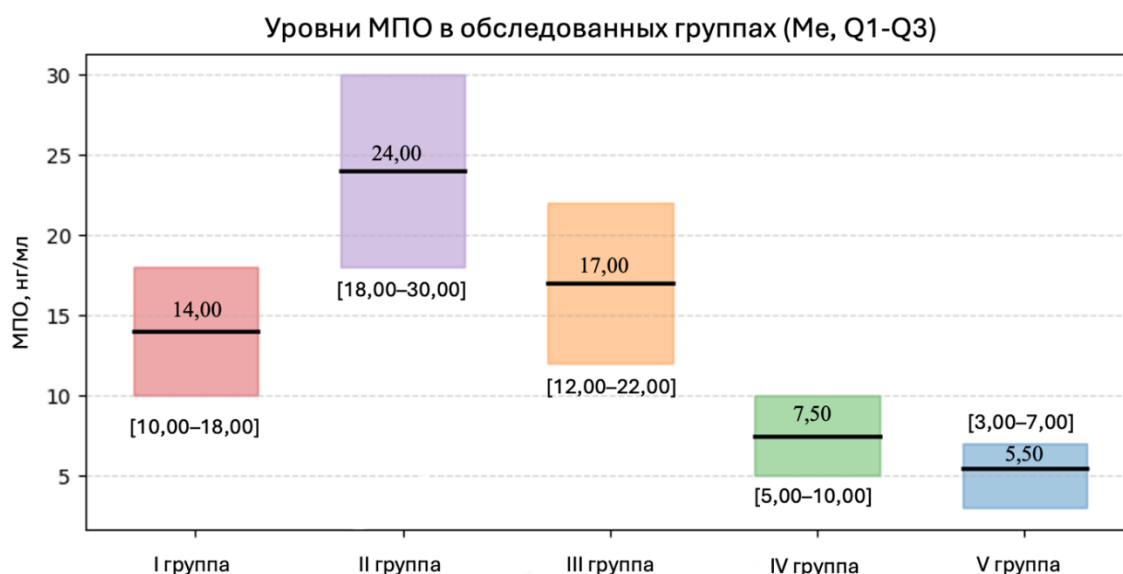
3.8 Диаграммы размаха Box-plot

С целью наглядной визуализации межгрупповых различий и распределения показателей с асимметричным характером распределения выполнено графическое представление данных в виде диаграмм размаха (box-plot) для маркеров ВНЛ (МПО, ЦГНЗ, КатG), воспалительного цитокина ФНО- α и фактора ангиогенеза СЭФР, клинических показателей pH влагалища и ИБЗ, а также интегрального показателя клинической тяжести ВВА (Clinical Severity Score) (Рисунки 3.1–3.7).

Как видно из Рисунка 3.1, наблюдается выраженный градиент нарастания уровня МПО от контрольной группы к пациенткам с ВВА после ХЛТ, с минимальным перекрытием межквартильных интервалов между крайними группами. Аналогичная тенденция выявлена для ЦГНЗ (Рисунок 3.2) и КатG (Рисунок 3.3). Полученные данные отражают активацию всех маркеров ВНЛ по мере увеличения клинической тяжести ВВА и максимальную выраженность данных процессов у пациенток после ХЛТ.

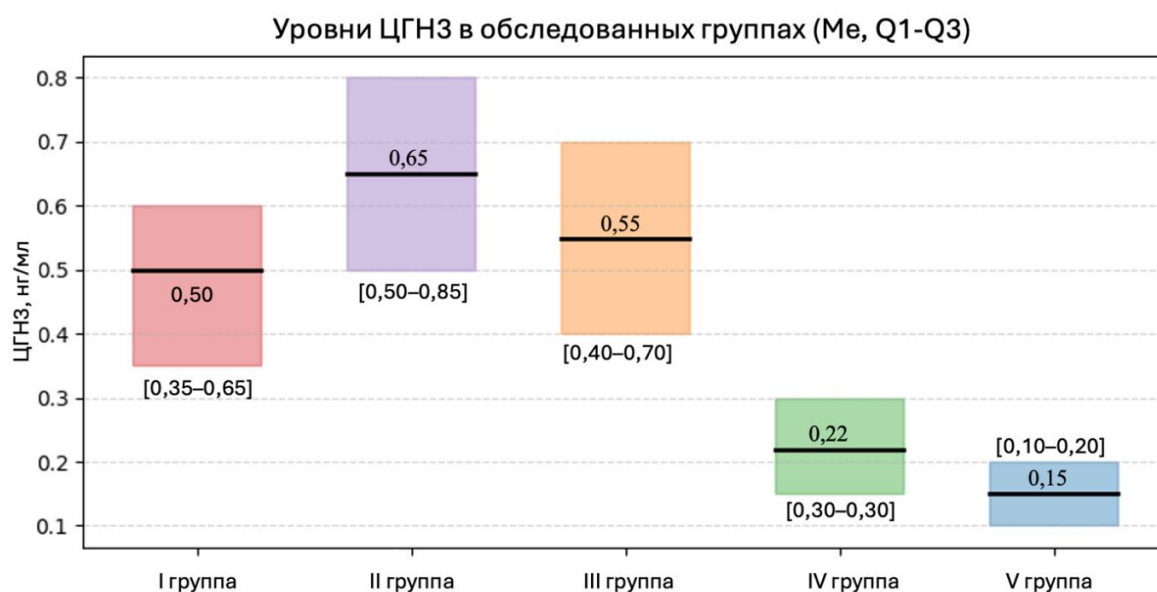
Распределение уровней СЭФР (Рисунок 3.4) и ФНО- α (Рисунок 3.5) демонстрирует увеличение медианных значений у пациенток с более тяжёлыми клиническими формами ВВА, что отражает активацию иммуновоспалительных и

ангиогенных процессов на фоне гипоестрогении и индуцированного повреждения слизистой. Наиболее выраженные изменения выражены у женщин после ХЛТ.



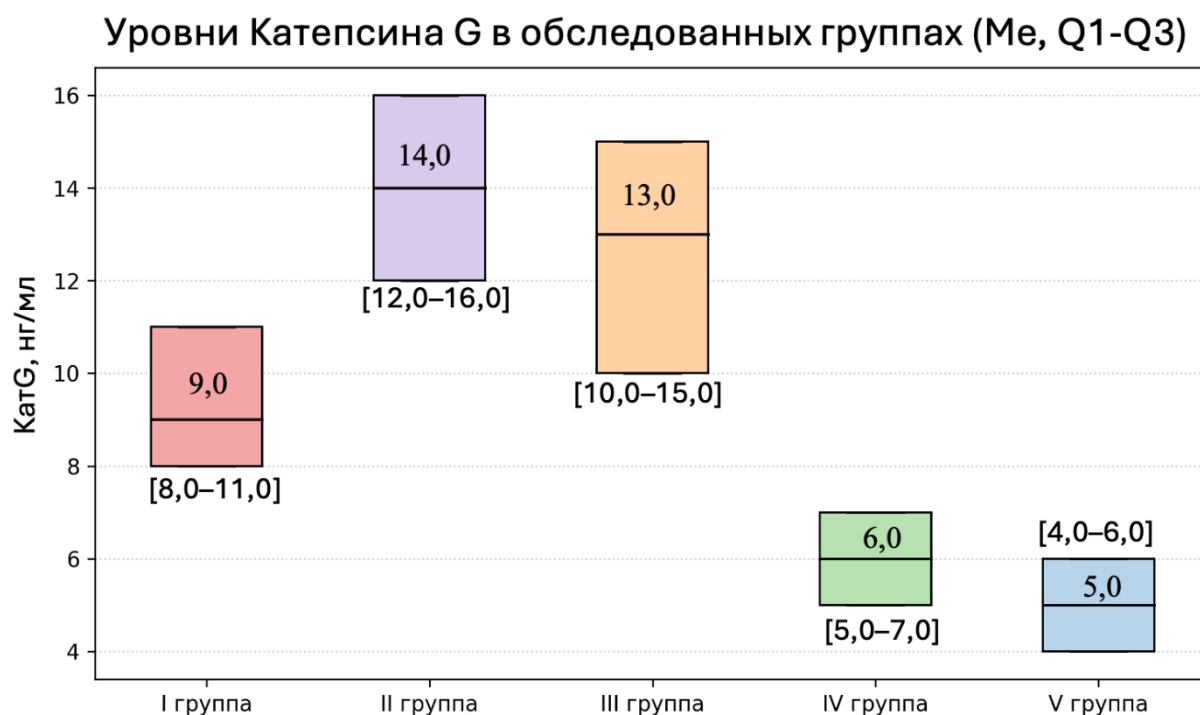
Примечание: МПО – миелопероксидаза; ВВА – вульвовагинальная атрофия; I группа – пациентки с ВВА после радикального хирургического лечения; II группа – женщины с ВВА после химиолучевой терапии; III группа – пациентки с ВВА на фоне приема антиэстрогенов; IV группа – ВВА с естественной менопаузой и без онкологического анамнеза; V группа – контрольная группа.

Рисунок 3.1 – Распределение уровней МПО в обследованных группах. Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала (Q1–Q3)



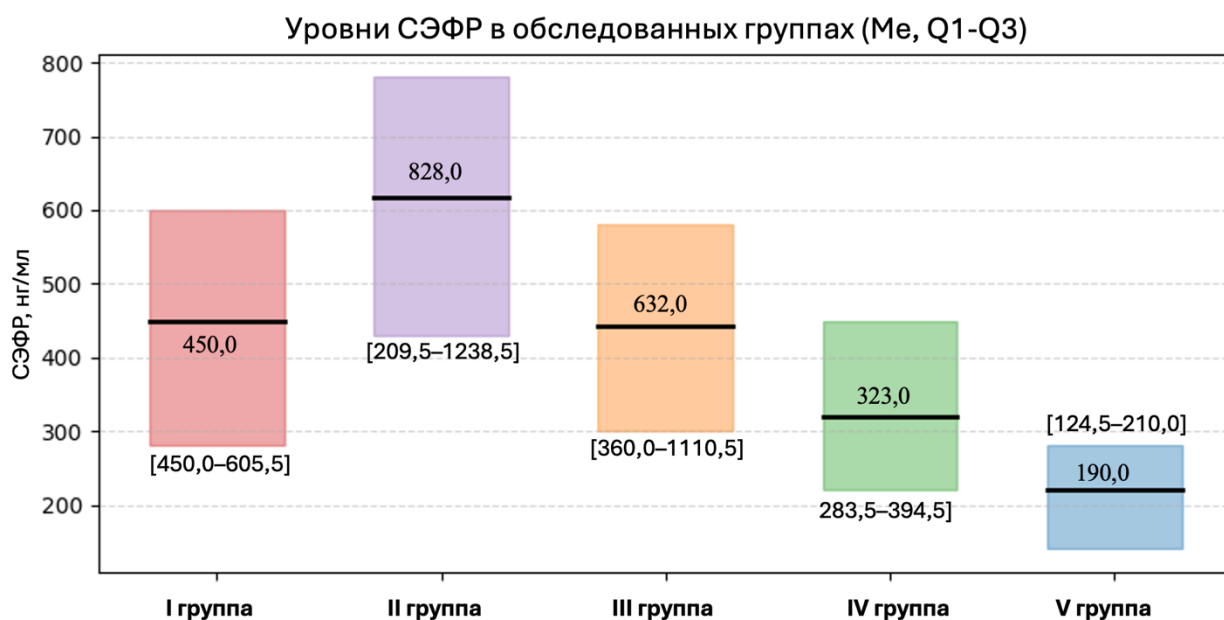
Примечание: ЦГНЗ – цитруллиновый гистон НЗ; I–V группы – см. Рисунок 3.1.

