

На правах рукописи

ДУРНЕВА ЕЛЕНА ИГОРЕВНА

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОЙ
ЦИТОКИНОТЕРАПИИ В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ
БОЛЬНЫХ НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ**

3.1.4. – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении "Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научные руководители:

профессор РАН, доктор медицинских наук,
профессор

Ярмолинская Мария Игоревна

доктор биологических наук, доцент

Соколов Дмитрий Игоревич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова»
МЗ РФ, директор

Малышкина Анна Ивановна

з.д.н. РФ, доктор медицинских наук,
профессор, академик РАЕН,
ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им.Н.И. Пирогова»
МЗ РФ, заведующий кафедры женских болезней и репродуктивного здоровья Института усовершенствования врачей

Кира Евгений Федорович

Ведущая организация: ГБУЗ Московской области "Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии"

Защита диссертации состоится " ____ " _____ 2021 г. в ____ - ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.171.01 при ФГБНУ "Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта" (199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, дом 3).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ "Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта" и на сайте: https://ott.ru/files/news/pg/2021_durneva/dissertatsiia_durneva.pdf

Автореферат разослан " ____ " _____ 2021 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета
доктор медицинских наук

Русина Елена Ивановна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования и степень разработанности темы. Эндометриоз – это одно из наиболее распространенных гинекологических заболеваний, основными клиническими проявлениями которого являются хроническая тазовая боль, дисменорея, диспареуния, бесплодие и дисфункция тазовых органов, что достоверно ухудшает качество жизни пациенток, оказывая негативное влияние на социальную и семейную сферы [С. Charpon и соавт, 2019]. К факторам, обеспечивающим выживание, имплантацию и пролиферацию клеток эндометрия, относят гормоны, факторы роста, цитокины и простагландины, клетки иммунной системы и эндотелиальные клетки сосудов [L.K. Symons и соавт, 2018]. Снижение активности цитотоксических Т-клеток и NK-клеток, изменение секреции цитокинов Т-хелперами играют существенную роль в развитии и прогрессировании заболевания [L. Ricció и соавт, 2018].

Лечение наружного генитального эндометриоза (НГЭ) включает комбинацию хирургического этапа и медикаментозной терапии. В настоящий момент накоплено достаточно доказательств того, что оперативное вмешательство и гормональная терапия не всегда сопровождаются эффективным устранением клинических симптомов заболевания, при этом риск рецидивов остается достаточно высоким [F. Barra и соавт., 2019, M. Wang и соавт, 2013]. Поэтому, учитывая вовлеченность клеток иммунной системы в патогенез заболевания, а также недостаточный эффект от стандартных способов терапии эндометриоза, включение в комплексное лечение таргетных иммуномодулирующих препаратов представляется актуальным.

К молекулам межклеточных взаимодействий, играющим важную роль в патогенезе данного заболевания, относят интерфероны (IFN), основными функциями которых являются модуляция работы клеток иммунной системы, регуляция апоптоза и ангиогенеза [A. Dicitore и соавт, 2018]. Ранее установлена эффективность человеческого IFN альфа в лечении экспериментального эндометриоза у крыс, а также изучено его влияние в различных концентрациях на рост линий клеток эндометриомы *in vitro* [J.M. Ingelmo и соавт, 2013, P.B. Павлов и соавт, 2006, S.Z. Badawy и соавт, 2001]. Однако только в нескольких клинических исследованиях была оценена потенциальная роль IFN α -2b в терапии женщин с эндометриозом и полученные результаты носили противоречивый характер [A.F.M. Ali и соавт, 2000, P. Asien и соавт, 2002].

Полагают, что выживание и рост эндометриоидных гетеротопий в брюшной полости обусловлены нарушением их распознавания и элиминации локальными компонентами иммунной системы, такими как макрофаги и NK-клетки [U. Thiruchelvam и соавт, 2015]. Известно, что положительным стимулирующим эффектом на цитотоксическую активность NK-клеток обладает рекомбинантный человеческий интерлейкин-2 (IL-2), который продемонстрировал свою эффективность в экспериментальной модели на животных при интраперитонеальном введении, а также при применении у женщин с различными формами эндометриоза, увеличивая как цитотоксическую активность NK-клеток, так и уменьшая размеры эндометриоидных очагов [I. Velasco и соавт, 2007, P. Asien и соавт, 2010, Сельков С.А и соавт, 2017].

До настоящего времени не проводилась сравнительная оценка как клинической, так и патогенетической эффективности применения рекомбинантных IFN α -2b и IL-2 в комплексной терапии НГЭ, а также недостаточно данных о влиянии препаратов на частоту наступления беременности у пациенток с эндометриозом и возникновение рецидивов заболевания, что требует дальнейшего изучения.

За последние 30 лет было определено множество маркеров, связанных с заболеванием, однако, ни один из них не оказался высокочувствительным и специфичным для рутинного применения в клинической диагностике [S.H. Ahn и соавт, 2017]. По-прежнему остается актуальным поиск новых маркеров, которые помогут в ранней неинвазивной диагностике заболевания.

Одним из новых направлений становится изучение феномена образования микровезикул (МВ) эукариотическими клетками и их участие в межклеточных взаимодействиях. Микровезикулы выполняют функцию транспортеров биологически активных молекул между клетками, наряду с участием в регуляции различных процессов, в частности воспаления, гемокоагуляции, сосудистых реакций, апоптоза и клеточной пролиферации [Т.Н. Lee и соавт, 2011]. Эндометриоз характеризуется хронической воспалительной реакцией, при развитии которой возможно образование микровезикул лейкоцитами. Исследование состава микровезикул периферической крови у больных эндометриозом, а также на фоне заместительной цитокинотерапии, представляется актуальным для понимания патогенеза заболевания и разработки новых подходов к диагностике, как самой патологии, так и для мониторинга эффективности

лечения и прогнозирования риска возможных рецидивов.

Цель исследования: изучить роль цитокинов и субпопуляционного состава лимфоцитов, а также фенотипа микровезикул лейкоцитарного происхождения в патогенезе наружного генитального эндометриоза и разработать схемы патогенетически обоснованной цитокинотерапии.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать клиническое течение перитонеальных форм наружного генитального эндометриоза I-II степени согласно классификации r-ASRM.

2. Оценить субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови (ПК) и содержание цитокинов (IL-8, TNF α , MCP-1, IP-10, RANTES) в перитонеальной жидкости (ПЖ) и в ПК у больных НГЭ.

3. Изучить изменения субпопуляционного состава лимфоцитов и цитотоксического потенциала (ЦП) NK-клеток на основании экспрессии CD107a, а также содержание цитокинов (IL-8, TNF α , MCP-1, IP-10, RANTES) в ПК женщин с НГЭ I-II степени до и на фоне лечения рекомбинантным IFN α -2b.

4. Определить эффективность применения рекомбинантного IL-2 в составе комбинированной терапии эндометриоза на основании изменений субпопуляционного состава лимфоцитов и ЦП NK-клеток, а также содержание цитокинов (IL-8, TNF α , MCP-1, IP-10, RANTES) в ПК пациенток с НГЭ I-II степени распространенности.

