

**РОЛЬ UNK-КЛЕТОК В ПАТОГЕНЕЗЕ АНОМАЛЬНОГО МАТОЧНОГО
КРОВОТЕЧЕНИЯ У ЖЕНЩИН, ПРИНИМАЮЩИХ МГТ.**

Доброхотова Ю. Э. ¹,
Сафарли С. Э. ¹,
Ильина И. Ю. ¹,
Нариманова М. Р. ¹,
Гришин И. И. ^{1,2},
Ракша А. П. ^{1,2},
Щербак Е. В. ²,
Казиева М. Д. ¹,
Азимова А. Ю. ¹

¹ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия.

² ГБУЗ «ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова ДЗМ» Москва, Россия.

**THE ROLE OF UNK-CELLS IN THE PATHOGENESIS OF ABNORMAL
UTERINE BLEEDING IN WOMEN RECEIVING MENOPAUSAL
HORMONE THERAPY.**

Dobrokhotova Yu. E. ^a,
Safarli S. E. ^a,
Ilyina I. Yu. ^a,
Narimanova M. R. ^a,
Grishin I. I. ^{a,b},
Raksha A. P. ^{a,b},
Scherbak E. V. ^b,
Kazieva M. D. ^a,
Azimova A. Yu. ^a

^aPirogov Russian National Research Medical University.

^bPirogov City Clinical Hospital No. 1.

Резюме

Актуальность. Аномальные маточные кровотечения (АМК) нередко наблюдаются при применении менопаузальной гормональной терапии (МГТ), что значительно снижает качество жизни пациенток в постменопаузе и их приверженность к лечению. АМК на фоне приема МГТ в большинстве случаев не связано с патологическими изменениями эндометрия. Стоит отметить, что роль маточных естественных киллеров (uNK-клеток) в этом процессе остается неизученным.

Цель: оценить роль uNK-клеток в патогенезе АМК у женщин, получающих МГТ.

Материалы и методы. Проведено рандомизированное контролируемое исследование на базе ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова в период с ноября 2022 по октябрь 2024 года, в котором приняли участие 75 женщин в постменопаузе. Участницы были разделены на три группы: женщины, получающие МГТ с АМК (n=27); женщины, получающие МГТ без АМК (n=25), женщины в постменопаузе, не получающие МГТ (n=23). С целью проведения иммуногистохимического анализа и проточной цитометрии исследовался эндометрий, полученный при пайпель-биопсии у контрольной группы пациенток, не принимающих МГТ, и у группы пациенток до начала МГТ, спустя 6 месяцев приема МГТ, а также во время эпизодов АМК.

Результаты. У женщин с АМК на фоне МГТ выявлено статистически значимое увеличение uNK-клеток в эндометрии по сравнению с пациентками без АМК (CD3-/CD16+/CD56+: 1,7 [1,46–1,85] против 0,66 [0,5–0,79], $p < 0,001$). Иммуногистохимическое исследование показало повышенную плотность CD56+ клеток в строме эндометрия у пациенток с АМК на фоне приема МГТ.

Заключение. Результаты исследования подтверждают роль uNK-клеток в патогенезе АМК у женщин, принимающих МГТ. Дальнейшие исследования могут способствовать разработке новых подходов к профилактике и лечению АМК путем модуляции активности uNK-клеток.

Ключевые слова: аномальное маточное кровотечение, менопаузальная гормональная терапия, маточные естественные киллеры, лейкоциты, постменопауза.

Abstract

Relevance. Abnormal uterine bleeding (AUB) is frequently observed during menopausal hormone therapy (MHT), significantly impairing the quality of life of postmenopausal women and reducing their adherence to treatment. In most cases, AUB associated with MHT is not linked to pathological changes in the endometrium. It is noteworthy that the role of uterine natural killer (uNK) cells in this process remains unexplored.

Objective. To evaluate the role of uNK cells in the pathogenesis of AUB in women receiving MHT.

Materials and methods. A randomized controlled trial was conducted at the City Clinical Hospital named after Pirogov N. I. from November 2022 to October 2024, involving 75 postmenopausal women. Participants were divided into three groups: women receiving MHT with AUB (n=27); women receiving MHT without AUB (n=25); and postmenopausal women not receiving MHT (n=23). For the purpose of immunohistochemical analysis and flow cytometry endometrial samples obtained via pipelle biopsy were analyzed in the control group (not receiving MHT) and in the study group before MHT initiation, after 6 months of MHT, and during AUB episodes.