Рисунок 3.2 – Распределение уровней цитруллинового гистона НЗ в группах. Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала (Q1–Q3)



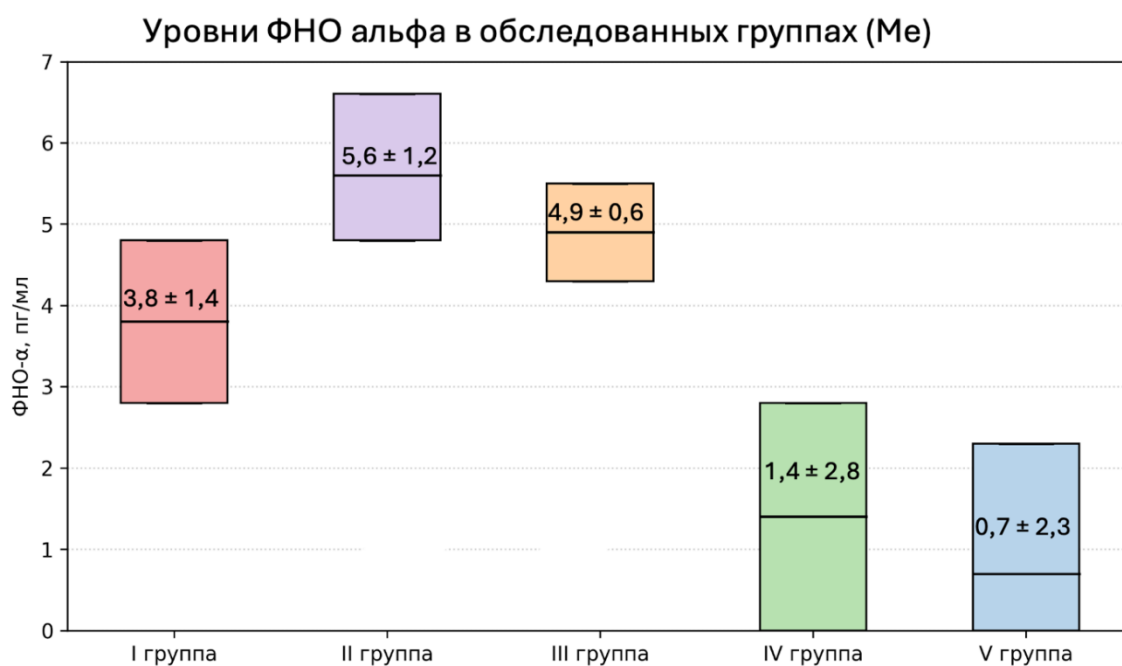
Примечание: КатG – катепсин G; I–V группы – см. Рисунок 3.1.

Рисунок 3.3 – Распределение уровней катепсина G в обследованных группах. Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала (Q1–Q3)



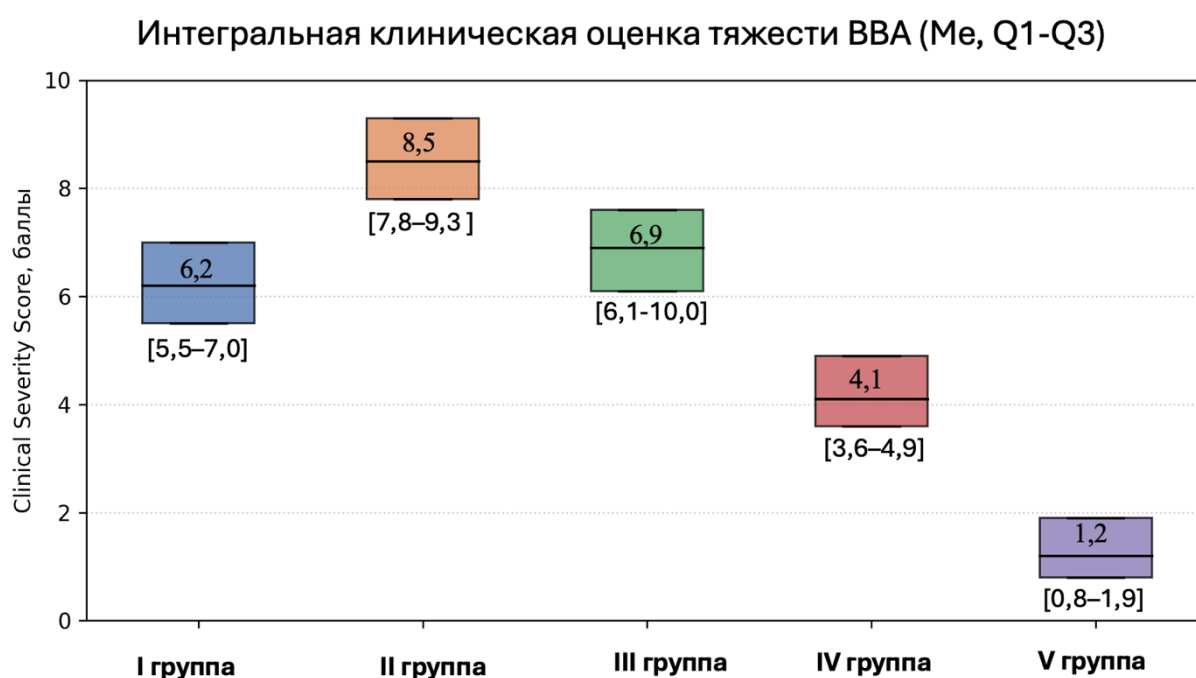
Примечание: СЭФР – сосудистый эндотелиальный фактор роста; I–V группы – см. Рисунок 3.1.

Рисунок 3.4 – Распределение уровней СЭФР в обследованных группах. Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала (Q1–Q3)



Примечание: ФНО-α – фактор некроза опухоли-α; I–V группы – см. Рисунок 3.1.

Рисунок 3.5 – Распределение уровней ФНО-α в обследованных группах.
Данные представлены в виде медианы



Примечание: Clinical Severity Score – интегральная клиническая оценка тяжести ВВА; ↑ соответствует нарастанию клинической тяжести ВВА. I–V группы – см. Рисунок 3.1.

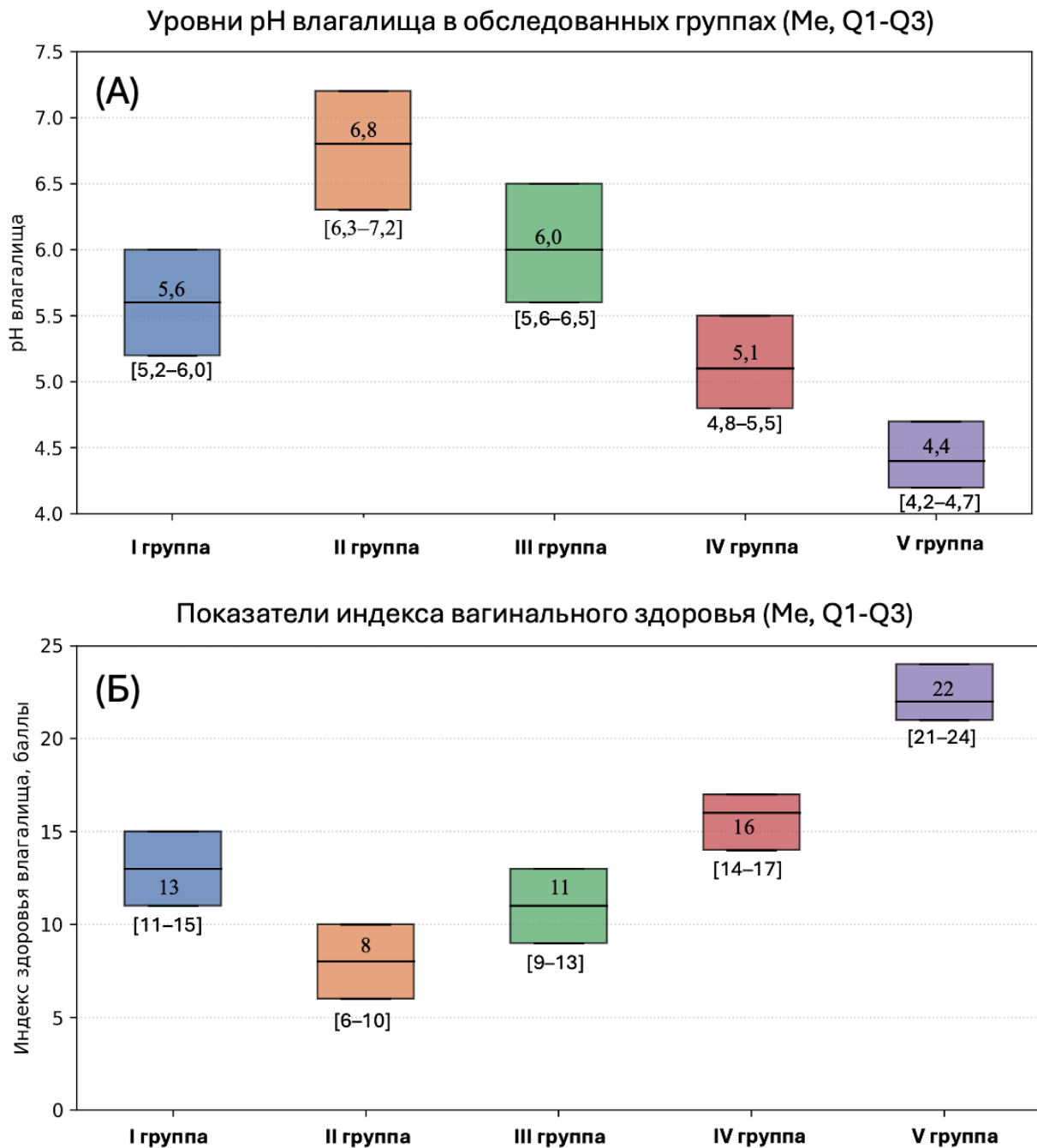
Рисунок 3.6 – Распределение значений интегрального показателя клинической тяжести вульвовагинальной атрофии (Clinical Severity Score) в обследованных группах. Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала (Q1–Q3)

Выявленные по данным box-plot (Рисунки 3.1–3.5) градиентные изменения иммуновоспалительных, ангиогенных и нейтрофильных маркеров обусловили необходимость интегральной клинической оценки тяжести ВВА (Рисунок 3.6).

Как видно из Рисунка 3.6, значения интегрального показателя клинической тяжести ВВА статистически достоверно различались между группами, формируя чёткий градиент нарастания клинической выраженности заболевания от контрольной группы к пациенткам после ХЛТ. Наиболее высокие значения интегрального показателя отмечались у пациенток с ВВА после ХЛТ, что соответствует тяжёлой степени клинической выраженности заболевания. В группах пациенток с ВВА на фоне АЭТ и после РХЛ значения интегрального показателя занимали промежуточное положение. Минимальные значения показателя были у женщин контрольной группы, что отражает отсутствие клинически значимой ВВА. Таким образом, распределение показателя интегральной оценки наглядно подтверждает зависимость клинической тяжести ВВА от характера клинического анамнеза и предшествующего лечения.

Интегральная клиническая оценка тяжести ВВА логично дополняется анализом показателей вагинальной среды и морфофункционального состояния слизистой оболочки вульвы и влагалища, представленным на Рисунке 3.7.

Таким образом, диаграммы box-plot визуально подтверждают выявленный клинико-лабораторный градиент тяжести ВВА: усиление нейтрофильной активации (ВНЛ), воспалительного ответа (ФНО- α) и ангиогенной реакции (СЭФР) по мере нарастания интегральной клинической тяжести заболевания.



Примечание: pH ↑ и ИВЗ ↓ соответствуют нарастанию выраженности атрофических изменений (pH ↑ = более выраженная атрофия; ИВЗ ↓ = более выраженная атрофия). I–V группы – см. Рисунок 3.1.

Рисунок 3.7 – Показатели вагинальной среды и морфофункционального состояния слизистой: (А) pH влагалища; (Б) индекс здоровья влагалища (ИВЗ) в обследованных группах. Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала (Q1–Q3)

3.9 Выводы по Главе 3

1. У женщин с ВВА выявлены выраженные клинико-демографические различия в зависимости от онкологического анамнеза и предшествующей противоопухолевой терапии. Наиболее выраженные клинические проявления и объективные признаки атрофии отмечены у пациенток после ХЛТ, тогда как минимальные изменения зарегистрированы в контрольной группе.

2. Анализ субъективных симптомов и данных гинекологического осмотра показал градиентное нарастание выраженности ВВА от контрольной группы к пациенткам после ХЛТ.

3. Оценка вагинальной среды и морфофункционального состояния слизистой оболочки вульвы и влагалища продемонстрировала значимое повышение вагинального pH и снижение ИВЗ у пациенток с ВВА, наиболее выраженное в группе после ХЛТ.

4. Интегральная клиническая оценка тяжести ВВА позволила количественно дифференцировать степень выраженности заболевания в обследованных группах и показала наибольшие значения у пациенток после ХЛТ, промежуточные – после РХЛ и АЭТ, и минимальные – в контрольной группе.

5. Исследование иммунологических и лабораторных показателей выявило межгрупповые различия по компонентам системы комплемента (C3 и C4), уровню провоспалительного цитокина ФНО- α и фактору ангиогенеза СЭФР, отражающие различную степень системной иммуновоспалительной и ангиогенной активации у пациенток с различными клиническими фенотипами ВВА.