5. Проанализировать влияние интерферозаместительной терапии и рекомбинантного интерлейкина-2 на клиническое течение НГЭ. Сравнить эффективность применения различных схем иммуномодулирующей терапии в составе комплексного лечения по отношению к стандартной гормональной терапии аГнРГ.

6. Оценить возможность использования микровезикул лейкоцитарного происхождения в ПК в качестве маркеров неинвазивной диагностики перитонеальных форм НГЭ I-II степени.

7. Изучить содержание и фенотип микровезикул лейкоцитарного происхождения в ПК женщин НГЭ I-II степени до и после лечения рекомбинантными IFN α -2b и IL-2.

Научная новизна и теоретическая значимость. Впервые оценено влияние рекомбинантного IFN α -2b в составе комплексной терапии пациенток с НГЭ

I-II степени на субпопуляционный состав лимфоцитов и содержание цитокинов в ПК. Впервые установлено, что применение $IFN\alpha-2b$ у больных НГЭ сопровождалось повышением общего числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических и В-лимфоцитов, а также снижением содержания RANTES и $TNF\alpha$ в ПК по сравнению с применением стандартной гормономодулирующей терапии аГнРГ.

Показано, что применение рекомбинантного интерлейкина-2 в комплексной терапии НГЭ I-II степени приводит к повышению количества НК-клеток, а также их способности реагировать активацией на действие стандартного индуктора в ПК по сравнению с монотерапией аГнРГ. Впервые продемонстрировано, что применение рекомбинантного IL-2 сопровождалось более выраженным снижением количества хемокина RANTES в ПК, а также более высокой клинической эффективностью по сравнению с монотерапией аГнРГ.

Впервые выявлен феномен образования микровезикул лейкоцитарного происхождения в ПК пациенток с НГЭ I-II степени, а также определены их фенотипы и количество. Установлено, что для пациенток с перитонеальным эндометриозом характерно повышение содержания МВ, экспрессирующих поверхностные маркеры CD14+ и CD16+, а также комбинацию антигенов CD54+CD14+ на своей поверхности. У пациенток с перитонеальным эндометриозом I-II степени впервые было выявлено снижение содержания в ПК МВ с фенотипом CD45+CD4+, CD3+CD4+, CD3+CD8+.

Практическое значение исследования. Доказана более высокая клиническая эффективность применения рекомбинантных $IFN\alpha-2b$ и IL-2 в составе комбинированной терапии у больных НГЭ I-II степени по сравнению с терапией только аГнРГ на основании снижения интенсивности болевого синдрома и частоты рецидивирования заболевания, а также повышения частоты наступления беременности. Полученные данные обосновывают целесообразность включения в комплексную терапию заболевания патогенетически обоснованной иммуномодулирующей терапии.

Впервые разработаны критерии назначения иммуномодулирующих препаратов для терапии НГЭ на основании субпопуляционного состава лимфоцитов, содержания НК-клеток и их способности к активации в ПК.

Впервые определено, что пациенткам с НГЭ I-II степени с выраженным болевым синдромом и бесплодием, у которых при анализе субпопуляционного состава

лимфоцитов ПК имеется снижение содержания Т-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических и В-лимфоцитов, рекомендована иммуномодулирующая терапия рекомбинантным IFN α -2b в комбинации со стандартной терапией аГнРГ.

Впервые установлено, что при наличии у больных НГЭ I-II степени выраженного болевого синдрома и бесплодия, а также преимущественно нарушений в клеточном звене иммунитета (сниженное число NK-клеток и их способность к активации в ПК), целесообразно назначать цитокинотерапию рекомбинантным IL-2 в дополнение к гормонотерапии аГнРГ.

Впервые определено, что МВ с фенотипом CD54+CD14+ могут рассматриваться в качестве неинвазивного маркера для диагностики НГЭ с чувствительностью 80,5% и специфичностью 71%.

Впервые показана эффективность применения IFN α -2b в комплексной терапии НГЭ (на основании снижения в ПК интенсивности экспрессии CD14+ на поверхности МВ в ПК) и IL-2 (за счет повышения количества МВ с фенотипом CD3+CD8+ в ПК) при сравнении с терапией только аГнРГ. Использование только гормонотерапевтического препарата (аГнРГ) сопровождалось повышением в ПК интенсивности экспрессии CD14+ на поверхности МВ, отсутствием изменения МВ с поверхностными маркерами CD3+CD8+ и увеличением относительного количества МВ с фенотипами CD45+CD14+, CD45+CD56+, CD45+CD16+, CD56+CD14+, CD54+CD56+, CD54+CD14+.

Методология и методы исследования: выполнено проспективное когортное исследование с использованием системного подхода к анализу полученных данных, в котором приняли участие пациентки с НГЭ I-II степени с выраженным болевым синдромом и бесплодием, а также здоровые женщины репродуктивного возраста. В работе использованы клинико-anamnestический, эндоскопический, гистологический, иммунологический методы исследования. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA v 10.0 for Windows» (StatSoft Inc., США).

Научная работа выполнена в рамках поискового научного исследования по теме «Разработка схем и патогенетическое обоснование применения иммуномодулирующей терапии у пациенток с различными формами генитального эндометриоза на

различных этапах лечения» (№ гос.рег. темы: АААА-А20-120041390031-0), а также в рамках фундаментального научного исследования по теме «Разработка стратегий диагностики, терапии генитального эндометриоза и опухолей женского репродуктивного тракта» (№ гос.рег. темы: АААА-А19-119030490009-6).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Перитонеальный эндометриоз I-II степени, проявляющийся выраженным болевым синдромом и бесплодием (преимущественно первичным), характеризуется повышением в ПК числа НКТ-клеток, снижением способности НК-клеток к активации и увеличением содержания IL-8 и RANTES, а также повышением числа провоспалительных цитокинов (IL-8, TNF α , MCP-1, RANTES) и уменьшением количества IP-10 в ПЖ, что сопровождается нарушением процессов элиминации эндометриоидных гетеротопий, развитием и поддержанием хронической воспалительной реакции, как на локальном, так и на системном уровнях.

2. Применение рекомбинантных IFN α -2b и IL-2 в дополнение к стандартной терапии аГнРГ у больных с НГЭ повышает эффективность проводимого лечения, уменьшая выраженность болевого синдрома, увеличивая длительность безрецидивного периода и частоту наступления беременности.

3. Клиническая эффективность применения рекомбинантного IFN α -2b совместно с гормонотерапией аГнРГ подтверждена положительным иммуномодулирующим влиянием на субпопуляционный состав лимфоцитов (повышением количества Т- и В-лимфоцитов, а также цитотоксических лимфоцитов), сохранением способности НК-клеток к активации при снижении их количества, а также уменьшением выраженности воспалительной реакции за счет снижения содержания цитокинов RANTES и TNF α в ПК.

4. Включение рекомбинантного IL-2 в комплексную терапию НГЭ совместно с аГнРГ повышает эффективность лечения за счет увеличения количества НК-клеток и их способности реагировать активацией на добавление стандартного индуктора, а также за счет снижения выраженности воспалительного процесса и ангиогенеза, проявляющихся уменьшением количества RANTES и повышением содержания антиангиогенного хемокина IP-10 в ПК.