Results. Women with AUB during MHT exhibited a statistically significant increase in uNK cells in the endometrium compared to those without AUB (CD3-/CD16+/CD56+: 1.7 [1.46–1.85] vs. 0.66 [0.5–0.79], $p < 0.001$). Immunohistochemical analysis revealed an increased density of CD56+ cells in the endometrial stroma of patients with AUB during MHT.

Conclusion. The study findings confirm the role of uNK cells in the pathogenesis of AUB in women receiving MHT. Further research may contribute to the development of new approaches for the prevention and treatment of AUB through modulation of uNK cell activity.

Keywords: abnormal uterine bleeding, menopausal hormone therapy, uterine natural killer cells, leukocytes, menopause.

1 Введение

Менопаузальная гормональная терапия (МГТ) у женщин в постменопаузе применяется для купирования вазомоторных симптомов, а также с целью профилактики и лечения генитоуринарного синдрома, остеопороза [3, 9]. Применение менопаузальной гормональной терапии у пациенток в постменопаузе может сопровождаться эпизодами аномального маточного кровотечения (АМК). Важно отметить, что подобные кровотечения не всегда следует рассматривать как осложнение, поскольку они могут представлять собой ожидаемое явление, возникающее в начале терапии (в первые 6 месяцев) как при циклических, так и при непрерывных режимах МГТ. Однако, аномальные маточные кровотечения негативно сказываются на качестве жизни пациенток, существенно влияют на приверженность к лечению, что в конечном итоге ограничивает эффективность терапии [1]. По данным систематического обзора Marjoribanks J et al. аномальные маточные кровотечения остаются одной из основных причин преждевременного прекращения приёма менопаузальной гормональной терапии [15]. Частота аномальных маточных кровотечений зависит от типа используемых препаратов, их дозировки, а также сопутствующих факторов, таких как заболевания печени, доброкачественные изменения в полости матки, низкая приверженность к терапии или взаимодействие лекарственных средств [2, 17,5]. Данное состояние приводит к необходимости инвазивных вмешательств из-за опасений развития злокачественного процесса. При развитии аномального маточного кровотечения на фоне применения МГТ пациенткам проводят ультразвуковое исследование, биопсию эндометрия или гистероскопию. Однако согласно данным литературы, в большинстве случаев патология эндометрия не обнаруживается [17].

Эндометрий относится к немногим тканям в организме человека, претерпевающим циклические морфофункциональные изменения под влиянием стероидных гормонов эстрадиола и прогестерона. Эстроген-опосредованная пролиферация клеток эндометрия осуществляется посредством связывания с эстрогеновыми рецепторами – α и β (ER α и ER β), а регуляция прогестерон-зависимых процессов осуществляется через его рецепторные изоформы – PR-A, PR-B и PR-C. Одной из ключевых ролей в развитии маточных кровотечений играет нарушение равновесия ангиогенных и антиангиогенных факторов, что приводит к нарушению сосудистой целостности [6, 16].

Ряд исследований показывает, что прогестагенный компонент МГТ способен влиять на целостность сосудов эндометрия и индуцировать изменения в строме, что может увеличить продукцию вазоактивных медиаторов и, вследствие этого, способствовать повышенной проницаемости сосудов эндометрия [10, 11]. Известно, что нарушению целостности сосудов эндометрия в нормальном менструальном цикле предшествует увеличение количества естественных клеток киллеров матки (uterine natural killers – uNK) и лейкоцитарная инфильтрация, которая продуцирует цитокины и протеазы,

способствующие разрушению внеклеточного матрикса, и, как следствие, инициирует кровотечение. Клетки uNK представляют собой подгруппу популяции лейкоцитов, обладающих уникальным фенотипом (CD56^{bright}, CD16^{dim}, CD3^{dim}), который отличается от NK клеток периферической крови (CD56^{dim}, CD16^{bright}, CD3⁻). Hickey M et al. продемонстрировали, что uNK клетки под хемотаксическим влиянием прогестагена могут способствовать изменению целостности капиллярного русла в эндометрии у женщин в постменопаузе, использующих МГТ, приводя тем самым к прорывным кровотечениям [12]. Hickey et al. провели проспективное наблюдательное исследование, где оценили роль маточных естественных клеток-киллеров (uNK-cell) в развитии аномального маточного кровотечения на фоне МГТ. По результатам исследования было выявлено значительное увеличение uNK-клеток в биоптатах эндометрия среди женщин с аномальными маточными кровотечениями, получающих МГТ, по сравнению с теми, кто не получал МГТ. Наименьший удельный вес uNK-клеток наблюдался у женщин в постменопаузе, не принимавших МГТ, а наибольший – у женщин с аномальным маточным кровотечением, где биопсия была произведена непосредственно в эпизод кровотечения, и в независимости от типа используемого МГТ [12].