6. Уровни маркеров ВНЛ (ЦГНЗ, МПО и КатG) демонстрировали выраженный градиент увеличения от контрольной группы к пациенткам после ХЛТ, что указывает на нарастание нейтрофильной активации и тканевого повреждения по мере увеличения клинической тяжести ВВА.

7. Корреляционный анализ показал наличие статистически значимых связей между интегральной клинической оценкой тяжести ВВА, показателями вагинальной среды (ИВЗ и pH) и иммуновоспалительными, ангиогенными и

нейтрофильными маркерами, что подтверждает их ассоциацию с клинической выраженностью заболевания.

8. Совокупность клинических, лабораторных и корреляционных данных свидетельствует о многоуровневом характере ВВА, включающем клинические, морфофункциональные и иммуновоспалительные компоненты, выраженность которых определяется клиническим анамнезом и характером перенесённого противоопухолевого лечения.

Полученные результаты послужили основой для последующего обсуждения патогенетических механизмов ВВА, представленного в следующей главе.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1 Общая интерпретация полученных результатов

Полученные в настоящем исследовании результаты свидетельствуют о том, что ВВА представляет собой гетерогенное клинико-патогенетическое состояние, выраженность и фенотип которого в значительной степени определяются не только фактом гипоестрогении, но и характером её формирования, а также перенесёнными повреждающими воздействиями, в первую очередь противоопухолевой терапией. Согласно полученным результатам, группы были сопоставимы по возрасту и индексу массы тела. Однако при этом были выявлены принципиальные различия в клинической симптоматике, объективных показателях состояния слизистой оболочки вульвы и влагалища, параметрах вагинальной среды и иммуновоспалительных маркерах. Это указывает на то, что естественная менопауза, хирургически индуцированная менопауза, АЭТ и ХЛТ формируют качественно различные фенотипы ВВА, отличающиеся по глубине тканевого повреждения и степени вовлечения воспалительных и иммунных механизмов.

4.2 Фенотипы вульвовагинальной атрофии в зависимости от типа менопаузы и противоопухолевого лечения

Анализ клинических и морфофункциональных показателей продемонстрировал последовательное нарастание тяжести атрофических изменений от физиологической менопаузы к индуцированным формам.

Физиологическая менопауза и контрольная группа

Контрольная группа (5-я группа) менопаузальных женщин без признаков ВВА характеризовалась сохранённым морфофункциональным состоянием слизистой оболочки влагалища. У женщин выявлены физиологические значения pH влагалища (4,2–4,7) и высокий ИВЗ. Эпителий был сохранён по толщине и

структуре, микротравмы отсутствовали. Эти показатели отражают адаптированное состояние тканей к возрастному снижению уровня эстрогенов и служат референсной точкой для оценки патологических изменений в остальных группах.

Вульвовагинальная атрофия без онкологического анамнеза: модель «чистой» гипоестрогении

У женщин с ВВА без онкологического анамнеза (4-я группа) выявлялся классический гипоестрогенный фенотип атрофии. Он характеризовался умеренным увеличением рН влагалища (до 4,5–5,0), снижением ИВЗ, истончением эпителия и появлением микротрещин. Клинические симптомы включали сухость, умеренную диспареунию и дискомфорт. Данный фенотип отражает преимущественное влияние дефицита эстрогенов на эпителий и микробиом влагалища, барьерную функцию слизистой оболочки, при минимальном участии дополнительных повреждающих факторов. Иммуновоспалительные изменения в этой группе носили умеренный характер и соответствовали модели низкоинтенсивного воспаления, ассоциированного с возрастной гипоестрогенией.

Вульвовагинальная атрофия после хирургического радикального лечения

В группе пациенток после РХЛ (1-я группа) формировался более тяжёлый фенотип ВВА. Значения рН были 5,2–6,0. Наблюдалось значительное снижение ИВЗ, выраженное истончение эпителия и увеличение частоты микротрещин. Клинические проявления включали стойкую сухость влагалища, выраженный дискомфорт и диспареунию.

Более выраженные изменения ВВА после хирургически индуцированной менопаузы можно объяснить резким прекращением гормональной поддержки тканей при отсутствии адаптационного периода. Дополнительную роль играют хирургическая травма, нарушение микроциркуляции и тканевая ишемия. Эти изменения выходят за рамки «чистой» гипоестрогении и закладывают основу для более выраженного воспалительного ответа.

Вульвовагинальная атрофия на фоне терапии антиэстрогенами

Одни из наиболее тяжёлых клинических и морфологических проявлений ВВА наблюдались у пациенток, получавших антиэстрогены (3-я группа). АЭТ

формировала уникальный гипоестрогенный фенотип ВВА с более выраженной атрофией слизистой, стойкой сухостью, болевым синдромом и высокой частотой микротрещин. При терапии антиэстрогенами происходит фармакологическое подавление активности эстрогенов на уровне рецепторов при сохранённой анатомической целостности тканей-мишеней. Ткани вульвы и влагалища анатомически сохранены, но длительно лишены возможности реагировать на эстрогены. Это свидетельствует о том, что длительное фармакологическое подавление эстрогенов оказывает более глубокое и пролонгированное влияние на ткани влагалища, чем хирургическая менопауза.

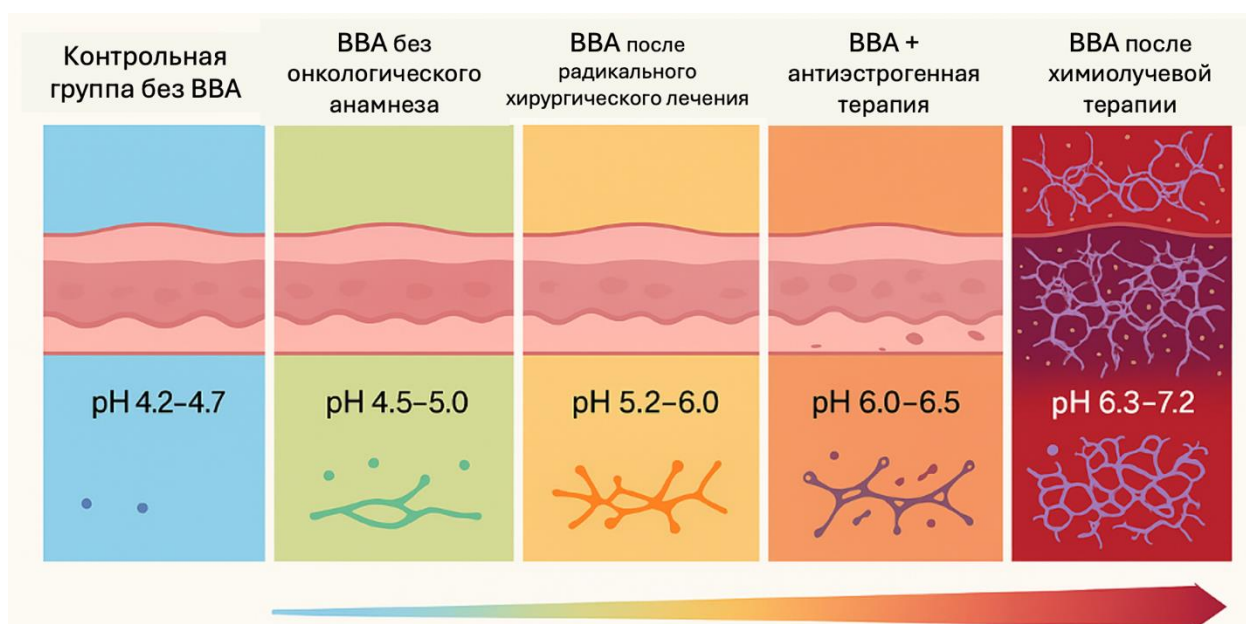
Вульвовагинальная атрофия после химиолучевой терапии: атрофически-воспалительный фенотип

Наиболее тяжёлый фенотип ВВА был выявлен у пациенток после ХЛТ. Он характеризовался максимальными значениями рН влагалища (6,3–7,2), минимальными показателями ИВЗ и наибольшей частотой микротрещин и выраженного болевого синдрома.

Этот вариант ВВА формируется в результате сочетанного воздействия глубокой гипоестрогении, прямого радиационного повреждения тканей, нарушения микроциркуляции, гибели стволовых клеток эпителия и стойкого воспалительного микроокружения. В отличие от других групп, здесь атрофия носит не только гормональный, но и деструктивный характер. Такой фенотип целесообразно рассматривать как атрофически-воспалительный, отличающийся высокой клинической тяжестью и потенциальной резистентностью к стандартным методам терапии.

В целом полученные данные демонстрируют последовательный градиент фенотипов ВВА:

физиологическая менопауза → «чистая» гипоестрогенная ВВА → хирургически индуцированная ВВА → ВВА на фоне антиэстрогенной терапии → ВВА после химиолучевого лечения (Рисунок 4.1).



Примечание: ВВА – вульвовагинальная атрофия.

Рисунок 4.1 – Схематическое изображение последовательного нарастания выраженности атрофических изменений слизистой оболочки влагалища от физиологической менопаузы к индуцированным формам ВВА

Отмечается прогрессирующее повышение pH влагалищной среды, истончение эпителия и усиление признаков тканевого повреждения у пациенток без онкологического анамнеза после хирургически индуцированной менопаузы, АЭТ и ХЛТ. Прогрессирующая гипоестрогения и увеличение глубины тканевого повреждения создают предпосылки для активации воспалительных и репаративных процессов.

4.3 Иммуновоспалительные и ангиогенные механизмы вульвовагинальной атрофии: роль системы комплемента, фактора некроза опухоли альфа и сосудистого эндотелиального фактора роста

Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о том, что прогрессирование ВВА сопровождается не только морфологическими изменениями слизистой оболочки, но и выраженной перестройкой иммуновоспалительных и ангиогенных механизмов. Эти изменения носят

системно-локальный характер и в значительной степени зависят от типа менопаузы и характера предшествующего противоопухолевого лечения.

Система комплемента как компонент врождённого иммунного ответа при ВВА

Система комплемента является важнейшей частью врожденного иммунного ответа [73]. Она быстро выявляет и помечает патогенные микроорганизмы для уничтожения, способствуя воспалению и непосредственно уничтожая микробы. Это каскад из более чем 60 белков плазмы, активируемых тремя путями (классическим, лектиновым и альтернативным), которые опсонизируют (покрывают оболочкой) микробы, превращая их в фагоциты, запускают набор иммунных клеток (хемотаксис) и удаляют клеточный мусор, связывая врожденную защиту с адаптивным иммунитетом, управляемым антителами, и влияя на такие процессы, как созревание В-клеток.

В условиях ВВА активация системы комплемента может происходить в ответ на нарушение барьерной функции эпителия, микротравматизацию слизистой оболочки и изменения вагинальной флоры. Анализ системы комплемента в нашем исследовании показал, что её вовлечение при ВВА носит селективный характер и не является универсальным признаком гипоестрогенного состояния. Определение компонентов C3 и C4 показало выраженную зависимость их профиля от клинического фенотипа ВВА. Наиболее выраженные изменения наблюдались у пациенток после ХЛТ (C3 - $2,12 \pm 0,25$ г/л; C4 - $0,32 \pm 0,07$ г/л) что отражает сочетание гипоестрогении, прямого тканевого повреждения и хронического воспалительного микроокружения. Работа Surace et al. [110] показала, что радиационное повреждение напрямую активирует C3/C5-каскад и формирует устойчивое воспалительное микроокружение, что полностью согласуется с нашими результатами. У женщин после АЭТ (C3 - $1,48 \pm 0,23$ г/л; C4 - $0,28 \pm 0,06$ г/л) и хирургически индуцированной менопаузы (C3 - $1,35 \pm 0,22$ г/л; C4 - $0,25 \pm 0,06$ г/л) изменения носили умеренный характер, тогда как при ВВА без онкологического анамнеза (C3 - $0,80 \pm 0,20$ г/л; C4 - $0,23 \pm 0,05$ г/л) показатели комплемента соответствовали модели возрастной гипоестрогенной перестройки.

Эти данные свидетельствуют о том, что гипоестрогения сама по себе не является достаточным фактором активации системы комплемента. Ее вовлечение скорее отражает наличие дополнительных повреждающих или барьерных механизмов. При интерпретации уровней С3 следует учитывать, что в условиях хронического локального воспаления снижение или низко-нормальные значения данного компонента не противоречат его активации. Напротив, они могут отражать активное потребление С3 с образованием биологически активных фрагментов (С3а, С3b) в очаге повреждения. Таким образом, концентрация С3 в сыворотке крови является косвенным и ограниченным маркером активности комплемента, тогда как реальное вовлечение данной системы проявляется через воспалительный каскад и взаимодействие с другими звеньями врождённого иммунитета [73]. В связи с этим анализ С3а и С3b может представлять интерес для дальнейших исследований.