5. Содержание микровезикул, присущих моноцитам с фенотипом CD54+CD14+ в плазме крови пациенток с НГЭ I-II степени, равно 5,22% или превышающее данное значение, соответствует прогнозу наличия НГЭ с чувствительностью 80,5% и специфичностью 71%.

Внедрение результатов исследования в практику. Разработанные методы обследования и лечения внедрены и используются в практической работе научно-консультативного отделения, гинекологического отделения II, а также гинекологического отделения с операционным блоком ФГБНУ «НИИ АГиР им.Д.О.Отта», в практическую деятельность гинекологического отделения СПб ГБУЗ "Городская больница № 26" и СПб ГБУЗ "Городская больница № 40", а также в учебный процесс кафедры и клиники акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО "Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова" Минздрава России.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на 17 Всемирном конгрессе по гинекологической эндокринологии (ISGE 2016, Italy), на Всероссийской конференции «Междисциплинарные аспекты репродуктивной медицины» (Москва, 2019), на 27 Всемирном конгрессе «The 27 th world congress on controversies in obstetrics, gynecology and infertility» (Paris, 2019), на XIV Международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2019), на X-ой ежегодной научной конференции молодых ученых и специалистов «Репродуктивная медицина – взгляд молодых» (Санкт-Петербург, 2019), на II Общероссийской научно-практической онлайн-конференции «Оттовские чтения» (Санкт-Петербург, 2020), на научно-практической конференции с международным участием «Здоровье женщины, плода, новорожденного» (Санкт-Петербург, 2021), на научно-практической школе «Гиперпролиферативные заболевания органов репродуктивной системы» (Санкт-Петербург, 2021).

По теме исследовательской работы опубликовано 10 печатных работ, в том числе 4 – в ведущих рецензируемых научных изданиях, в том числе 3 статьи опубликованы в ведущих изданиях, рецензируемых в международной реферативной базе данных Scopus. Автор является победителем конкурса на право получения стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам (Номер стипендии СП-1900.2019.4). Подана заявка о выдаче патента на изобретение «Способ диаг-

ностики наружного генитального эндометриоза» рег. номер 2021109986 от 09.04.2021 / Ярмолинская М.И., Дурнева Е.И., Маркова К.М., Сельков С.А., Соколов Д.И.

Личный вклад автора в работу. Автором самостоятельно проведен подбор больных, включенных в исследование, и выполнено комплексное клиническое обследование: сбор анамнеза, объективный осмотр, ультразвуковое исследование, анализ результатов лабораторных данных, а также участие в качестве ассистента в проведении лапароскопических операций. Автор принимала непосредственное участие в сборе и оценке биоматериала методом ИФА на базе лаборатории клинической иммунологии с группой по диагностике СПИД и лаборатории межклеточных взаимодействий. Автором самостоятельно осуществлялся мониторинг пациенток, получавших иммуномодулирующую терапию, в течение 1,5 лет после проведенного оперативного вмешательства, проведена систематизация, статистическая обработка и анализ полученных данных, сформулированы выводы и предложен комплекс мероприятий, повышающий эффективность диагностики и лечения больных эндометриозом I-II степени распространенности.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста и содержит: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, клиническую характеристику групп обследованных пациенток, результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации. Библиографический указатель включает 268 источников литературы, из которых 24 отечественных и 244 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 25 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Проведено обследование 97 женщин с НГЭ I-II степени (по классификации r-ASRM (American Society for Reproductive Medicine)), находившихся на лечении в гинекологическом отделении с операционным блоком (зав. отделением – к.м.н., доц. А.А. Цыпурдеева) и гинекологическом отделении II ФГБНУ "НИИ АГиР имени Д.О. Отта" отдела гинекологии и эндокринологии (руководитель отдела – проф. РАН, д.м.н., проф. М.И. Ярмолинская) в период с 2015-2020 годы. Критериями включения в исследование явились: возраст 18-40 лет; впер-

вые верифицированный интраоперационно диагноз НГЭ I-II степени, подтвержденный результатами гистологического исследования; применение в качестве гормономодулирующей терапии аГнРГ в течение 6 месяцев; наличие эндометриоз-ассоциированного болевого синдрома; подписание добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Критерии исключения: декомпенсация хронических соматических заболеваний; острые инфекционные заболевания или обострение их хронических форм; миома матки; синдром поликистозных яичников; прием иммуномодулирующих и гормональных препаратов за 3 месяца до оперативного вмешательства по поводу эндометриоза; воспалительные заболевания органов малого таза в стадии обострения; аутоиммунные заболевания.

После сбора клинико-anamнестических данных, а также оценки выраженности болевого синдрома при помощи визуально-аналоговой шкалы боли (ВАШ), все пациентки с подозрением на эндометриоз были впервые подвергнуты лапароскопическому обследованию. На основании интраоперационного обследования пациентки с НГЭ I-II степени вошли в основную группу. Далее пациентки были разделены на следующие подгруппы:

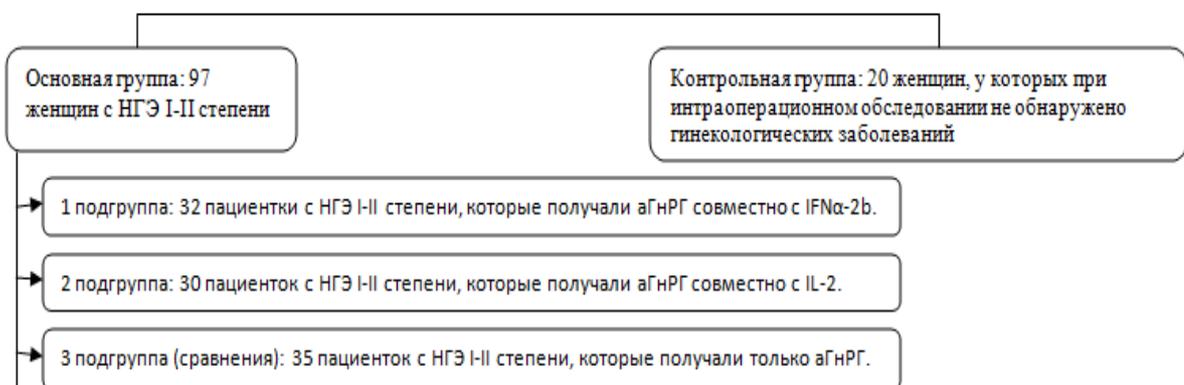


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Иммунологические исследования проводили в лаборатории клинической иммунологии «НИИ АГиР им.Д.О.Отта» (руководитель - д.м.н., з.д.н. РФ, проф. Сельков С.А.). Перед проведением оперативного вмешательства в ПК и в ПЖ определяли уровни цитокинов - IL-8, IP-10, TNF α , MCP-1, RANTES с помощью метода СВА (Cytometry Bead Analysis, BD, США) при помощи проточного цитофлуориметра FaCSCanto II (BD, США). Через 6 месяцев после проведенного лечения в ПК повтор-

но определяли количество вышеуказанных цитокинов.