Существующие данные подчеркивают необходимость более глубокого изучения механизмов, лежащих в основе аномальных маточных кровотечений при применении МГТ. Дальнейшее исследование должно быть направлено на уточнение роли uNK-клеток в механизме аномального маточного кровотечения. Углубление знаний о механизмах, лежащих в основе аномальных маточных кровотечений на фоне приема МГТ, позволит не только улучшить понимание патофизиологии кровотечений, но и разработать целевые подходы к их профилактике и лечению, что повысит безопасность и эффективность гормональной терапии для женщин в постменопаузе.

2 Материалы и методы

Проведено экспериментальное рандомизированное контролируемое исследование на базе ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова в период с ноября 2022 года по октябрь 2024 года. Все пациентки, принимающие участие в исследовании, подписали информированное добровольное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России от 19 декабря 2022г, протокол № 224.

В исследовании приняли участие 75 женщин в постменопаузе от +1а до +1с стадии в соответствии с критериями классификации репродуктивного старения STRAW+10. Критерии включения в исследование: женщины постменопаузального периода, наличие показаний для назначения МГТ (вазомоторные симптомы с изменением настроения, нарушением сна; симптомы уrogenитальной атрофии, сексуальная дисфункция; профилактика и лечение остеопороза; низкое качество жизни, связанное с климактерием, включая артралгии, мышечные боли, снижение памяти). Критерии невключения: женщины в период менопаузального перехода, наличие

89 противопоказаний для назначения МГТ (кровотечение из половых путей
90 неясного генеза; рак молочной железы и эндометрия; острый гепатит, опухоли
91 печени; острый тромбоз глубоких вен; острая тромбоэмболия; аллергия к
92 ингредиентам МГТ; кожная порфирия), применение иммуномодулирующих,
93 антибактериальных препаратов либо МГТ в течение предыдущих 3 месяцев.
94 Критерии исключения: наличие патологии эндометрия, хронического
95 воспалительного процесса по результатам гистологического исследования,
96 низкая приверженность пациентки к терапии, отказ пациентки от участия в
97 исследовании на любом этапе.

98 В рамках исследования проводился детальный сбор анамнеза,
99 включающий данные о длительности постменопаузы, перенесённых
100 заболеваниях, текущей медикаментозной терапии и других факторах, которые
101 могли бы повлиять на результаты исследования; трансвагинальное
102 ультразвуковое исследование органов малого таза (ТВ УЗИ) с использованием
103 стандартов, предложенных Международной группой по оценке эндометрия
104 (IETA). В исследуемой группе 52 пациентки получали пероральную МГТ в
105 непрерывном режиме, включающую 1 мг эстрадиола в сочетании с 5 мг
106 дидрогестерона (E₂/DYD), тогда как 23 пациентки в контрольной группе не
107 получали МГТ.

108 Пайпель-биопсия эндометрия производилась до назначения МГТ,
109 спустя 6 месяцев применения МГТ при отсутствии прорывного кровотечения
110 и во время эпизода прорывного кровотечения. В контрольной группе пайпель-
111 биопсия выполнялась однократно.

112 Аспирационный материал собирали в пробирки Vacuette® K2E с
113 K₂EDTA объемом 4 мл для проведения проточной цитометрии с целью
114 иммунофенотипирования и определения следующей популяции клеток:
115 CD3⁺(Т-лимфоциты), CD3⁺/CD16⁺/CD56⁺ (Т-клетки, экспрессирующие
116 маркеры естественных клеток киллеров, НКТ-подобные клетки),
117 CD3⁻/CD16⁺/CD56⁺ (НК-клетки).