Фактор некроза опухоли-альфа как медиатор хронического «низкоинтенсивного» воспаления, ассоциированного со старением

ФНО-α является ключевым провоспалительным цитокином, который играет важную роль в нарушении трофики и регенерации вагинальной слизистой у женщин с ВВА. Повышенные уровни ФНО-α усиливают апоптоз эпителиальных клеток, способствуют истончению многослойного плоского эпителия и снижению продукции вагинального секрета. ФНО-α участвует в формировании феномена «инфламмаэджинг» (англ. inflammaging) [71, 111] – хронического низкоинтенсивного воспаления, характерного для менопаузального периода и онкологических пациенток после агрессивного лечения [110]. Воздействие ХЛТ, длительное гипоестрогенное состояние и соматическое старение приводят к повышенной продукции ФНО-α макрофагами, эндотелием и клетками врождённого иммунитета. Согласно исследованию Page и соавт. [112], повышение ФНО-α способствует активации транскрипционного фактора NF-κB, усилению синтеза комплемента, нарушению регенерации эпителия и поддержанию постоянного воспалительного фона, что прямо отражается на выраженности ВВА.

В нашем исследовании наиболее высокие значения ФНО- α были характерны для пациенток после ХЛТ, что согласуется с концепцией «инфламмэйджинг» и радиационно-индуцированного воспаления. У женщин, получающих антиэстрогенную терапию, повышение ФНО- α также носило выраженный характер, что может быть связано с длительным подавлением регуляции эстрогенов и утратой противовоспалительного действия эстрогенов. В группах хирургически индуцированной менопаузы и ВВА без онкологического анамнеза изменения ФНО- α были менее выраженными и соответствовали умеренной воспалительной активации.

Умеренное, персистирующее повышение уровня ФНО- α , выявленное в нашей работе, может поддерживать хронический воспалительный фон (низкоинтенсивное воспаление), препятствуя полноценной регенерации тканей. Повышенный уровень ФНО- α создаёт условия для активации нейтрофилов и индукции нетоза, тем самым формируя функциональный мост между хроническим воспалением и нейтрофильным повреждением тканей [104].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста и нарушение репаративно-ангиогенных процессов при вульвовагинальной атрофии

СЭФР, который также известен как фактор проницаемости сосудов, стимулирует ангиогенез, увеличивая проницаемость сосудов. Анализ уровня СЭФР показал, что ангиогенный ответ при ВВА нарастает по мере утяжеления клинического течения заболевания. Прослеживается строгая зависимость от фенотипа ВВА. Минимальные значения СЭФР выявлены в контрольной группе (190,0 [124,5–210,0] пг/мл), что обусловлено отсутствием потребности в активном ангиогенезе при сохранённой структуре слизистой оболочки влагалища [71]. У пациенток с ВВА без онкологического анамнеза и после хирургического вмешательства уровень СЭФР был умеренно повышен (323,0 [283,5–394,5] пг/мл и 450,0 [280,0–600,5] пг/мл, соответственно). Это может быть связано с компенсаторной активацией ангиогенеза в условиях хронической гипоестрогении и адаптационной перестройки микроциркуляции. Более высокие значения СЭФР выявлены у пациенток, получающих АЭТ (632,0 [360,0–1110,5] пг/мл), что,

вероятно, связано с персистирующим функциональным подавлением эстрогеновой сигнализации при сохранённых тканях-мишенях и сопровождается хронической стимуляцией ангиогенных механизмов. Наиболее выраженное повышение СЭФР было обнаружено у пациенток после ХЛТ (828,0 [209,5–1238,5] пг/мл), что отражает интенсивную ангиогенную активацию в ответ на радиационно-индуцированное микрососудистое повреждение и тканевую гипоксию [71]. Однако, несмотря на высокий уровень СЭФР, сохранение тяжёлых морфологических и клинических проявлений ВВА у данной категории пациенток свидетельствует о функциональной несостоятельности ангиогенного ответа. Подобный феномен диссоциации между уровнем СЭФР и эффективностью ангиогенеза описан при хроническом воспалении и радиационном повреждении тканей, где ангиогенная стимуляция не сопровождается формированием зрелой сосудистой сети [71, 112].

Роль внеклеточных нейтрофильных ловушек в прогрессировании вульвовагинальной атрофии

Полученные в нашем исследовании данные свидетельствуют о том, что активация ВНЛ является важным патогенетическим звеном в прогрессировании ВВА, особенно при её онкологически ассоциированных формах. ВНЛ представляют собой структуру из деконденсированной ДНК, гистонов и протеаз нейтрофилов, включая ЦГНЗ, МПО и КатG, и отражают состояние активации врождённого иммунного ответа [50].

Минимальные значения ЦГНЗ (0,15 [0,10–0,20] нг/мл), МПО (5,50 [3,00–7,00] нг/мл) и КатG (5,00 [4,00–6,00] нг/мл) выявлены в контрольной группе, что соответствует отсутствию хронического воспаления и сохранённой барьерной функции слизистой оболочки влагалища.

У пациенток с ВВА без онкологического анамнеза отмечалось умеренное повышение маркеров ВНЛ (0,22 [0,15–0,30] нг/мл, 7,50 [5,00–10,00] нг/мл и 6,00 [5,00–7,00] нг/мл, для ЦГНЗ, МПО и КатG, соответственно) что может отражать наличие хронического низкоинтенсивного воспаления, связанного с гипоэстрогенным состоянием, нарушением микробиоценоза и

микротравматизацией слизистой оболочки. Данный профиль соответствует медленно прогрессирующему атрофическому процессу без выраженного тканевого повреждения.

У женщин после РХЛ и на фоне АЭТ уровни маркеров ВНЛ были достоверно выше по сравнению с предыдущими группами (Таблица 3.6). Это связано с усилением активации нейтрофилов в условиях резкого выключения эстрогенов. Исчезает противовоспалительное действие эстрогенов, нарушается контроль врождённого иммунитета и нейтрофилы постоянно активируются. В результате образуются ВНЛ, которые еще больше поддерживают хроническое воспаление. Это сопровождается нарушением репаративных процессов и поддержанием воспалительного микроокружения. При физиологической гипоестрогении процесс развивается медленно, без резкого нарушения регуляции и без выраженного повреждения, что не требует массивной активации нейтрофилов.

Наиболее выраженная активация ВНЛ выявлена у пациенток после ХЛТ, что подтверждается максимальными уровнями ЦГНЗ (0,65 [0,50–0,80] нг/мл), МПО (24,00 [18,00–30,00] нг/мл) и КатG (14,00 [12,00–16,00]). При ХЛТ, помимо глубокой гипоестрогении, присоединяются и другие процессы. Активация ВНЛ при данном фенотипе является следствием не одного, а нескольких взаимодополняющих механизмов: прямого лучевого и цитостатического повреждения тканей, эндотелиальной дисфункции и гормональной депривации. Это согласуется с данными, полученными другими авторами, которые обнаружили ВНЛ в крови пациентов, проходящих традиционную лучевую терапию [113, 114].

Взаимосвязь внеклеточных нейтрофильных ловушек с воспалительными и ангиогенными механизмами

Активация ВНЛ при ВВА тесно связана с ранее рассмотренными иммуновоспалительными и ангиогенными механизмами. Повышение уровня ФНО- α способствует активации нейтрофилов и индукции нетоза, тогда как компоненты системы комплемента могут выступать дополнительными триггерами нейтрофильной активации, особенно в условиях нарушенной барьерной функции слизистой оболочки.

Одновременно ВНЛ оказывают прямое повреждающее воздействие на ткани за счёт цитотоксических эффектов гистонов и протеаз, усиливают микрососудистую дисфункцию и способствуют поддержанию воспалительного каскада.

Таблица 4.1 – Интегральный профиль воспалительных, ангиогенных и нейтрофильных маркеров при различных фенотипах вульвовагинальной атрофии

Группа	ФНО- α	СЭФР	ВНЛ
Контроль	↓	↓	↓
ВВА без онкоанамнеза	↑/±	↑	↑
ВВА и РХЛ	↑	↑↑	↑
ВВА и АЭТ	↑↑	↑↑↑	↑↑
ВВА и ХЛТ	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑
Примечание: Стрелки отражают выраженность изменений показателей по сравнению с контрольной группой. Система комплемента в таблицу не включена в связи с её селективным проявлением при ВВА; ВВА – вульвовагинальная атрофия; РХЛ – радикальное хирургическое лечение; АЭТ – антиэстрогенная терапия; ХЛТ – химиолучевая терапия; ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа; СЭФР – сосудистый эндотелиальный фактор роста; ВНЛ – внеклеточные нейтрофильные ловушки.			

Совокупный анализ уровней ФНО- α , СЭФР, ЦГНЗ, МПО и КатG демонстрирует последовательное усиление иммуновоспалительной и ангиогенной активности по мере увеличения тяжести ВВА. Постепенное нарастание ЦГНЗ, МПО и КатG от контрольной группы к пациенткам после ХЛТ ассоциируется с переходом от адаптированного состояния слизистой оболочки к атрофически-воспалительному фенотипу с выраженным нарушением барьерной и репаративной функции. Особое значение ВНЛ приобретают при онкологически ассоциированных формах ВВА. В этих случаях ВНЛ могут быть не только следствием воспаления, но и активным участником поддержания тканевого повреждения и резистентности к восстановлению. В этом контексте ВНЛ представляют собой важное патогенетическое звено, связывающее гормональные, воспалительные и микрососудистые нарушения.

4.4 Интегральная патогенетическая модель вульвовагинальной атрофии

На основании полученных результатов и их обсуждения нам представляется возможным сформировать патогенетическую модель ВВА, которая передает фенотип-зависимый характер атрофии. ВВА в этой модели можно рассматривать не как изолированное следствие гипоестрогенного состояния, а как результат сложного взаимодействия различных механизмов (гормональных, иммуновоспалительных, ангиогенных и тканевых).

Ключевым пусковым фактором ВВА является снижение стимуляции эстрогенов, что приводит к нарушению барьерной функции слизистой оболочки, снижению репаративного потенциала эпителия и изменению микроциркуляции. Однако дальнейшее развитие патологического процесса определяется не только фактом гипоестрогении, но и характером её индукции, и наличием дополнительных повреждающих воздействий. В условиях физиологической гипоестрогении формируется медленно прогрессирующий атрофический процесс с умеренной активацией воспалительных и ангиогенных механизмов. Напротив, при РХЛ и АЭТ выключение эстрогенной регуляции носит резкий (постовариэктомический синдром) либо фармакологически опосредованный характер (антиэстрогены), что сопровождается выраженным нарушением репарации и активацией врождённого иммунного ответа.

Особое место в возникновении ВВА занимает ХЛТ, при которой патогенез ВВА носит мультифакторный характер. В этом случае гипоестрогения сочетается с прямым лучевым и цитостатическим повреждением тканей и выраженным персистирующим воспалительным ответом. Именно при онкологически ассоциированных формах ВВА выявляется максимальная активация иммуновоспалительных и ангиогенных маркеров.