Перед оперативным вмешательством и через 6 месяцев после проведенной терапии в ПК определяли субпопуляционный состав лимфоцитов CD3+(Т-лимфоциты), CD3+CD4+(Т-хелперы), CD3+CD8+(цитотоксические Т-лимфоциты), CD19+(В-лимфоциты), CD3+CD16+CD56+(NKT-клетки)), содержание NK-клеток(CD3-CD16+CD56+) и их способность к активации (спонтанно активированные NK-клетки (NKA-), индуцировано активированные NK-клетки (NKA+)), на проточном цитофлуориметре FacsCanto II (BD, США) при помощи стандартных наборов (BD, США).

Для выделения микровезикул использовали метод, описанный авторами Gelderman M. и Semak J. [M. Gelderman M и J. Semak, 2008]. Все растворы для работы с микровезикулами были заранее профильтрованы через ультрафильтр с диаметром пор 0,2 мкм (Corning, США). Полученный осадок МВ ресуспендировали в растворе Хенкса («БиолоТ» Россия), содержащего 0,35% сывороточного альбумина (Sigma, США) и гепарин натрия в концентрации 30 Ед/мл раствора, обрабатывали антителами к CD4, CD3, CD8, CD45, CD41a, CD14, CD54, CD16 и CD56 в соответствии с указаниями производителя. Проанализирована экспрессия указанных маркеров при помощи проточного цитофлуориметра BD FACS Canto II (BD, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика пациенток. На основании интраоперационного обследования пациенток основной группы НГЭ I степени отмечен у 43,3% (42) женщин, НГЭ II степени – у 56,7% (55) больных. Средний возраст наступления менархе у пациенток с НГЭ составил $12,4 \pm 1,4$ лет. Средняя продолжительность менструального цикла была $29,4 \pm 2,4$ дня. Регулярный менструальный цикл отмечали большинство 86,6% (84) пациенток. У 55,7% (24) женщин с НГЭ отмечены аномальные маточные кровотечения по типу межменструальных мажущих кровянистых выделений (до начала менструаций – у 50% (24) женщин, после - у 22,2% (12), до и после - у 33,3% (18) пациенток). Болевой синдром (альгодисменорея, тазовая боль и диспареуния) отмечался у всех пациенток основной группы. До начала терапии жалобы на хроническую тазовую боль были отмечены у 90,7% (88), альгодисменорея встречалась у 93,8% (91), диспареуния наблюдалась у 70,1% (68) пациенток с эндо-

метриозом. Выраженность тазовой боли у пациенток с НГЭ I-II степени по данным ВАШ составила $7,6 \pm 0,3$ балла, альгодисменореи - $8,2 \pm 0,4$ балла, диспареунии - $5,3 \pm 0,6$ баллов. Вторым клиническим симптомом эндометриоза являлось бесплодие, которое встречалось у 73,2% (71) больных, при этом первичное бесплодие наблюдалось у 69% (49) пациенток, вторичное бесплодие встречалось в 31% (22) случаев. Длительность первичного бесплодия у больных с НГЭ составила $5,3 \pm 2,2$ лет, вторичного - $4,5 \pm 1,8$ года.

Результаты иммунологического обследования пациенток с НГЭ. При анализе субпопуляционного состава лимфоцитов в ПК пациенток с НГЭ I-II степени до начала лечения отмечено повышение уровня НКТ-клеток с фенотипом CD3+CD16+56+ в 1,46 раза, а также снижение числа индуцировано активированных НК-клеток (НКА+) в 1,65 раза при сравнении абсолютных величин относительно группы контроля. При этом различий между количеством CD3+, CD19+, CD4+, CD8+, НК-клеток с фенотипом CD3-CD16+56+, а также спонтанно активированных НК-клеток (НКА-) в обеих группах обнаружено не было (рисунок 2).

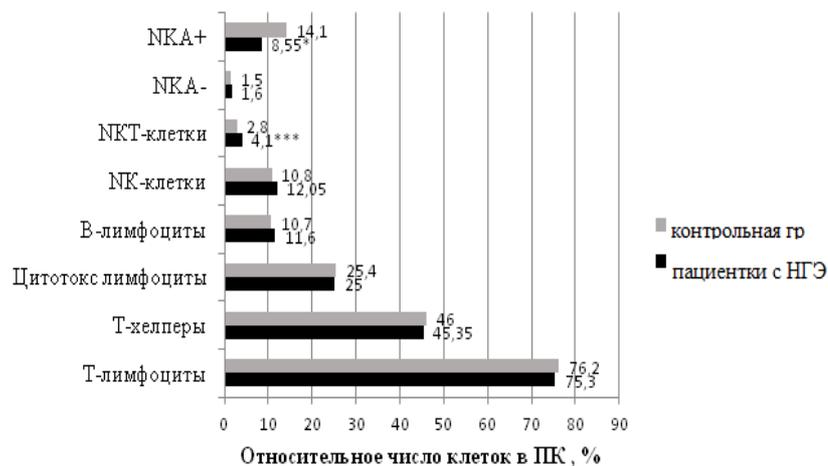


Рисунок 2 – Содержание субпопуляций лимфоцитов, НКТ-, НК- клеток и их способности к активации в ПК больных НГЭ I-II степени и у пациенток из группы контроля

При оценке количества цитокинов в ПЖ было обнаружено повышенное содержание IL-8, RANTES, TNF α и MCP-1 у пациенток с НГЭ до начала лечения по сравнению с группой контроля в 2,4, 2,6, 2,3 и 1,2 раза соответственно ($p < 0,05$). Количество IP-10 было ниже в 4 раза у пациенток с НГЭ по сравнению со здоровыми женщинами в ПЖ ($p < 0,01$). При сравнении количества цитокинов в ПК было обна-

ружено, что содержание IL-8 и RANTES у пациенток с эндометриозом было в 1,1 и 1,2 раза больше по сравнению с их содержанием в группе контроля соответственно ($p < 0,05$). На основании проведения корреляционного анализа была установлена положительная корреляция Spearman $R_s = 0,45$; $p < 0,05$ и $R_s = 0,69$; $p = 0,05$ между содержанием IL-8 и TNF α в крови и в ПЖ соответственно до начала лечения.

Результаты иммунологического обследования пациенток с НГЭ после применения рекомбинантных IFN α -2b и IL-2 в составе комбинированного лечения с аГнРГ в сравнении со стандартной гормонотерапией аГнРГ. После комбинированной терапии НГЭ аГнРГ в сочетании с IFN α -2b отмечено увеличение в ПК абсолютного числа клеток с фенотипом CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+ в 1,1, 1,1 и 1,2 раза соответственно ($p < 0,05$), а также повышение относительного количества клеток с фенотипом CD3+, CD19+ в 1,1 ($p < 0,001$) и 1,1 раза ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с этими показателями до оперативного лечения. Установлено снижение относительного количества НК- и НКТ-клеток после лечения в 1,3 раза ($p < 0,05$) и в 1,9 раза ($p < 0,001$) соответственно, и снижение абсолютного числа НКТ-клеток в 1,8 раза ($p < 0,001$) после терапии в 1 подгруппе. У пациенток, получавших монотерапию аГнРГ, в ПК было отмечено снижение абсолютного и относительного числа НКТ-клеток в 3 и 3,4 раза соответственно ($p < 0,001$), а также снижение абсолютного количества NKA+ в 1,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с его содержанием до терапии. Не обнаружено различий содержания в ПК клеток с фенотипом CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD19+ и НК-клеток до и после применения монотерапии аналогом ГнРГ.