118 Для идентификации НК-клеток и Т-лимфоцитов в биопсийных образцах
119 эндометрия проводили иммуногистохимическое исследование с
120 использованием моноклональных антител к маркерам CD3 (маркер Т-
121 лимфоцитов) и CD56 (маркер естественных клеток киллеров, НК-клеток).
122 Биопсийный материал фиксировался в 10%-м забуференном формалине в
123 течение суток, затем заливался в парафиновые блоки с использованием
124 стандартного протокола дегидратации. Срезы толщиной 4 мк выполнялись на
125 микротоме ротационного типа Microm GmbH HM 325 (Германия) на
126 предметные стекла BioVitrum с адгезивным покрытием PCL. Срезы
127 высушивались на термостойке Sakura при температуре 55 градусов в течение
128 15 минут. Весь биопсийный материал окрашивался стандартным красителем
129 гематоксилином и эозином, затем исследовался врачом-патоморфологом для
130 идентификации наличия или отсутствия определенных патологических
131 критериев. Протокол обработки препаратов происходил полностью
132 автоматически в иммуностейнере Ventana BenchMark XT. Все этапы

133 проходили в одном модуле по стандартным протоколам, не требуют
134 перемещения материала, включают в себя автоматизацию всех этапов –
135 депарафинизации, демаскировки, инкубации с первичными антителами,
136 визуализации и подкрашивания гематоксилином. Количество искомым клеток
137 было получено путем фотографирования каждого иммуномеченого
138 биопсийного среза с использованием светового микроскопа Zeiss Axiolab A1,
139 оснащенного цифровой камерой Zeiss AxioCam ERc 5s. Изображения были
140 получены из десяти полей зрения при 400-кратном увеличении, при этом
141 области для подсчета клеток были выбраны из полей с максимальной
142 плотностью меченых клеток.

143 Статистический анализ проводился с использованием программы
144 StatTech v.4.8.0. Количественные показатели оценивались на предмет
145 соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-
146 Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-
147 Смирнова (при числе исследуемых более 50). В случае отсутствия
148 нормального распределения количественные данные описывались с помощью
149 медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Сравнение трех и
150 более групп по количественному показателю, распределение которого
151 отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-
152 Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой
153 Холма. При сравнении количественных показателей, распределение которых
154 отличалось от нормального, в двух связанных группах, использовался
155 критерий Уилкоксона. Различия считались статистически значимыми при
156 $p < 0,05$.

157 3 Результаты

158 В исследование были включены 75 женщин в постменопаузе,
159 распределенные на три группы: женщины в постменопаузе, не получающие
160 МГТ (контрольная группа, $n=23$); пациентки, получающие МГТ (1 мг\5 мг
161 E_2 \DYD), которые в зависимости от наличия или отсутствия АМК,
162 развившейся через 6 месяцев после начала МГТ, были распределены на две
163 группы: группа с АМК ($n=27$) и группа без АМК ($n=25$). В большинстве
164 случаев АМК проявлялись в виде скудных мажущих выделений и не
165 сопровождалась выраженными болевыми ощущениями или другими
166 клинически значимыми симптомами. Учитывая, что в течение первых 6
167 месяцев гормональной терапии мажущие выделения из половых путей
168 возможны, как физиологическая реакция на становление гормонального фона,
169 в исследование включались только случаи АМК, сохранившиеся или впервые
170 возникшие после 6 месяцев регулярного приема МГТ. Клинические и
171 анамнестические характеристики (возраст, вес, индекс массы тела (ИМТ),
172 возраст менархе, длительность постменопаузы) пациенток, включенных в
173 исследование, были сопоставимы и не имели статистически значимых
174 различий между группами. Медиана возраста в первой группе (пациентки,
175 принимающие МГТ с АМК) составила 52 года [50,00; 54,00], во второй группе
176 (пациентки, принимающие МГТ без АМК) — 51 год [50; 53], в контрольной

177 группе — 53 года [51; 54]. Длительность постменопаузы варьировала от 1 до
178 5 лет, без статистически значимых различий между группами. Все
179 характеристики групп пациенток представлены в таблице 1.