Центральным интегративным звеном патогенеза ВВА выступают ВНЛ. Активация ВНЛ отражает переход от компенсаторных и адаптационных механизмов к состоянию хронизации воспалительного процесса и тканевого повреждения. ВНЛ не только являются маркером активации нейтрофилов, но и

активно участвуют в поддержании атрофически-воспалительного микроокружения за счёт цитотоксического воздействия гистонов и протеаз, усиления эндотелиальной дисфункции и нарушения процессов репарации. Для наглядного сопоставления иммуновоспалительных и ангиогенных маркеров при различных формах ВВА представлена обобщающая таблица (Таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Фенотип-зависимая выраженность воспалительных, ангиогенных и нейтрофильных механизмов при вульвовагинальной атрофии [47]

Фенотип / группа	ЦГНЗ (цитруллинированный гистон H3)	МПО (миелопероксид аза)	Катепсин G	Характер ожидаемых изменений
1. ВВА после радикального хирургического лечения вследствие опухолевого процесса	↑ – умеренное повышение по сравнению с контролем; выше, чем при ВВА без онкологического анамнеза	↑ – умеренное повышение; хроническое постхирургическое воспаление и ремоделирование тканей	↑ – повышение, связанное с локальным нейтрофильным ответом в зоне рубца и возможным фиброзом	ВНЛ-активация преимущественно за счёт посттравматического хронического воспаления и гипоэстрогении; выраженность ниже, чем при ХЛТ и АЭТ
2. ВВА после химиолучевой терапии	↑↑ – максимальное повышение среди всех групп, широкий разброс значений	↑↑ – выраженное повышение; стойкое эндотелиальное и тканевое повреждение после ХЛТ	↑↑ – значительное повышение, особенно при выраженном фиброзе и стенозах	Наиболее «агрессивный» ВНЛ-профиль: сочетание радиационного фиброза, ишемии, МФАП и хронического воспаления приводит к стойкой активации ВНЛ
3. ВВА на фоне антиэстрогенной терапии	↑ – выраженное повышение по сравнению с контролем и ВВА без онкоанамнеза, сходное или слегка ниже, чем при ХЛТ	↑ – повышение (часто до уровней, близких к ХЛТ), на фоне тяжёлой эстрогенной депривации	↑↑ – значимое повышение, как маркера хронического низкоинтенсивного воспаления и ремоделирования слизистой	ВНЛ-активация поддерживается длительной АЭТ, истончением эпителия, микротрещинами, повышением рН и дисбиотическими изменениями

Продолжение Таблицы 4.2

4. ВВА без онкологического анамнеза	± / слегка ↑ – небольшое повышение по сравнению с контролем; существенно ниже, чем при онкологическими формами ВВА	± / слегка ↑ – возможное умеренное повышение, связанное с сухостью, микротравмой и изменением микробиоценоза	± – близок к контрольным значениям или слегка выше	Модель «чистой» гипоестрогении: ВНЛ-активация минимальна и отражает преимущественно локальную сухость, изменение pH и умеренное асептическое воспаление
5. Контроль: менопаузальные женщины без ВВА и без онкологического анамнеза	минимальные значения	низкие значения в узком диапазоне	низкие/умеренные фоновые значения	Отсутствие выраженного локального воспаления и тканевого повреждения; служит референсной точкой для оценки ВНЛ-профиля при различных фенотипах ВВА
Примечание: Стрелки отражают относительное направление и степень выраженности изменений показателей по сравнению с контрольной группой. Таблица носит обобщающий и интерпретационный характер и не предназначена для количественной оценки показателей. ВВА – вульвовагинальная атрофия; ХРЛ – хирургическое радикальное лечение; ХЛТ – химиолучевая терапия; ВНЛ – внеклеточные нейтрофильные ловушки; АЭТ – антиэстрогенная терапия; МФАП – молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждением.				

Роль системы комплемента в данном исследовании носит селективный характер. Активация отдельных компонентов комплемента может способствовать усилению воспалительного каскада и нейтрофильной активации, однако концентрации C3 и C4 в сыворотке крови не отражают линейного нарастания тяжести ВВА и имеют ограниченную диагностическую ценность при изолированной интерпретации. Аналогично, повышение СЭФР следует рассматривать как показатель попытки ангиогенной компенсации, которая при тяжёлых формах ВВА, особенно после ХЛТ, носит функционально несостоятельный характер и не приводит к восстановлению структуры слизистой оболочки.

На Рисунке 4.2 представлена схематическое изображение взаимодействия гипоестрогении, воспалительных (ФНО- α), комплемент-опосредованных и нейтрофильных механизмов (ВНЛ) в формировании и поддержании атрофически-воспалительного фенотипа ВВА.

Таким образом, в основе ВВА лежит взаимодействие гипоестрогении, хронического воспаления, ангиогенного дисбаланса и нейтрофильного повреждения тканей. Выраженность этих процессов определяет различные клинические фенотипы ВВА, понимание которых имеет важное значение для разработки персонализированных подходов к ведению пациенток, учитывающих не только гормональный статус, но и иммуновоспалительное микроокружение слизистой оболочки урогенитального тракта.

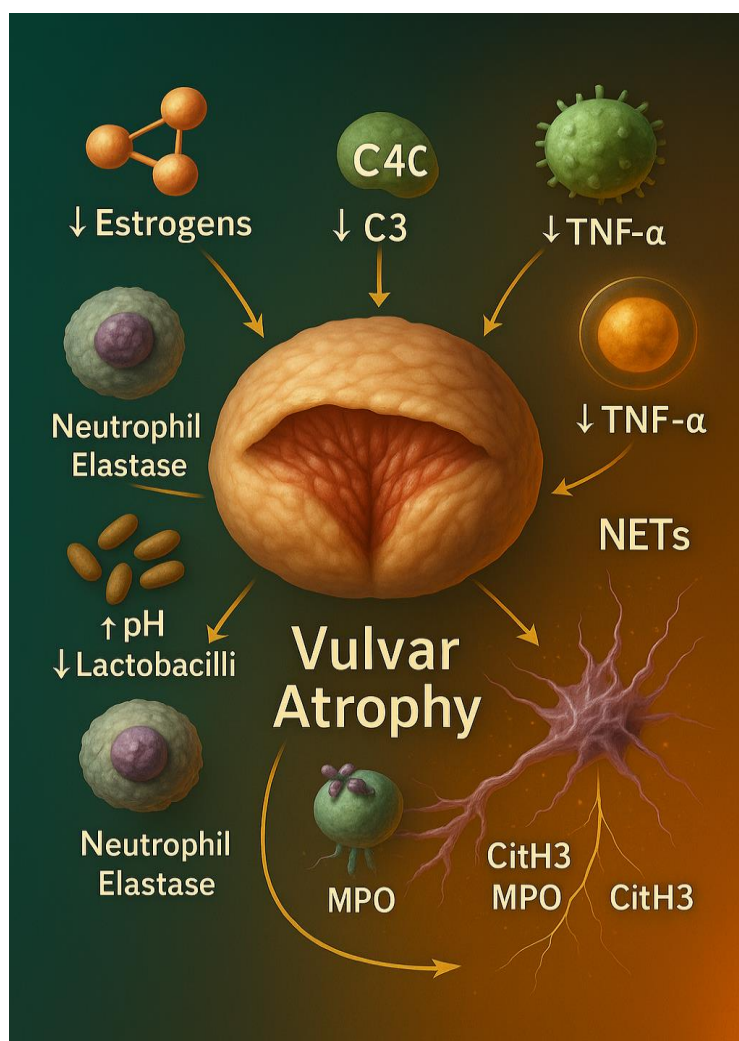


Рисунок 4.2 – Интегральная патогенетическая модель вульвовагинальной атрофии (рисунок автора)

4.5 Перспективы патогенетически ориентированной терапии вульвовагинальной атрофии

С учётом полученных данных представляется интерес к патогенетически обоснованным терапевтическим стратегиям, которые направлены на модуляцию иммуновоспалительного микроокружения при различных фенотипах ВВА [4]. Перспективными представляются таргетные противовоспалительные средства, ориентированные на конкретные иммуновоспалительные фенотипы ВВА.

Высокие уровни МПО, катепсина G и ФНО- α указывают на выраженное локальное воспаление, что оправдывает применение средств, улучшающих репарацию и уменьшающих повреждение эпителия [50].

Антиоксидантная терапия, направленная на подавление формирования ВНЛ, может быть успешной при фенотипах ВВА после ХЛТ и АЭТ [50]. Перспективными в этом отношении являются N-ацетилцистеин (снижает продукцию МПО); мелатонин (снижает оксидативный стресс и стимулирует репарацию); витамин D (подавляет активацию нейтрофилов); ресвератрол, эпигаллокатехин (проявляют анти-ВНЛ свойства) [115].

К таргетным средствам, направленным на сериновые протеазы нейтрофилов или процесс нетоза, относят и PAD4-ингибиторы (блокируют цитруллинирование гистонов) [116]; локальная или системная дезоксирибонуклеаза I-го типа (расщепление внеклеточной ДНК) [116]; колхицин (в низких дозах подавляет формирование ВНЛ); босвеллия (ингибитор катепсина G, эластазы нейтрофилов) [115, 116].

В терапии ВВА необходим комплексный подход, который сочетает восстановление регуляции эстрогенов (при отсутствии противопоказаний) с методами, направленными на коррекцию воспалительных и тканевых нарушений. Реализация указанных направлений требует проведения дальнейших клинических исследований с использованием объективных биомаркеров, включая маркеры ВНЛ, провоспалительные цитокины и морфологическую оценку состояния слизистой оболочки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование позволило дать комплексную оценку клинико-патогенетическим особенностям различных фенотипов ВВА. Показано, что ВВА формируется в результате взаимодействия гормональных, иммуновоспалительных, ангиогенных и тканевых механизмов.

Представленные клинические показатели демонстрируют чёткую градацию тяжести ВВА в зависимости от типа перенесённой терапии.

При ВВА без онкологического анамнеза преобладают изменения, соответствующие модели «чистой» гипоестрогении, характеризующейся умеренными атрофическими проявлениями и минимальной активацией иммуновоспалительных процессов. В отличие от этого, хирургически индуцированная менопауза и антиэстрогенная терапия сопровождаются более выраженным нарушением репаративных процессов и усилением воспалительного ответа, что отражает значение резкого или фармакологически опосредованного выключения регуляции эстрогенов.

Особое место среди изученных фенотипов занимает ВВА после ХЛТ, для которой характерен атрофически-воспалительный тип ВВА. Гипоестрогения при этом сочетается с прямым лучевым и цитостатическим повреждением тканей и персистирующим воспалением. При этом наблюдается максимальная выраженность клинических и иммунологических нарушений. ВНЛ в нашем исследовании являются важным звеном патогенеза ВВА. Повышение уровней ВНЛ ассоциируется с переходом от компенсаторных адаптационных возможностей к хронизации атрофически-воспалительного процесса и повреждению слизистой оболочки. Клинически это проявляется утяжелением клинических фенотипов ВВА. Максимальная активация ВНЛ выявлена при онкологически ассоциированных формах ВВА, что подчёркивает их роль как чувствительного маркера глубины тканевого повреждения.

Изменения показателей системы комплемента и ангиогенных факторов носят селективный характер. Изолированная интерпретация компонентов С3 и С4

системы комплемента имеет ограниченную информативную ценность. А повышение СЭФР при тяжёлых формах ВВА является функционально несостоятельным и не приводит к восстановлению микроциркуляции и структуры слизистой оболочки.

Таким образом, выявленные патогенетические различия между клиническими формами ВВА подчёркивают необходимость дифференцированного подхода к оценке и ведению пациенток и создают основу для дальнейших исследований, направленных на разработку патогенетически обоснованных диагностических и терапевтических стратегий.

ВЫВОДЫ

1. У женщин с вульвовагинальной атрофией наблюдается достоверное повышение уровня провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли альфа и маркеров внеклеточных нейтрофильных ловушек (миелопероксидаза, цитруллиновый гистон H3, катепсин G), а также селективными изменениями компонентов системы комплемента и показателей ангиогенеза по сравнению с контрольной группой.

2. Проведён сравнительный межгрупповой анализ уровней всех исследуемых биомаркеров; установлено, что межгрупповые различия наиболее выражены по маркерам внеклеточных нейтрофильных ловушек (миелопероксидаза, цитруллиновый гистон H3, катепсин G), уровню фактора некроза опухоли альфа и сосудистого эндотелиального фактора роста.

3. Установлены статистически достоверные корреляционные связи между уровнями маркеров нетоза, провоспалительных цитокинов, компонентов системы комплемента и клиническими показателями вульвовагинальной атрофии, включая индекс вагинального здоровья и вагинальный pH.

4. Выраженность активации нейтрофильных внеклеточных ловушек, изменения уровней фактора некроза опухоли альфа и C3 компонента системы комплемента у пациенток с вульвовагинальной атрофией зависят от вида предшествующей противоопухолевой терапии; наиболее выраженные иммуновоспалительные изменения выявлены у пациенток после химиолучевой терапии по сравнению с женщинами после радикального хирургического лечения и антиэстрогенной терапии.

5. Маркеры нетоза (миелопероксидаза, цитруллиновый гистон H3, катепсин G) в сочетании с уровнем фактора некроза опухоли альфа и сосудистым эндотелиальным фактором роста являются статистически значимыми маркерами у женщин с вульвовагинальной атрофией и могут быть использованы для обоснования дифференцированного подхода к их ведению.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании женщин с симптомами вульвовагинальной атрофии рекомендуется применять интегральную клинико-лабораторную оценку, включающую анализ субъективных симптомов, определение индекса вагинального здоровья и измерение вагинального pH, что позволяет объективизировать степень атрофических изменений и проводить динамическое наблюдение.

2. Женщины с вульвовагинальной атрофией и онкогинекологическим анамнезом, особенно перенесшие химиолучевую терапию, должны рассматриваться как группа повышенного риска по развитию тяжелых и персистирующих форм заболевания, что обосновывает необходимость более тщательного клинического мониторинга и индивидуализации тактики ведения.