Для сравнения динамики изменения исследуемых показателей после лечения между подгруппами мы использовали дельту ($\Delta = M_{\text{сред до лечения}} - M_{\text{сред после лечения}}$). Нами были получены следующие данные: Δ НК-клеток (относительное содержание) в ПК пациенток из 1 подгруппы составило -4,72 ДИ95% (-7,36;-2,07), а в 3 подгруппе Δ НК-клеток составило 3,16 ДИ95% (-0,68;7,01). Δ НКТ-клеток (относительное содержание) в подгруппах 1 и 3 после лечения имела отрицательную динамику, но в большей степени в подгруппе 3 (сравнения) и составило -4,85 ДИ95% (-7,15;-2,56). В 1 подгруппе комбинированной терапии Δ НКТ-клеток составило -2,82 ДИ95% (-4,37;-1,27). Δ NKA+ (относительное содержание) так же имело отрицательную динамику как при примене-

нии аГнРГ совместно с интерферонсодержащим препаратом, так и при монотерапии аГнРГ: -0,15 ДИ95% (-0,42; 0,1) и -2,64 ДИ95% (-4,38;-1,23) соответственно (рисунок 3).

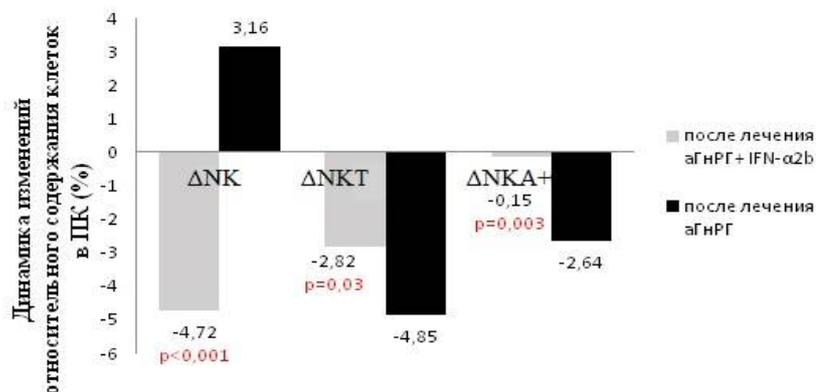


Рисунок 3 – Изменение содержания НКТ-, НК-клеток и их способности к активации в ПК пациенток с НГЭ после терапии между подгруппами 1 и 3

После комбинированной терапии НГЭ аГнРГ в сочетании с рекомбинантным IL-2 отмечено увеличение в ПК относительного числа клеток с фенотипом CD3-CD16+56+ и NKA+ в 1,26 ($p < 0,05$) и 1,34 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с подгруппой 3.

При сравнении динамики изменения исследуемых показателей после лечения между подгруппами были получены следующие данные: Δ NKA+ клеток (относительное содержание) в ПК пациенток после комбинированной терапии аГнРГ совместно с IL-2 составила 2,7 ДИ 95% (0,8;7,2), а в подгруппе сравнения Δ NKA+ клеток составила -2,64 ДИ95% (-4,38;-1,23). Δ NKT-клеток (относительное содержание) во 2 и 3 подгруппах после лечения имела отрицательную динамику, но в большей степени в подгруппе, получавшей только аГнРГ и составило -4,85 ДИ95% (-7,15;-2,56). В подгруппе комплексной терапии аГнРГ с IL-2 Δ NKT-клеток равнялось -0,98 ДИ95% (-2,37;-1,36). Однако по данному показателю подгруппы 2 и 3 различались до начала лечения, поэтому его изменения мы не учитывали (рисунок 4).

При анализе содержания цитокинов в ПК пациенток НГЭ до лечения и после терапии аГнРГ в сочетании с IFN α -2b, а также в подгруппе монотерапии аГнРГ, нами не было обнаружено изменения содержания IL-8, TNF α , IP-10 после терапии. Отмечено увеличение содержания MCP-1в ПК пациенток из 1 подгруппы в 1,1 раза, в подгруппе сравнения после лечения количество этого цитокина в ПК не изменилось. Содержание RANTES в ПК после терапии аГнРГ в сочетании с IFN α -2b снизилось в

1,1 раза ($p < 0,001$), в подгруппе 3 содержание этого цитокина после лечения возросло в 1,2 раза ($p < 0,05$).

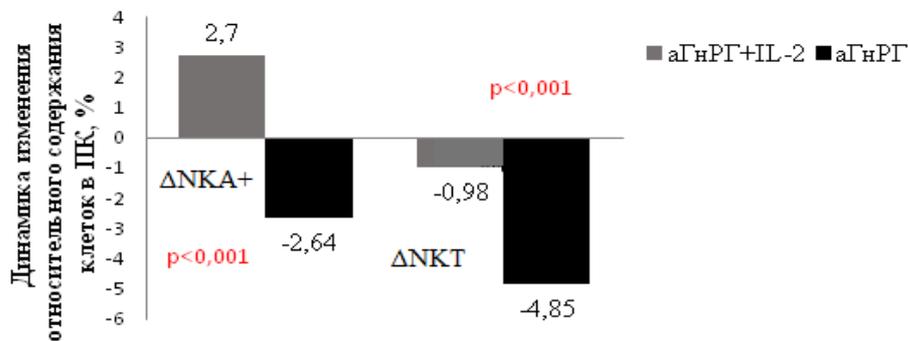


Рисунок 4 – Изменение содержания NKT-, NKA+ клеток и их способности к активации в ПК пациенток с НГЭ после терапии между подгруппами

При сравнении динамики изменения цитокинов в ПК после терапии между подгруппами получены следующие данные: Δ RANTES в ПК в 1 подгруппе составила -1382,7(-2171,9;-691,5), а в 3 подгруппе 874,95(-306,79;1729,87) (рисунок 5). Динамика изменения содержания в ПК TNF α была отрицательной в подгруппе терапии аГнРГ в сочетании с IFN α -2b и составила -0,1(-3,27;0,2), и положительной в группе сравнения – 0,44(-0,11;0,56) (рисунок 5).

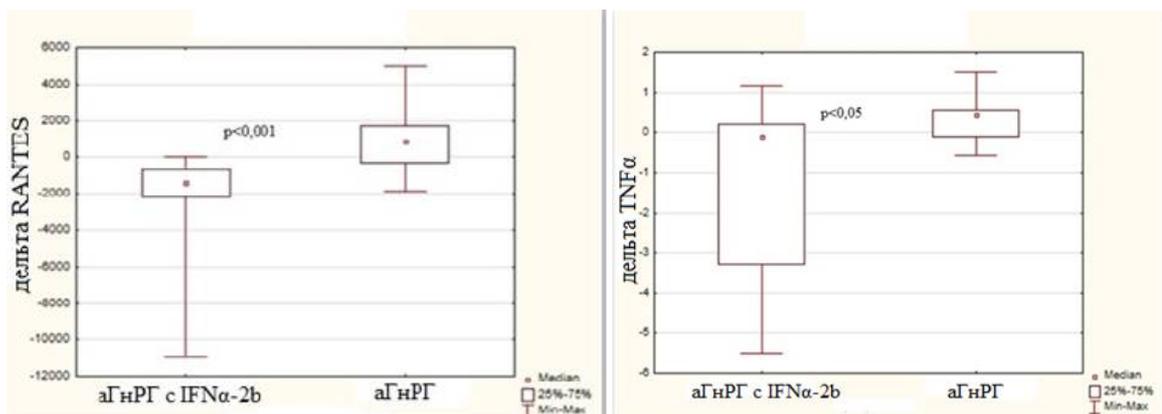


Рисунок 5 – Изменение содержания RANTES и TNF α в ПК пациенток с НГЭ после терапии между 1 и 3 подгруппами

При оценке изменения содержания цитокинов в ПК пациенток после терапии аГнРГ в сочетании с IL-2 было отмечено снижение количества RANTES в 1,03 раза и повышение количества IP-10 в 1,1 раза ($p < 0,05$). В подгруппе монотерапии аГнРГ,

напротив, содержание RANTES повысилось в 1,2 раза после терапии. Количество остальных цитокинов в ПК после терапии во 2 и 3 подгруппах не изменилось.