180 Исходные показатели субпопуляции лимфоцитов ($CD3^+$,
181 $CD3^+/CD16^+/CD56^+$, $CD3^-/CD16^+/CD56^+$) не имели статистически значимых
182 различий между группами на момент включения в исследование. При анализе
183 уровня абсолютного количества Т-лимфоцитов ($CD3^+$) у пациенток,
184 принимавших МГТ без эпизодов АМК, значимых различий между исходным
185 уровнем и показателями через 6 месяцев терапии не выявлено ($p=0,148$).
186 Напротив, у пациенток с эпизодами АМК через 6 месяцев приема МГТ
187 наблюдалось статистически значимое повышение уровня Т-клеток,
188 экспрессирующих маркеры NK-клеток ($CD3^+/CD16^+/CD56^+$) и uNK-клеток
189 ($CD3^-/CD16^+/CD56^+$) по сравнению с пациентками без эпизодов АМК на фоне
190 приема МГТ: $CD3^+/CD16^+/CD56^+$: 1,61 [1,22-1,90] против 0,45 [0,3-0,74], p
191 $<0,001$; $CD3^-/CD16^+/CD56^+$: 1,7 [1,46-1,85] против 0,79 [0,69-1,02], p
192 $<0,001$. Статистическое значимое повышение уровня субпопуляции лимфоцитов
193 эндометрия ($CD3^+$, $CD3^+/CD16^+/CD56^+$, $CD3^-/CD16^+/CD56^+$) наблюдалось у
194 пациенток, принимающих МГТ и с эпизодом АМК спустя 6 месяцев приема
195 МГТ, по сравнению с контрольной группой пациенток, не принимающих
196 МГТ, как в процентном содержании, так и в абсолютных значениях, p $<0,001$.

197 Статистически значимые различия между контрольной группой и
198 пациентками, принимающими МГТ и без эпизодов АМК спустя 6 месяцев
199 наблюдения, ограничивались показателями NK-клеток: были значимы как
200 процентное содержание ($p = 0,031$), так и абсолютные значения ($p = 0,046$),
201 тогда как другие иммунологические параметры не различались.

202 Данные иммунофенотипирования субпопуляции лимфоцитов
203 эндометрия представлены в таблице 2 и рисунке 1.

204 Для идентификации и локализации uNK-клеток (маточных натуральных
205 киллеров) в биоптатах эндометрия было проведено иммуногистохимическое
206 исследование с использованием моноклональных антител к
207 маркеру **CD56** (маркер uNK-клеток). В результате анализа были
208 визуализированы CD56-позитивные клетки, которые демонстрировали
209 характерное коричневое окрашивание цитоплазмы, что свидетельствует о
210 наличии uNK-клеток (Рис.2). Видно значительное увеличение количества
211 uNK-клеток в эндометрии у пациенток с АМК на фоне приема МГТ (Рис.2В)
212 по сравнению с пациентками без эпизода АМК (Рис.2Д) и контрольной
213 группой (Рис.2Г).

214 Дополнительно проведено иммуногистохимическое исследование с
215 использованием моноклональных антител к маркеру **CD3** для идентификации
216 Т-лимфоцитов, участвующих в иммунных процессах эндометрия.
217 Визуализированные CD3-позитивные клетки также демонстрировали
218 характерное коричневое окрашивание мембраны, что подтверждает их
219 наличие в ткани эндометрия (Рис. 3). Аналогично uNK-клеткам, на
220 иммуногистохимических снимках отмечается повышение инфильтрации $CD3^+$

221 Т-лимфоцитов у пациенток с АМК на фоне МГТ (Рис. 3В) по сравнению с
222 исходными ИГХ-снимками до назначения МГТ (Рис. 3А, Рис. 3Б), спустя 6
223 месяцев приема МГТ без АМК (Рис. 3Д) и контрольной группой (Рис. 3Г).

224 4 Обсуждение

225 Результаты исследования подтверждают гипотезу о ключевой роли
226 маточных естественных клеток-киллеров (uNK-клетки) в патогенезе
227 аномальных маточных кровотечений у женщин, принимающих МГТ.
228 Увеличение количества uNK-клеток в эндометрии, особенно в период
229 прорывных кровотечений, свидетельствует об их участии в нарушении
230 целостности сосудов и инициации кровотечения.

231 Полученные данные согласуются с результатами Hickey M et al., 2005,
232 где было продемонстрировано, что uNK-клетки под влиянием
233 прогестагенного компонента МГТ (норэтистерон, медроксипрогестерона
234 ацетат, дидрогестерон) участвуют в дестабилизации сосудистой структуры
235 эндометрия через провоспалительные механизмы. По данным ряда
236 исследований, увеличение uNK-клеток может быть связано с усиленной
237 экспрессией ангиогенных факторов (IL-15, IL-6, IL-2, VEGF), что
238 потенциально играет роль в нарушении структуры сосудов эндометрия [12, 7,
239 4, 13, 8, 14]. Увеличение абсолютного количества CD3⁻/CD16⁺/CD56⁺,
240 особенно в группе пациенток с аномальными маточными кровотечениями на
241 фоне приема МГТ, подтверждает их активное участие в патологическом
242 процессе.