3. В случаях вульвовагинальной атрофии средней тяжести целесообразно учитывать иммуновоспалительный компонент заболевания с возможностью определения маркеров нетоза (миелопероксидаза, цитруллиновый гистон H3, катепсин G), уровня фактора некроза опухоли альфа и сосудистого эндотелиального фактора роста в качестве дополнительных лабораторных показателей, отражающих выраженность хронического воспалительного процесса.

4. Интерпретацию изменений компонентов системы комплемента (C3 и C4) рекомендуется проводить в комплексе с клиническими данными и другими иммуновоспалительными маркерами, поскольку их изолированная оценка имеет ограниченную диагностическую информативность при вульвовагинальной атрофии.

5. Изменения уровня сосудистого эндотелиального фактора роста при вульвовагинальной атрофии следует рассматривать как проявление дисрегуляции ангиогенных процессов, не всегда сопровождающееся эффективным восстановлением микроциркуляции и структуры слизистой оболочки, что ограничивает использование данного показателя в качестве самостоятельного критерия репарации тканей.

6. Использование совокупности клинических показателей и иммуновоспалительных маркеров позволяет осуществлять дифференцированный подход к ведению пациенток с вульвовагинальной атрофией, учитывающий особенности патогенеза заболевания и анамнез противоопухолевого лечения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АПР – активируемые протеазой рецепторы

АФК – активные формы кислорода

АЭТ – антиэстрогенная терапия

ВАШ – визуально-аналоговая шкала

ВВА – вульвовагинальная атрофия

ВНЛ – внеклеточные нейтрофильные ловушки

ГнРГ – гонадотропин-высвобождающие гормоны

ГУМС – генитоуринарный менопаузальный синдром

ДГЭА – дегидроэпиандростерон

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИА – ингибиторы ароматазы

ИВЗ – индекс вагинального здоровья

ИМТ – индекс массы тела

ИЛ – интерлейкин

ИФА – иммуноферментный метод

ИФН- γ – интерферон-гамма

КатG – катепсин G

МПО – миелопероксидаза

МФАП – молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждением

МХБ – моноцитарный хемоаттрактантный белок

МЭРМ – моэзин-эзрин-радиксин-мерлин

НЭ – нейтрофильная эластаза

ПАД4 – пептидиларгининдезимидаза 4

Пр3 – протеиназа 3

PVD – рецептор витамина D

РМЖ – рак молочной железы

РХЛ – радикальное хирургическое лечение

РШМ – рак шейки матки

РЭ – рак эндометрия

СМЭР – селективные модуляторов эстрогеновых рецепторов

СЭФР – сосудистый эндотелиальный фактор роста

ТФР- β – трансформирующий фактор роста бета

Тх – Т хелпер

ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа

ХЛТ – химиолучевая терапия

ЦГНЗ – цитруллинированный гистон НЗ

ЦНС – центральная нервная система

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

5 α -ДГТ – 5 α -дигидротестостерон

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вульвовагинальная атрофия в пери- и постменопаузе: актуальность проблемы и влияние на качество жизни / М. Р. Оразов, Е. С. Силантьева, В. Е. Радзинский [и др.] // Гинекология. – 2022. – Т. 24. – № 5. – С. 408-412.
2. A Treatise on the Diseases and Special Hygiene of Females // Med Chir Rev. – 1846. – Vol. 3(6). – P. 337-356.
3. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society / D. J. Portman, M. L. Gass, Vulvovaginal Atrophy Terminology Consensus Conference Panel [et al.] // Menopause. – 2014. – Vol. 21. – № 10. – P. 1063-1068.
4. Mac Bride, M. B. Vulvovaginal atrophy / M. B. Mac Bride, D. J. Rhodes, L. T. Shuster // Mayo Clin Proc. – 2010. – Vol. 85. – № 1. – P. 87-94.
5. The Association Between Vulvovaginal Atrophy Symptoms and Quality of Life Among Postmenopausal Women in the United States and Western Europe / M. DiBonaventura, X. Luo, M. Moffatt [et al.] // J Womens Health (Larchmt). – 2015. – Vol. 24. – № 9. – P. 713-722.
6. The Recent Review of the Genitourinary Syndrome of Menopause / H. K. Kim, S. Y. Kang, Y. J. Chung [et al.] // J Menopausal Med. – 2015. – Vol. 21. – № 2. – P. 65-71.
7. Awareness and experience of menopausal symptoms and hormone therapy in Korean postmenopausal women / H. D. Chae, S. Y. Choi, E. J. Cho [et al.] // J Menopausal Med. – 2014. – Vol. 20. – № 1. – P. 7-13.
8. Клинические рекомендации. Менопауза и климактерическое состояние у женщины / Российское общество акушеров-гинекологов. – 2021. – 55 с.
9. Вульвовагинальная атрофия: проблемы лечения и реабилитации / Д. М. Ампилогова, А. Г. Солопова, Д. В. Блинов [и др.] // Гинекология. – 2022. – Т. 24. – № 4. – С. 240-245. – DOI: 10.26442/20795696.2022.4.20179.
10. Harlow, S. D. Menstruation and the menopausal transition / S. D. Harlow, P. Paramsothy // Obstet Gynecol Clin North Am. – 2011. – Vol. 38. – № 3. – P. 595-607.

11. The menopause transition and women's health at midlife: a progress report from the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN) / S. R. El Khoudary, G. Greendale, S. L. Crawford [et al.] // *Menopause*. – 2019. – Vol. 26. – № 10. – P. 1213-1227.
12. Estrogen receptor alpha and beta expression in the vaginal walls and uterosacral ligaments of premenopausal and postmenopausal women / G. D. Chen, R. H. Oliver, B. S. Leung [et al.] // *Fertil Steril*. – 1999. – Vol. 71. – № 6. – P. 1099-1102.
13. Efficacy of vaginally applied estrogen, testosterone, or polyacrylic acid on vaginal atrophy: a randomized controlled trial / T. Fernandes, L. H. Costa-Paiva, A. O. Pedro [et al.] // *Menopause*. – 2016. – Vol. 23. – № 7. – P. 792-798.
14. Topical testosterone for breast cancer patients with vaginal atrophy related to aromatase inhibitors: a phase I/II study / S. Witherby, J. Johnson, L. Demers [et al.] // *Oncologist*. – 2011. – Vol. 16. – № 4. – P. 424-431.
15. Cramer, D. W. Signatures of reproductive events on blood counts and biomarkers of inflammation: Implications for chronic disease risk / D. W. Cramer, A. F. Vitonis // *PLoS ONE*. – 2017. – Vol. 12. – № 2. – P. e0172530.
16. Lang, T. J. Estrogen as an immunomodulator / T. J. Lang // *Clin Immunol*. – 2004. – Vol. 113. – № 3. – P. 224-230.
17. The immunomodulatory effects of estrogens: clinical relevance in immune-mediated rheumatic diseases / M. Cutolo, R. Brizzolara, F. Atzeni [et al.] // *Ann N Y Acad Sci*. – 2010. – Vol. 1193. – P. 36-42.
18. 17beta-estradiol inhibits inflammatory gene expression by controlling NF-kappaB intracellular localization / S. Ghisletti, C. Meda, A. Maggi [et al.] // *Mol Cell Biol*. – 2005. – Vol. 25. – № 8. – P. 2957-2968.
19. Karpuzoglu-Sahin, E. Interferon-gamma levels are upregulated by 17-beta-estradiol and diethylstilbestrol / E. Karpuzoglu-Sahin, B. D. Hissong, S. Ansar Ahmed // *J Reprod Immunol*. – 2001. – Vol. 52. – № 1. – P. 113-127.
20. Cutolo, M. Estrogen metabolism and autoimmunity / M. Cutolo, A. Sulli, R. H. Straub // *Autoimmun Rev*. – 2012. – Vol. 1. – № 6-7. – P. A460-A464.

21. Гридасова, О. С. Роль личной гигиены в ведении пациенток с вульвовагинальной атрофией / О. С. Гридасова // Реабилитология. – 2025. – Т. 3. – № 1. – С. 22-28. – DOI: 10.17749/2949-5873/rehabil.2025.29.
22. Estradiol is required for a proper immune response to bacterial and viral pathogens in the female brain / G. Soucy, G. Boivin, F. Labrie [et al.] // J Immunol. – 2005. – Vol. 174. – № 10. – P. 6391-6398.
23. Diagnosis and management of symptoms associated with vulvovaginal atrophy: expert opinion on behalf of the Italian VVA study group / R. E. Nappi, N. Biglia, A. Cagnacci [et al.] // Gynecol Endocrinol. – 2016. – Vol. 32. – № 8. – P. 602-606. – DOI:10.1080/09513590.2016.1183627.
24. Chronic estradiol administration in vivo promotes the proinflammatory response of macrophages to TLR4 activation: involvement of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway / B. Calippe, V. Douin-Echinard, M. Laffargue [et al.] // J Immunol. – 2008. – Vol. 180. – № 12. – P. 7980-7988.
25. Low-dose estrogen therapy ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in two different inbred mouse strains / B. F. Jr. Bebo, A. Fyfe-Johnson, K. Adlard [et al.] // J Immunol. – 2001. – Vol. 166. – № 3. – P. 2080-2089.
26. Therapeutic Effects of Vitamin D on Vaginal, Sexual, and Urological Functions in Postmenopausal Women / M. M. Hassanein, H. Z. Huri, A. R. Abduekkarem [et al.] // Nutrients. – 2023. – Vol. 15. – № 17. – P. 3804.
27. Estriol ameliorates autoimmune demyelinating disease: implications for multiple sclerosis / S. Kim, S. M. Liva, M. A. Dalal [et al.] // Neurology. – 1999. – Vol. 52. – № 6. – P. 1230-1238.
28. Зиганшина, Л. З. Современные принципы лечения менопаузального урогенитального синдрома / Л. З. Зиганшина, И. В. Сахаутдинова // Главный врач Юга России. – 2023. – № 1 (87). – С. 48-51.
29. Salem, M. L. Estrogen, a double-edged sword: modulation of TH1- and TH2-mediated inflammations by differential regulation of TH1/TH2 cytokine production / M. L. Salem // Curr Drug Targets Inflamm Allergy. – 2004. – Vol. 3. – № 7. – P. 97-104.

30. Kubes, P. The enigmatic neutrophil: what we do not know / P. Kubes // *Cell Tissue Res.* – 2018. – Vol. 371. – № 3. – P. 399-406.
31. Addressing Vulvovaginal Atrophy (VVA)/Genitourinary Syndrome of Menopause (GSM) for Healthy Aging in Women / R. E. Nappi, E. Martini, L. Cucinella [et al.] // *Frontiers in endocrinology.* – 2019. – Vol. 10. – P. 561.
32. Nowak, K. Neutrophils life under estrogenic and xenoestrogenic control / K. Nowak, E. Jabłońska, W. Ratajczak-Wrona // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2019. – Vol. 186. – № 1. – P. 203-211.
33. Brinkmann, V. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / V. Brinkmann, U. Reichard, C. Goosmann // *Science.* – 2004. – Vol. 303. – №. 5663. – P. 1532-1535.
34. Zhou, Y. Impact of Neutrophil Extracellular Traps on Thrombosis Formation: New Findings and Future Perspective / Y. Zhou, Z. Xu, Z. Liu // *Frontiers in cellular and infection microbiology.* – 2022. – Vol. 12. – P. 910908.
35. Manley, H. R. The Neutrophil Nucleus: An Important Influence on Neutrophil Migration and Function / H. R. Manley, M. C. Keightley, G. J. Lieschke // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 2867.
36. Quantification of citrullinated histones: Development of an improved assay to reliably quantify nucleosomal H3Cit in human plasma / C. Thålin, K. Aguilera, N. W. Hall [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2020. – Vol. 18. – № 10. – P. 2732-2743.
37. Citrullinated histone H3 as a novel prognostic blood marker in patients with advanced cancer / C. Thålin, S. Lundström, C. Seignez [et al.] // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13. – № 1. – P. e0191231
38. Soper, H. W. Must the tincture of guaiac be freshly prepared? / H. W. Soper // *JAMA.* – 1911. – Vol. LVI. – № 4. – P. 263.
39. Siraki, A. G. The many roles of myeloperoxidase: From inflammation and immunity to biomarkers, drug metabolism and drug discovery / A. G. Siraki // *Redox Biol.* – 2021. – Vol. 46. – C. 102109.
40. Theorell, H. Highly purified milk peroxidase / H. Theorell, A. Åkeson // *Arkiv Kemi Minerol Geol.* – 1943. – Vol. 17. – P. 1-6.