При сравнении динамики изменения цитокинов в ПК после терапии между подгруппами различия были установлены только в количестве RANTES. Так в подгруппе комбинированной терапии аГнРГ с IL-2 Δ RANTES составила -640(-1842,62; 455,56), а в подгруппе монотерапии аГнРГ – 874,95(-306,79;1729,87) (рисунок 6).

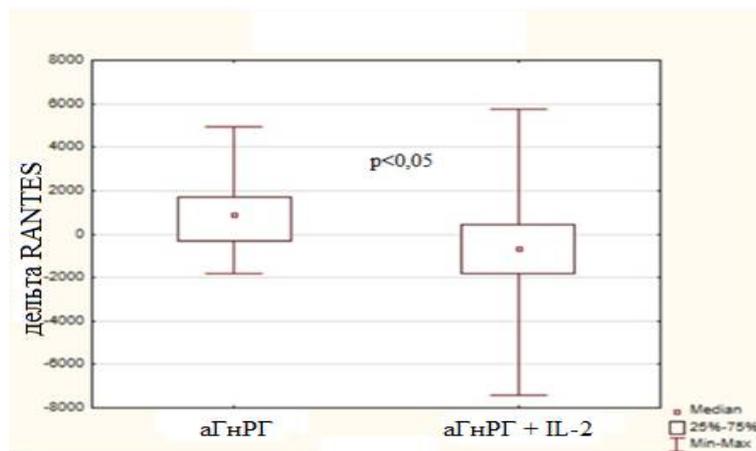


Рисунок 6 – Изменение содержания RANTES в ПК пациенток с НГЭ после терапии между подгруппами 2 и 3

Клиническая эффективность различных вариантов терапии НГЭ. До начала терапии болевой синдром присутствовал у всех пациенток с НГЭ. В первой подгруппе боль в малом тазу была отмечена у 81,3% (26) женщин, альгодисменорея в 93,3% (30) случаев, диспареуния в 72% (23) случаев. Во второй подгруппе жалобы на хроническую тазовую боль были отмечены у 90% (27) пациенток, у 86,7% (26) женщин отмечалась альгодисменорея, диспареуния наблюдалась в 70,1% (21) случаев. В 3 подгруппе сравнения до лечения тазовая боль была отмечена у 82,9% (29), альгодисменорея у 80% (28), а диспареуния у 68,6% (24). Так как терапия аГнРГ сопровождалась аменореей, оценить выраженность дисменореи не представлялось возможным, поэтому данный параметр не вошел в оценку. Интенсивность болевого синдрома в области таза до начала терапии у пациенток с НГЭ в подгруппах представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты оценки выраженности болевого синдрома в баллах по визуально-аналоговой шкале до оперативного лечения и после терапии у пациенток с НГЭ I-II степени внутри и между подгруппами

Характеристика боли	Подгруппа 1 (баллы)		Подгруппа 2 (баллы)		Подгруппа 3 (баллы)	
	до лечения M±m	после лечения M±m	до лечения M±m	после лечения M±m	до лечения M±m	после лечения M±m
Хроническая тазовая боль	7,2 ±0,25	1,9±0,5 ^{1,2}	7,82±0,3	1,57±0,4 ^{1,2}	7,6±0,2	2,53±0,3 ¹
Диспареуния	4,9±0,4	0,95±0,3 ^{1,2}	5,4±0,25	0,85±0,3 ^{1,2}	5,26±0,4	1,55±0,3 ¹

Примечание: 1. $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с показателями до лечения;
2. $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с подгруппой монотерапии аГнРГ

При применении IFN α -2b с аГнРГ практически полное отсутствие боли в области таза было отмечено в 84,4% (24) случаев, диспареунии – в 90,6% (29) случаев (интенсивность хронической тазовой боли уменьшилась в 3,8 раз, выраженность диспареунии снизилась в 5 раз по ВАШ) (таблица 1).

При применении IL-2 с аГнРГ практически полное отсутствие боли в области таза было отмечено в 88,7% (26) случаев, диспареунии – в 93,3% (28) случаев (интенсивность хронической тазовой боли уменьшилась в 5 раз, выраженность диспареунии снизилась в 6 раз по ВАШ) (таблица 1).

При применении монотерапии аГнРГ боль в малом тазу отсутствовала в 74,2% (26), диспареуния – в 80% (28) (хроническая тазовая боль уменьшилась в 3 раза, выраженность диспареунии снизилась в 4,5 раза по ВАШ) (таблица 1).

Частота наступления беременности в 1 и 2 подгруппах составила 46,8% (15) и 53,3% (16) соответственно, что было достоверно выше, чем в подгруппе сравнения – 34,2% (12) ($p < 0,05$).

В течение 1 года после применения комбинированной терапии НГЭ с иммуномодулирующими препаратами рецидивы заболевания выявлены не были, а в группе, получавшей монотерапию аГнРГ, возобновление болевого синдрома отмечено у 9 женщин (25,7%).

Характеристика содержания микровезикул лейкоцитарного происхождения в периферической крови больных НГЭ. В ПК пациенток с эндометриозом выявлено увеличение интенсивности экспрессии молекул CD16⁺ на поверхности мик-

ровезикул в 1,38 раза, а также повышение относительного содержания микровезикул с рецептором CD14+ на их поверхности в 1,1 раза по сравнению с данными показателями у пациенток из контрольной группы. Также для пациенток с НГЭ I и II степени в ПК характерно уменьшение относительного содержания микровезикул с антигенами CD45+CD4+, CD3+CD4+ и CD3+CD8+ на их поверхности в 1,2, 4 и 1,5 раза соответственно, а также увеличение относительного содержания МВ с рецепторами CD54+CD14+ в 1,55 раза по сравнению с этими показателями у пациенток из группы контроля.