243 Аномальные маточные кровотечения на фоне приема МГТ являются
244 частой причиной прекращения терапии, что снижает её эффективность и
245 ухудшает качество жизни пациенток. Понимание роли uNK-клеток в этом
246 процессе открывает новые возможности для разработки целевых методов
247 профилактики и лечения таких кровотечений. Это может включать в себя
248 использование препаратов, модулирующих активность uNK-клеток, или
249 разработку новых схем МГТ, которые минимизируют риск кровотечений.

250 Одним из ограничений исследования является относительно небольшой
251 размер выборки, что может повлиять на репрезентативность результатов.
252 Кроме того, исследование проводилось в одном медицинском центре, что
253 может ограничивать применимость результатов к другим популяциям. Для
254 подтверждения полученных данных необходимы дальнейшие исследования с
255 большим количеством участников и в различных клинических условиях.

256 Результаты исследования подчеркивают важность дальнейшего
257 изучения роли uNK-клеток в механизме аномальных маточных кровотечений
258 у женщин, принимающих МГТ. Углубление знаний в этой области позволит
259 разработать более эффективные и безопасные методы гормональной терапии
260 для женщин в постменопаузе, что в конечном итоге улучшит качество их
261 жизни и приверженность к лечению.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Характеристики групп пациенток, получающих менопаузальную гормональную терапию (МГТ), и контрольной группы.

Table 1. Characteristics of Patient Groups Receiving Menopausal Hormone Therapy (MHT) and the Control Group.

| Показатели Parameters | Группы Groups | | | p- value |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------|
| | Прием МГТ с АМК МНТ users with AUB (n=27) | Прием МГТ без АМК МНТ users without AUB (n=25) | Контрольная Группа Control group (n=23) | |
| Возраст, годы Age, years Me [Q ₁ ; Q ₃] | 52,00 [50,00; 54,00] | 51,00 [50,00; 53,00] | 53,00 [51,00; 54,00] | 0,080 |
| ИМТ, кг\м ² BMI, kg\m ² Me [Q ₁ ; Q ₃] | 24,80 [22,60; 28,15] | 26,90 [24,80; 32,60] | 25,60 [24,35; 27,10] | 0,123 |
| Вес, кг Weight, kg Me [Q ₁ ; Q ₃] | 67,00 [62,00; 77,00] | 70,00 [67,00; 83,00] | 68,00 [64,50; 71,50] | 0,194 |
| Возраст менархе, годы Age at menarche, years Me [Q ₁ ; Q ₃] | 12,00 [12,00; 13,50] | 12,00 [12,00; 13,00] | 12,00 [11,00; 13,50] | 0,946 |
| Постменопауза, годы Postmenopause, years Me [Q ₁ ; Q ₃] | 2,00 [2,00; 3,00] | 2,00 [1,00; 3,00] | 3,00 [2,00; 3,50] | 0,524 |

Примечание: АМК — аномальное маточное кровотечение. ИМТ – индекс массы тела.

Таблица 2. Анализ динамики субпопуляции лимфоцитов эндометрия в зависимости от приема МГТ и наличия аномального маточного кровотечения.
Table 2. Analysis of endometrial lymphocyte subpopulation dynamics depending on MHT use and the presence of abnormal uterine bleeding.