41. Chance, B. Assay of Catalase and Peroxidase / B. Chance, A. C. Maehly // *Methods in Enzymology*. – 1955. – Vol. 2. – P. 764-775.
42. Agner, K. Detoxicating effect of verdoperoxidase on toxins / K. Agner // *Nature*. – 1947. – Vol. 159. – № 4034. – P. 271.
43. Scandolara, T. B. Neutrophil traps, anti-myeloperoxidase antibodies and cancer: Are they linked? / T. B. Scandolara, C. Panis // *Immunol Lett*. – 2020. – Vol. 221. – P. 33-38.
44. Active site structure and catalytic mechanisms of human peroxidases / P. G. Furtmüller, M. Zederbauer, W. Jantschko [et al.] // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 2006. – Vol. 445. – № 2. – P. 199-213.
45. Leveraging Structured Biological Knowledge for Counterfactual Inference: A Case Study of Viral Pathogenesis / J. Zucker, K. Paneri, S. Mohammad-Taheri [et al.] // *IEEE Transactions on Big Data*. – 2021. – Vol. 7. – № 1. – P. 25-37.
46. Nauseef, W. M. Biosynthesis of human myeloperoxidase / W. M. Nauseef // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 2018. – Vol. 642. – P. 1-9.
47. Асланова, З.Д. Клиническое значение определения нейтрофильных внеклеточных ловушек и антифосфолипидных антител у женщин с онкогинекологическими заболеваниями : специальности 3.1.4. «Акушерство и гинекология» ; 3.1.6. «Онкология, лучевая терапия» : диссертация ... кандидата медицинских наук / Асланова Замиля Джамалидиновна; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2024. – 147 с.
48. Fliesler, N. New research NETs a fresh angle for treating severe inflammation / N. Fliesler. – URL: <https://answers.childrenshospital.org/neutrophil-extracellular-traps/>.
49. Pattison, D. I. Reactions of myeloperoxidase-derived oxidants with biological substrates: gaining chemical insight into human inflammatory diseases / D. I. Pattison, M. J. Davies // *Current medicinal chemistry*. – 2006. – Vol. 13. – №. 27. – P. 3271-3290.
50. Маркеры нейтрофильных внеклеточных ловушек как индикаторы тяжести вульвовагинальной атрофии после противоопухолевой терапии / А. Г. Солопова, О. С. Гридасова, Д. Х. Хизроева [и др.] // *Фармакоэкономика. Современная*

- фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2025. – Т. 18. – № 4. – С. 550-559.
– DOI: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2025.350.
51. Anand, U. Myeloperoxidase: a new twist to an old tale / U. Anand, C. V. Anand // Indian Journal of Clinical Biochemistry. – 2012. – Vol. 27. – P. 107-109.
 52. Aratani, Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function / Y. Aratani // Archives of biochemistry and biophysics. – 2018. – Vol. 640. – P. 47-52.
 53. Myeloperoxidase stimulates neutrophil degranulation / D. V. Grigorieva, I. V. Gorudko, A. V. Sokolov [et al.] // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2016. – Vol. 161. – P. 495-500.
 54. Khan, A. A. Myeloperoxidase as an active disease biomarker: recent biochemical and pathological perspectives / A. A. Khan, M. A. Alsahli, A. H. Rahmani // Medical sciences. – 2018. – Vol. 6. – № 2. – P. 33.
 55. Korkmaz, B. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: physicochemical properties, activity and physiopathological functions / B. Korkmaz, T. Moreau, F. Gauthier // Biochimie. – 2008. – Vol. 90. – № 2. – P. 227-242.
 56. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps / V. Papayannopoulos, K. D. Metzler, A. Hakkim [et al.] // J Cell Biol. – 2010. – Vol. 1. – № 191. – P. 677-691.
 57. Cathepsin G and Its Role in Inflammation and Autoimmune Diseases / S. Gao, H. Zhu, X. Zuo [et al.] // Arch Rheumatol. – 2018. – Vol. 33. – № 4. – P. 498-504.
 58. Crandall, T. L. Estrogens and hematopoiesis: characterization and studies on the mechanism of neutropenia / T. L. Crandall, R. A. Joyce, D. R. Boggs // J Lab Clin Med. – 1980. – Vol. 95. – № 6. – P. 857-867.
 59. Dietsch, V. Induction of granulocytic differentiation in myeloblasts by 17-beta-estradiol involves the leukotriene D4 receptor / V. Dietsch, G. F. Kalf, B. A. Hazel // Receptors & Signal Transduction. – 1996. – Vol. 6. – № 2. – P. 63-75.
 60. Estrogen modulates inflammatory mediator expression and neutrophil chemotaxis in injured arteries / A. P. Miller, W. Feng, D. Xing [et al.] // Circulation. – 2004. – Vol. 110. – № 12. – P. 1664-1669.

61. 17beta-estradiol protects females against influenza by recruiting neutrophils and increasing virus-specific CD8 T cell responses in the lungs / D. P. Robinson, O. J. Hall, T. L. Nilles [et al.] // *J Virol.* – 2014. – Vol. 88. – № 9. – P. 4711-4720.
62. Expression of estrogen receptor subtypes and neuronal nitric oxide synthase in neutrophils from women and men: regulation by estrogen / L. Molero, M. García-Durán, J. Diaz-Recasens [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2002. – Vol. 56. – № 1. – P. 43-51.
63. Клиническое значение определения внеклеточных ловушек нейтрофилов у женщин с онкогинекологическими заболеваниями / З. Д. Асланова, Д. Х. Хизроева, А. Г. Солопова [и др.] // *Акушерство, гинекология и репродукция.* – 2023. – Т. 17. – № 6. – С. 751-768. – DOI:10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.447.
64. Катепсин G у пациентов с вирусным SARS-COV-2-поражением лёгких в Республике Крым / И. А. Яцков, В. А. Белоглазов, А. П. Николаева [и др.] // *Таврический медико-биологический вестник.* – 2021. – Т. 24. – № 3. – С. 49-57.
65. Bain, B. J. Variations in leucocyte count during menstrual cycle / B. J. Bain, J. M. England // *Cardiovasc Res.* – 1975. – Vol. 2. – № 5969. – P. 473-475.
66. Роль нейтрофильных внеклеточных ловушек в онкогенезе / М. Маратқызы, А. Е. Косыбаева, Н. А. Кабилдина [и др.] // *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan.* – 2019. – Т. 1. – № 51. – С. 16-20. – DOI:10.23950/1812-2892-JCMK-00664.
67. Difference in Leukocyte Composition between Women before and after Menopausal Age, and Distinct Sexual Dimorphism / Y. Chen, Y. Zhang, G. Zhao [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11. – № 9. – P. e0162953.
68. Shaw, A. C. Age-dependent dysregulation of innate immunity / A. C. Shaw, D. R. Goldstein, R. R. Montgomery // *Nat Rev Immunol.* – 2013. – Vol. 13. – № 12. – P. 875-887.
69. Female hormones reduce neutrophil responsiveness in vitro / J. R. Buyon, H. M. Korchak, L. E. Rutherford [et al.] // *Arthritis & Rheumatism.* – 1984. – Vol. 27. – № 1. – P. 623-630.

70. Belfield, K. D. Multiphoton angiogenesis and tumor biomarker imaging / K. D. Belfield // 2011 IEEE 61st Electronic Components and Technology Conference (ECTC), Lake Buena Vista, FL. – USA, 2011. – P. 1314-1318.
71. Оценка уровня фактора роста эндотелия сосудов в крови пациенток с вульвовагинальной атрофией / О. С. Гридасова, Д. Х. Хизроева, А. Г. Солопова [и др.] // Акушерство, Гинекология и Репродукция. – 2025. – Т. 19. – № 5. – С. 727-736. – DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2025.684.
72. Chiang, K. Estrogen, neutrophils and oxidation / K. Chiang, S. Parthasarathy, N. Santanam // Life Sci. – 2004. – Vol. 75. – № 20. – P. 2425-2438.
73. Роль компонентов C3 и C4 системы комплемента при вульвовагинальной атрофии в постменопаузе с различным клиническим анамнезом / О. С. Гридасова, А. Г. Солопова, Д. Х. Хизроева [и др.] // Акушерство, Гинекология и Репродукция. – 2025. – Т. 19. – № 6. – С. 849-859. – DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2025.708.
74. Jansson, G. Oestrogen-Induced Enhancement of Myeloperoxidase Activity in Human Polymorphonuclear Leukocytes-A Possible Cause of Oxidative Stress in Inflammatory Cells / G. Jansson // Free Radical Research Communications. – 1991. – Vol. 14. – № 3. – P. 195-208.
75. 17 β -Estradiol Dysregulates Innate Immune Responses to *Pseudomonas aeruginosa* Respiratory Infection and Is Modulated by Estrogen Receptor Antagonism / S. Abid, S. Xie, M. Bose [et al.] // Infect Immun. – 2017. – Vol. 85. – № 10. – P. e00422-17.
76. Multimodal Regulation of NET Formation in Pregnancy: Progesterone Antagonizes the Pro-NETotic Effect of Estrogen and G-CSF / S. Giaglis, M. Stoikou, C. Sur Chowdhury [et al.] // Front Immunol. – 2016. – Vol. 5. – № 7. – P. 565.
77. Reproductive endocrinology of vitamin D / M. Lorenzen, I. M. Boisen, L. J. Mortensen [et al.] // Mol Cell Endocrinol. – 2017. – № 453. – P. 103-112.
78. Effect of Vitamin D Supplement on Vulvovaginal Atrophy of the Menopause / T. Kamronrithisorn, J. Manonai, S. A. Vallibhakara [et al.] // Nutrients. – 2020. – Vol. 12. – № 9. – P. 2876.

79. Vitamin D Proliferates Vaginal Epithelium through RhoA Expression in Postmenopausal Atrophic Vagina tissue / A. Lee, M. R. Lee, H. H. Lee [et al.] // *Mol Cells*. – 2017. – Vol. 40. – № 9. – P. 677-684.
80. Ezrin is a key element in the human vagina. *Maturitas* / A. Fadiel, H. H. Lee, N. Demir [et al.] // *Maturitas*. – 2008. – Vol. 60. – № 1. – P. 31-41.
81. 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes / D. M. Provvedini, C. D. Tsoukas, L. J. Deftos [et al.] // *Science*. – 1983. – Vol. 221. – № 4616. – P. 1181-1183.
82. Associations of vaginal microbiota with the onset, severity, and type of symptoms of genitourinary syndrome of menopause in women / Q. Zeng, H. Shu, H. Pan [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 1402389.
83. The prevalence and determinants of genitourinary syndrome of menopause in Chinese mid-life women: a single-center study / L. Geng, Y. Zheng, Y. Zhou [et al.] // *Climacteric*. – 2018. – Vol. 21. – № 1. – P. 478-482.
84. Association of vaginal microbiota with signs and symptoms of the genitourinary syndrome of menopause across reproductive stages / M. Shardell, P. E. Gravitt, A. E. Burke [et al.] // *J. Gerontol A Biol. Sci. Med. Sci*. – 2021. – Vol. 76. – № 1. – P. 1542-1550.
85. Association between the vaginal microbiota, menopause status, and signs of vulvovaginal atrophy / R. M. Brotman, M. D. Shardell, P. Gajer [et al.] // *Menopause*. – 2014. – Vol. 21. – № 1. – P. 450-458.
86. Changes in the Vaginal Microbiome and Associated Toxicities Following Radiation Therapy for Gynecologic Cancers / D. Tsementzi, R. Meador, T. Eng [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2021. – Vol. 27. – № 11. – P. 680038.
87. The effects of various therapies on vulvovaginal atrophy and quality of life in gynecological cancer patients: a systematic review / A. G. Medeiros, M. M. M. Cintra, M. A. Dos Reis [et al.] // *Arch Gynecol Obstet*. – 2024. – Vol. 310. – № 2. – P. 631-641.
88. Narutyte, R. Vulvovaginal Atrophy Following Treatment for Oncogynecologic Pathologies: Etiology, Epidemiology, Diagnosis, and Treatment Options / R. Narutyte, G. Žukienė, D. Bartkevičienė // *Medicina (Kaunas)*. – 2024. – Vol. 60. – № 10. – P. 1584.