Для проведения оценки качества (диагностическая эффективность) прогностической модели взаимосвязи между содержанием в ПК микровезикул с фенотипами CD14+, CD16+ и CD54+CD14+ и НГЭ использовался метод построения кривой взаимной зависимости вероятностей ложноположительных и истинно положительных результатов (ROC-кривой). Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза НГЭ и содержания микровезикул с фенотипом CD54+CD14+ в плазме крови, составила $0,7 \pm 0,056$ с 95% ДИ: 0,59-0,81. Полученная модель соответствует хорошему прогностическому качеству и является статистически значимой ($p < 0,01$). Пороговое значение содержания микровезикул с фенотипом CD54+CD14+ в точке порога классификации составляет 5,22%. Относительное содержание микровезикул с фенотипом CD54+CD14+ в плазме крови, равное 5,22% или превышающее данное значение, соответствует прогнозу наличия НГЭ. Чувствительность и специфичность метода составили 80,5% и 71% соответственно. Площади под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза НГЭ и содержания МВ с фенотипами CD14+ и CD16+ в плазме крови, составили: $0,6 \pm 0,078$ с 95% ДИ: 0,47-0,78 и $0,7 \pm 0,066$ с 95% ДИ: 0,58-0,84, соответственно. Полученные модели также обладают хорошим прогностическим качеством, однако, статистически незначимы.

Изменения количества микровезикул, а также интенсивности экспрессии поверхностных маркеров на МВ в ПК пациенток с НГЭ после применения терапии во всех подгруппах лечения представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Сравнение экспрессии поверхностных маркеров на микровезикулах (MFI), а также количества МВ (%) периферической крови женщин больных НГЭ до и после лечения в 1, 2 и 3 подгруппах. Медиана (25;75 квантили)

Поверхностные маркеры	1 подгруппа		2 подгруппа		3 подгруппа	
	До лечения	после	До лечения	после	До лечения	после
CD14+, MFI	526,50 {282,5;642,0}	451,50 {418,5;564,0}*			356,00 {246,50;497,00}	563,25 {237,50;547,0}*
CD45+CD14+, %					0,25 {0,10;1,50}	2,65 {2,30;3,75}**
CD45+CD56+, %					0,20 {0,10;0,80}	2,75 {1,50;3,95}**
CD45+CD16+, %					0,80 {0,35;4,20}	4,975 {3,70;6,05}**
CD56+CD14+, %					3,40 {0,95;4,75}	6,10 {3,65;7,90}*
CD54+CD56+, %					1,65 {0,50;4,05}	9,53 {5,85;12,70}**
CD54+CD14+, %					1,90 {1,35;5,75}	8,23 {5,80;10,50}**
CD3+CD8+, %			0,10 {0,00;0,35}	0,75 {0,10;1,10}*	0,10 {0,10;1,70}	0,62 {0,30;0,70}

Примечание: $p < 0,05$ - достоверность различий по сравнению с показателями до лечения

ВЫВОДЫ

1. Эндометриоз-ассоциированный болевой синдром у пациенток с НГЭ характеризуется альгодисменореей, которая отмечена у 93,8% больных, диспареунией – у 70,1%, диффузной тазовой болью – у 90,7%, сочетание всех трех видов боли диагностировано у 72,2% пациенток. У 73,2% больных выявлено эндометриоз-ассоциированное бесплодие (первичное - у 69%, вторичное – у 31% женщин).

2. У больных НГЭ I-II степени в ПК (периферическая кровь) отмечено повышение числа НКТ-клеток в 1,46 раза ($p < 0,05$), а также снижение способности НК-клеток к активации при добавлении стандартного индуктора в 1,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с пациентками в группе контроля ($p < 0,05$).

3. В ПЖ (перитонеальная жидкость) пациенток с НГЭ концентрация цитокинов IL-8, RANTES, TNF α и MCP-1 до начала лечения выше в 2,4, 2,6, 2,3 и 1,2 раза соответственно ($p < 0,05$), а количество антиангиогенного хемокина IP-10 в 4 раза ниже по сравнению с женщинами из группы контроля ($p < 0,01$). В ПК пациенток с эндометриозом выявлено повышение содержания IL-8 и RANTES в 1,1 и 1,2 раза соответственно по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Установлена положительная корреляция Spearman $R_s = 0,45$; $p < 0,05$ и $R_s = 0,69$; $p < 0,05$ между содержанием IL-8 и TNF α в ПК и ПЖ соответственно.

4. У больных НГЭ применение рекомбинантного IFN α -2b на фоне терапии аГнРГ сопровождается сохранением способности НК-клеток реагировать активацией

на введение стандартного индуктора, несмотря на снижение их количества в ПК в 1,3 раза ($p < 0,05$). На фоне лечения аГнРГ количество НК-клеток в ПК сохраняется на прежнем уровне, а способность НК-клеток реагировать активацией на стандартный индуктор снижается в 1,3 раза ($p < 0,001$). Иммуномодулирующее действие $IFN\alpha-2b$ у больных НГЭ характеризуется снижением содержания цитокинов RANTES и $TNF\alpha$ в ПК в 1,2 и 1,1 раза соответственно ($p < 0,05$), по сравнению с терапией аГнРГ, сопровождающейся повышением содержания RANTES и $TNF\alpha$ в ПК в 1,2 и 1,1 раза соответственно ($p < 0,05$).

5. Применение рекомбинантного интерлейкина-2 в сочетании с аГнРГ у пациенток с НГЭ способствует выраженному повышению способности НК-клеток ПК отвечать активацией на стандартный индуктор в 1,34 раза ($p < 0,001$) по сравнению с этим показателем до лечения, что достоверно отличается от терапии аГнРГ, на фоне которой происходит снижение способности НК-клеток ПК отвечать активацией на стандартный индуктор в 1,3 раза ($p < 0,001$). Применение IL-2 в составе комбинированной терапии НГЭ приводит к снижению количества RANTES в 1,1 раза и повышению количества IP-10 в 1,1 раза ($p < 0,05$) в ПК, по сравнению с увеличением содержания RANTES в 1,2 раза ($p < 0,05$) и отсутствием изменения содержания IP-10 в подгруппе, получавшей терапию аГнРГ.

6. Применение рекомбинантных $IFN\alpha-2b$ и IL-2 в составе комплексной терапии сопровождается отсутствием болевого синдрома у 84,4% и 88,7% больных НГЭ соответственно по сравнению с терапией только аГнРГ - у 74,2% ($p < 0,05$); частота наступления беременности в подгруппах комбинированной терапии с иммуномодулирующими препаратами составляет 46,9% и 53,3% соответственно, что выше, чем в подгруппе монотерапии аГнРГ - 34,3% ($p < 0,05$). В течение 1 года после применения комбинированной терапии НГЭ с иммуномодулирующими препаратами рецидивы заболевания выявлены не были, при применении монотерапии аГнРГ возобновление болевого синдрома отмечено у 25,7% пациенток.

7. Для пациенток с НГЭ I-II степени характерно увеличение в ПК количества микровезикул (МВ) с фенотипом $CD14+$, $CD16+$ и $CD54+CD14+$ в 1,1, 1,38 и 1,55 раза соответственно ($p < 0,05$), а также снижение содержания МВ с фенотипом $CD45+CD4+$, $CD3+CD4+$, $CD3+CD8+$ в 1,2, 4 и 1,5 раза соответственно ($p < 0,05$).

8. После применения комбинированной схемы терапии рекомбинантным IFN α -2b и аГнРГ в ПК отмечено снижение интенсивности экспрессии молекул CD14+ на поверхности МВ в 1,2 раза, а в подгруппе применения только аГнРГ выявлено повышение данного показателя в 1,6 раза ($p < 0,05$). В подгруппе, получавшей аГнРГ с IL-2, в ПК отмечено повышение количества МВ с фенотипом CD3+CD8+ в 7,5 раза ($p < 0,05$) после лечения, а в подгруппе применения только аГнРГ количество МВ с фенотипом CD3+CD8+ не изменилось, но выявлено повышение относительного количества МВ с фенотипами CD45+CD14+, CD45+CD56+, CD45+CD16+, CD56+CD14+, CD54+CD56+, CD54+CD14+ в 10,6, 13,75, 6,2, 1,79, 5,78, 4,3 раза соответственно ($p < 0,01$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для пациенток с НГЭ I-II степени (r-ASRM) с выраженным болевым синдромом и бесплодием, у которых на основании результатов иммунологического обследования до начала лечения отмечено снижение общего числа Т-лимфоцитов (менее 0,603 тыс/мкл или 49,1%), Т-хелперов (менее 0,441 тыс/мкл или 28,2%), цитотоксических Т-лимфоцитов (менее 0,125 тыс/мкл или 10,2%) и В-лимфоцитов (менее 0,107 тыс/мкл или 6,5%) в периферической крови, рекомендовано включение в комбинированную терапию рекомбинантного интерферона α -2b.

2. Целесообразно рекомендовать применение больным НГЭ интерфероносодержащего препарата в составе комбинированной терапии по следующей схеме: одновременно с первой инъекцией аГнРГ назначается рекомбинантный интерферон α -2b в свечах 3 млн. Ед ректально 2 раза/день в течение 10 дней, затем после 10-дневного перерыва – повторный курс иммуномодулирующей терапии.

3. Для решения вопроса о необходимости проведения повторного курса интерферозаместительной терапии у пациенток с НГЭ I-II степени рекомендовано определение содержания общего числа Т-лимфоцитов, цитотоксических Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов в ПК через 6 месяцев после окончания предыдущего курса терапии или при возобновлении болевого синдрома.

4. Для пациенток с перитонеальным эндометриозом I-II степени, имеющих выраженный болевой синдром и бесплодие, а также снижение способности НК-

клеток к активации (менее 5%) в ПК, рекомендовано применение рекомбинантного IL-2 в дополнение к гормональной терапии аГнРГ.

5. Рекомбинантный интерлейкин-2 в дозе 500000 МЕ/мл в виде внутривенной инфузии (в 400 миллилитрах 0,9% раствора натрия хлорида) назначается больным НГЭ по следующей схеме: первое введение одновременно с 1-й инъекцией аГнРГ трехкратно с интервалом 48 ч. Следует отметить, что на фоне внутривенного введения препарата в ряде случаев могут наблюдаться озноб и повышение температуры тела до 38-39 °С, которые отмечены в инструкции к применению препарата и не являются основанием для отмены курса терапии.

6. Для решения вопроса о целесообразности повторного применения рекомбинантного IL-2 у больных НГЭ рекомендовано определение в ПК способности НК-клеток к активации при введении стандартного индуктора через 6 месяцев после предыдущего курса лечения или при возобновлении болевого синдрома.

7. У пациенток с НГЭ I-II степени повышение в ПК относительного количества микровезикул с фенотипом CD54+CD14+ равно 5,22% и выше может служить маркером ранней неинвазивной диагностики заболевания с чувствительностью 80,5% и специфичностью 71%.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Modern trends in combined treatment of genital endometriosis / M. Yarmolinskaya , A. Tsipurdeeva, A. Molotkov, E. Durneva, D. Tsitskarava, E. Suslova // 17 World Congress of gynecological endocrinology. – Firenze, 2016. – Abs. № 4652.
2. Результаты применения рекомбинантного интерферона альфа-2b в комбинированном лечении наружного генитального эндометриоза / Е.И. Дурнева, М.И. Ярмолинская, Д.И. Соколов, С.А. Сельков // XII международный конгресс по репродуктивной медицине: материалы. – Москва, 2019. – С. 450-451.
3. **Интерфероны: патогенетическое обоснование при лечении наружного генитального эндометриоза и клиническая эффективность / Е.И. Дурнева, Д.И. Соколов, М.И. Ярмолинская С.А. Сельков // Журнал акушерства и женских болезней. - 2019. – Т.68, № 1. – С.47-58. DOI: 10.17816/JOWD68147-58.**
4. **Клиническая эффективность и патогенетическое обоснование применения человеческого рекомбинантного интерферона альфа-2b в комбинирован-**

- ном лечении больных наружным генитальным эндометриозом / Е.И. Дурнева, М.И. Ярмолинская, С.А. Сельков, А.В. Селютин, Д.И. Соколов // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2019. – Т.18, №2. – С. 61-68. DOI: 10.20953/1726-1678-2019-2-61-68.
5. Possibilities of application of interferon alpha-2 β in combined treatment of patients with genital endometriosis / M.Yarmolinskaya, E. Durneva, D. Sokolov, S. Selkov // 27th World congress on controversies in obstetrics, gynecology and infertility: materials. - Paris, 2019. – P.147.
 6. Дурнева, Е.И. Оценка лабораторной и клинической эффективности применения рекомбинантного интерферона альфа-2 β в лечении больных наружным генитальным эндометриозом / Е.И. Дурнева // Журнал акушерства и гинекологии. – 2019 – Т.68, спецвып. – С.22-23. (Репродуктивная медицина: взгляд молодых: материалы научной конференции, 2019.)
 7. **Эффективность применения таргетной интерферозаместительной терапии у больных наружным генитальным эндометриозом / М.И. Ярмолинская, Е.И. Дурнева, С.А. Сельков, С.В. Чепанов, А.В. Селютин, Д.И. Соколов // Акушерство и гинекология.** – 2020. – №5. – С. 105-112. DOI: 10.18565/aig.2020.5.105-12.
 8. Дурнева, Е.И. Оценка эффективности применения рекомбинантного интерлейкина-2 в составе комплексной терапии пациенток с наружным генитальным эндометриозом / Е.И. Дурнева // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины: тезисы докладов LXXXI научно-практической конференции с международным участием. – Санкт Петербург, 2020. – С.6.
 9. **Рекомбинантный ИЛ-2: клиническая эффективность и патогенетическое обоснование применения при наружном генитальном эндометриозе / М.И. Ярмолинская, Е.И. Дурнева, С.В. Чепанов, Д.И. Соколов, С.А. Сельков // Проблемы репродукции.** – 2021. – Т.27, №2 – С.41-50. DOI: 10.17116/repro20212702141.
 10. Медикаментозная терапия генитального эндометриоза: реалии и перспективы: руководство для врачей /авт. кол.: М.И. Ярмолинская, Е.И. Абашова, Е.В. Мишарина, А.Р. Хачатурян, М.А. Шалина, Е.В. Мусина, А.С. Молотков, М.С. Флорова, А.С. Денисова, Е.В. Сулова, Н.Ю. Андреева, Е.И. Дурнева, С.Ш. Тхазапlicheва, В.В. Хобец, Е.А. Нетреба; под ред. М.И. Ярмолинской. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 384 с. DOI: 10.33029/9704-6034-4-MET-2021-1-384.