89. Radiotherapy-induced vaginal fibrosis in cervical cancer survivors / A. Hofsjö, N. Bohm-Starke, B. Blomgren [et al.] // *Acta Oncol.* – 2017. – Vol. 56. – № 5. – P. 661-666.
90. Vaginal stenosis in women with cervical or endometrial cancer after pelvic radiotherapy: a cross-sectional study of vaginal measurements, risk for sexual dysfunction and quality of life / T. de Moraes Siqueira, S. Derchain, C. R. T. Juliato [et al.] // *Int Urogynecol J.* – 2022. – Vol. 33. – № 3. – P. 637-649.
91. Vulvovaginal atrophy in women with and without a history of breast cancer: Baseline data from the PatiEnt satisfactiON studY (PEONY) in Italy / M. C. Meriggiola, P. Villa, S. Maffei [et al.] // *Maturitas.* – 2024. – Vol. 183. – P. 107950. – DOI:10.1016/j.maturitas.2024.107950.
92. Sexual dysfunction in women on adjuvant endocrine therapy after breast cancer / J. Baumgart, K. Nilsson, A. S. Evers [et al.] // *Menopause.* – 2013. – Vol. 20. – № 2. – P. 162-168.
93. Adjuvant Tamoxifen Plus Ovarian Function Suppression Versus Tamoxifen Alone in Premenopausal Women With Early Breast Cancer: Patient-Reported Outcomes in the Suppression of Ovarian Function Trial / K. Ribí, W. Luo, J. Bernhard [et al.] // *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology.* – 2016. – Vol. 34. – № 14. – P. 1601-1610. – DOI: 10.1200/JCO.2015.64.8675.
94. Vaginal Atrophy in Breast Cancer Survivors: Attitude and Approaches Among Oncologists / N. Biglia, V. E. Bounous, M. D'Alonzo [et al.] // *Clin Breast Cancer.* – 2017. – Vol. 17. – № 8. – P. 611-617.
95. Ovarian conservation at the time of hysterectomy for benign disease / W. H. Parker, M. S. Broder, Z. Liu [et al.] // *Clin Obstet Gynecol.* – 2007. – Vol. 50. – № 2. – P. 354-361.
96. Surgically Induced Menopause—A Practical Review of Literature / C. Secoşan, O. Balint, L. Pirtea [et al.] // *Medicina.* – 2019. – Vol. 55. – № 8. – P. 482.
97. Влияние реабилитации на психоэмоциональное состояние женщин с хирургическим лечением рака вульвы: рандомизированное контролируемое исследование / Д. В. Блинов, А. Г. Солопова, О. С. Гридасова [и др.] // *Вестник*

восстановительной медицины. – 2024. – Т. 23. – № 5. – С. 52-60. – DOI: 10.38025/2078-1962-2024-23-5-52-60.

98. Влияние реабилитации на уровень дистресса при хирургическом лечении рака шейки матки: сравнительное рандомизированное исследование / Д. В. Блинов, А. Г. Солопова, О. С. Гридасова [и др.] // Вестник восстановительной медицины. – 2025. – Т. 24. – № 1. – С. 120-127. – DOI: 10.38025/2078-1962-2025-24-1-120-127.

99. Rocca, W. A. Oophorectomy, estrogen, and dementia: a 2014 update / W. A. Rocca, B. R. Grossardt, L. T. Shuster // *Mol Cell Endocrinol.* – 2014. – Vol. 389. – № 1-2. – P. 7-12.

100. Rosner, B. Age at menopause: imputing age at menopause for women with a hysterectomy with application to risk of postmenopausal breast cancer / B. Rosner, G. A. Colditz // *Ann Epidemiol.* – 2011. – Vol. 21. – № 6. – P. 450-460.

101. Фоновые и предраковые заболевания вульвы и влагалища: современные представления, диагностика, лечение и реабилитация / А. Г. Солопова, А. В. Воробьев, О. С. Гридасова [и др.] // *Врач.* – 2025. – Т. 36. – № 7. – С. 5-13. – DOI: 10.29296/25877305-2025-07-01.

102. Age at menopause, cause-specific mortality and total life expectancy / M. E. Ossewaarde, M. L. Bots, A. L. Verbeek [et al.] // *Epidemiology.* – 2005. – Vol. 16. – № 4. – P. 556-562.

103. Survival patterns after oophorectomy in premenopausal women: a population-based cohort study / W. A. Rocca, B. R. Grossardt, M. de Andrade [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2006. – Vol. 7. – № 10. – P. 821-828.

104. Современные подходы к лечению вульвовагинальной атрофии у женщин с гинекологическим раком и раком молочных желез / О. С. Гридасова, А. Г. Солопова, Е. И. Румянцева [и др.] // *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* – 2025. – Т. 18. – № 2. – С. 284-293. DOI: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2025.314.

105. Pillay O. C. The surgical menopause / O. C Pillay, I. Manyonda // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2022. – Vol. 81. – P. 111-118.

106. Ампилогова, Д. М. Качество жизни и комплексная реабилитация пациенток с вульвовагинальной атрофией : специальность 3.1.4. «Акушерство и гинекология» : диссертация ... кандидата медицинских наук / Ампилогова Диана Михайловна; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2024. – 143 с.
107. Блинов, Д. В. Оптимизация ведения пациенток с радикальным хирургическим лечением ранних стадий онкогинекологических заболеваний : специальности 3.1.4. «Акушерство и гинекология» ; 3.1.33. «Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия, медико-социальная реабилитация» : диссертация ... доктора медицинских наук / Блинов Дмитрий Владиславович; Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2025. – 460 с.
108. Ген Транскрипционного фактора-7 у больных метаболическим синдромом на Северном Кавказе / С. К. Аликова, Н. М. Бурдули, Л. Г. Ранюк [и др.] // Новые технологии в рекреации здоровья населения : Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции, Владикавказ, 23–25 октября 2025 года. – Владикавказ: ИП Цопанова А.Ю., 2025. – С. 11-25.
109. Суплотова, Л. А. Влияние дистанционного мониторинга самоконтроля гликемии на углеводный обмен и качество жизни пациентов с сахарным диабетом 1 типа / Л. А. Суплотова, О. О. Алиева, Л. И. Ибрагимова // Проблемы эндокринологии. – 2025. – Т. 71. – № 1. – С. 40-49. – DOI:10.14341/probl1353.
110. Complement is a central mediator of radiotherapy-induced tumor-specific immunity and clinical response / L. Surace, V. Lysenko, A. O. Fontana [et al.] // Immunity. – 2015. – Vol. 42. – № 4. – P. 767-777. – DOI: 10.1016/j.immuni.2015.03.009.
111. Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases / M. Michaud, L. Balardy, G. Moulis [et al.] // J Am Med Dir Assoc. – 2013. – Vol. 14. – № 12. – P. 877-882. – DOI: 10.1016/j.jamda.2013.05.009.

112. Page, M. J. The inflammatory effects of TNF- α and complement component 3 on coagulation / M. J. Page, J. Bester, E. Pretorius // *Sci Rep.* – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 1812. – DOI: 10.1038/s41598-018-20220-8.
113. Repurposing Historic Drugs for Neutrophil-Mediated Inflammation in Skin Disorders / L. Franceschin, A. Guidotti, R. Mazzetto [et al.] // *Biomolecules.* – 2024. – Vol. 14. – № 12. – P. 1515. – DOI: 10.3390/biom14121515.
114. Mowery, Y. M. NETosis Impact on Tumor Biology, Radiation, and Systemic Therapy Resistance / Y. M. Mowery, J. J. Luke // *Clin Cancer Res.* – 2024. – Vol. 30. – № 18. – P. 3965-3967. – DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-24-1363.
115. ONO-5046 suppresses reactive oxidative species-associated formation of neutrophil extracellular traps / W. Yao, J. Chen, S. Wu [et al.] // *Life Sci.* – 2018. – Vol. 210. – P. 243-250. – DOI: 10.1016/j.lfs.2018.09.008.
116. Yadav, R. DNase based therapeutic approaches for the treatment of NETosis related inflammatory diseases / R. Yadav, A. Momin, C. Godugu // *Int Immunopharmacol.* – 2023. – Vol. 124(Pt A). – P. 110846. – DOI: 10.1016/j.intimp.2023.110846.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Расширенная характеристика преаналитической обработки образцов для определения маркеров ВНЛ (ИФА-метод)

Биомаркер	Биоматериал	Тип пробирки	Цвет крышки	Объём крови	Время до центрифугирования	Тип центрифуги	Условия центрифугирования	Объём аликвоты	Условия хранения	Дополнительные требования (по инструкции)
МПО (миелопероксидаза)	Плазма	Гепарин	Зелёная	5–8 мл	≤ 20 мин	Охлаждённая центрифуга	1500 g, 15 мин, +4 °С; повторно 1500 g, 15 мин, +4 °С	0,3–0,5 мл	–20 °С (допустимо), –70/–80 °С предпочтительно	Обязательное охлаждение на всех этапах; двукратная центрифугировка; исключить сыворотку; исключить гемолиз; не допускать повторных freeze–thaw
ЦГНЗ (цитруллинированный гистон НЗ)	Плазма или сыворотка	Цитрат / Сыворотка	Голубая / жёлтая	5–8 мл	≤ 30–60 мин	Охлаждённая центрифуга	1500–2000 g, 10–15 мин, +4 °С	0,3–0,5 мл	–20 °С (допустимо), –80 °С предпочтительно	Обязательное охлаждение; минимальное разведение ≥1:2; избегать ЭДТА и гепарина (возможная интерференция)
Катепсин G	Плазма или сыворотка	Цитрат / Сыворотка	Голубая / жёлтая	5–8 мл	≤ 60 мин	Охлаждённая центрифуга	3000 g, 10 мин, +4 °С	0,3–0,5 мл	–20 °С (до 3 мес), –80 °С	Охлаждение предпочтительно; исключить повторные циклы замораживания–размораживания; допустимы ЭДТА/гепарин

Таблица А.2 – Расширенная характеристика преаналитической обработки образцов для определения компонентов системы комплемента

Биомаркер	Биоматериал	Тип пробирки	Цвет крышки/ Объём крови	Время до центрифугиро вания	Тип центрифуги/ Условия центрифугир ования	Объём аликвоты/ Условия хранения	Дополнительны е требования
C1q	Сыворотка	Сывороточная (без антикоагулянта)	Жёлтая / красная/ 5–8 мл	≤ 60 мин (после свертывания)	Охлаждённая/ 1500–2000 g, 10–15 мин, +4 °C	0,3–0,5 мл/ –70/–80 °C (длительное хранение)	ЭДТА не использовать; исключить гемолиз; обязательное аликвотирование; исключить повторные freeze–thaw
C3	Сыворотка	Сывороточная (без антикоагулянта)	Жёлтая / красная/ 5–8 мл	≤ 60 мин (после свертывания)	Стандартная / охлаждённая/ 1500–2000 g, 10–15 мин	0,3–0,5 мл/ –80 °C	ЭДТА не использовать; хранение в аликвотах; исключить повторные freeze–thaw
C4	Сыворотка	Сывороточная (без антикоагулянта)	Жёлтая / красная/ 5–8 мл	≤ 60 мин (после свертывания)	Стандартная / охлаждённая/ 1500–2000 g, 10–15 мин	0,3–0,5 мл/ –80 °C	ЭДТА не использовать; хранение в аликвотах; исключить повторные freeze–thaw

Таблица А.3 – Расширенная характеристика преаналитической обработки образцов для определения компонентов воспаления (ФНО альфа)

Биомаркер	Биоматериал	Тип пробирки	Цвет крышки/ Объём крови	Время до центрифуги рования	Тип центрифуги/ Условия центрифугир ования	Объём аликвоты/ Условия хранения	Дополнительные требования
ФНО-α	Сыворотка / плазма	Сывороточная / ЭДТА	Жёлтая / красная / фиолетовая /5– 8 мл	≤ 60 мин	Охлаждённая/ 1500–2000 g, 10–15 мин, +4 °C	0,3–0,5 мл/ ≤ –20 °C (допустимо , –80 °C	Единая матрица для всех групп; рекомендованное разведение 1:2; исключить гемолиз; исключить повторные freeze–thaw

Таблица А.4 – Расширенная характеристика преаналитической обработки образцов для определения сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР)

Биома ркер	Биомате риал	Тип пробирки	Цвет крыш ки	Объём крови	Время до центрифугиро вания	Тип центрифу ги	Условия центрифугиров ания	Объём аликво ты	Услови я хране ния	Дополнительн ые требования	Метод
СЭФР	Сыворотк а	Сывороточ ная	Жёлта я / красна я	5–8 мл	≤ 60 мин (после свертывания)	Охлаждён ная	1500–2000 g, 10–15 мин, +4 °C	0,3–0,5 мл	≤ –20 °C (допуст имо), –80 °C	Использование единой матрицы (сыворотка) для всех групп; исключить гемолиз; исключить повторные freeze–thaw	ELISA (Quantiki ne, DVE00)