| Показатель Parameters | Группы Groups | | | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Прием МГТ с АМК MHT users with AUB (n=27) | | Прием МГТ без АМК MHT users without AUB (n=25) | | Контрольн ая Группа Control group (n=23) Me [Q ₁ ; Q ₃] |
| | До МГТ Before MHT Me [Q ₁ ; Q ₃] | Спустя 6 месяцев 6 months after MHT Me [Q ₁ ; Q ₃] | До МГТ Before MHT Me [Q ₁ ; Q ₃] | Спустя 6 месяцев 6 months after MHT Me [Q ₁ ; Q ₃] | |
| CD3 ⁺ (Т- лимфоциты), 10 ⁹ /л CD3 ⁺ (T- lymphocytes), 10 ⁹ /L | 3,7 [3,49- 4,07] | 5,85 [5,66- 6,23] | 3,65 [3,22- 4,01] | 3,4 [3,16- 3,86] | 3,3 [3,17- 3,77] |
| p-value | < 0,001 | | 0,148 | | = 0,671 ^a < 0,001 ^b |
| CD3 ⁺ (Т- лимфоциты), % CD3 ⁺ (T- lymphocytes), % | 60,2 [59,15- 64,65] | 77,9 [74,6- 79,5] | 61,4 [55,4- 63,2] | 62,9 [55,2- 65,1] | 54,6 [52,0-61,6] |
| p-value | < 0,001 | | < 0,001 | | = 0,086 ^a < 0,001 ^b |
| CD3 ⁺ /CD16 ⁺ /C D56 ⁺ (Т-клетки NK), 10 ⁹ /л CD3 ⁺ /CD16 ⁺ /C D56 ⁺ (NKT-cells), 10 ⁹ /L | 0,65 [0,31- 0,78] | 1,61 [1,22- 1,90] | 0,41 [0,3-0,61] | 0,45 [0,3-0,74] | 0,34 [0,27- 0,74] |
| p-value | < 0,001 | | 0,029 | | = 0,116 ^a < 0,001 ^b |
| CD3 ⁺ /CD16 ⁺ /C D56 ⁺ | 6,1 [5,2-7,35] | 20,8 [15,55-25] | 4,2 [3,1-7,1] | 4,4 [2,6-6,7] | 4,1 [3,48- 7,2] |

| | | | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------------------------|
| (Т-клетки NK), % CD3 ⁺ /CD16 ⁺ /CD56 ⁺ (NKT-cells), % | | | | | |
| p-value | < 0,001 | | 0,932 | | = 0,671 ^a < 0,001 ^b |
| CD3 ⁻ /CD16 ⁺ /CD56 ⁺ (NK-клетки), 10 ⁹ /л CD3 ⁻ /CD16 ⁺ /CD56 ⁺ (NK-cells), 10 ⁹ /L | 0,69 [0,65- 0,75] | 1,7 [1,46- 1,85] | 0,62 [0,43- 0,79] | 0,79 [0,69- 1,02] | 0,65 [0,45- 0,72] |
| p-value | < 0,001 | | < 0,001 | | = 0,046 ^a < 0,001 ^b |
| CD3 ⁻ /CD16 ⁺ /CD56 ⁺ (NK-клетки), % CD3 ⁻ /CD16 ⁺ /CD56 ⁺ (NK-cells), % | 8,1 [7,1-9,45] | 21,2 [18,4- 23,95] | 8,6 [7,9-10,5] | 11,2 [9,5-13,2] | 7,1 [5,1- 9,95] |
| p-value | < 0,001 | | < 0,001 | | = 0,031 ^a < 0,001 ^b |

Примечание: Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

^a Сравнение показателя между контрольной группой и группой пациенток, принимающих МГТ и без эпизодов АМК спустя 6 месяцев приема МГТ. Используемый метод критерий Краскела-Уоллиса.

^b Сравнение показателя между контрольной группой и группой пациенток, принимающих МГТ и с эпизодами АМК спустя 6 месяцев приема МГТ. Используемый метод критерий Краскела-Уоллиса.

Note: Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

^a Comparison between the control group and the group of patients receiving MHT without episodes of AUB after 6 months of MHT. The Kruskal-Wallis test was used.

^b Comparison between the control group and the group of patients receiving MHT with episodes of AUB after 6 months of MHT. The Kruskal-Wallis test was used.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Сравнение субпопуляций лимфоцитов эндометрия в зависимости от приема МГТ и наличия АМК. Группа 0 – контрольная группа женщин в постменопаузе, не принимающие МГТ; группа 1 – пациентки, принимающие МГТ и без эпизодов АМК спустя 6 месяцев приема МГТ; группа 2 – пациентки, принимающие МГТ и с эпизодами АМК спустя 6 месяцев приема МГТ.

Figure 1. Comparison of endometrial lymphocyte subpopulations depending on MHT use and the presence of abnormal uterine bleeding (AUB). Group 0 — control group of postmenopausal women not receiving MHT; Group 1 — patients receiving MHT without episodes of AUB after 6 months of therapy; Group 2 — patients receiving MHT with episodes of AUB after 6 months of therapy.

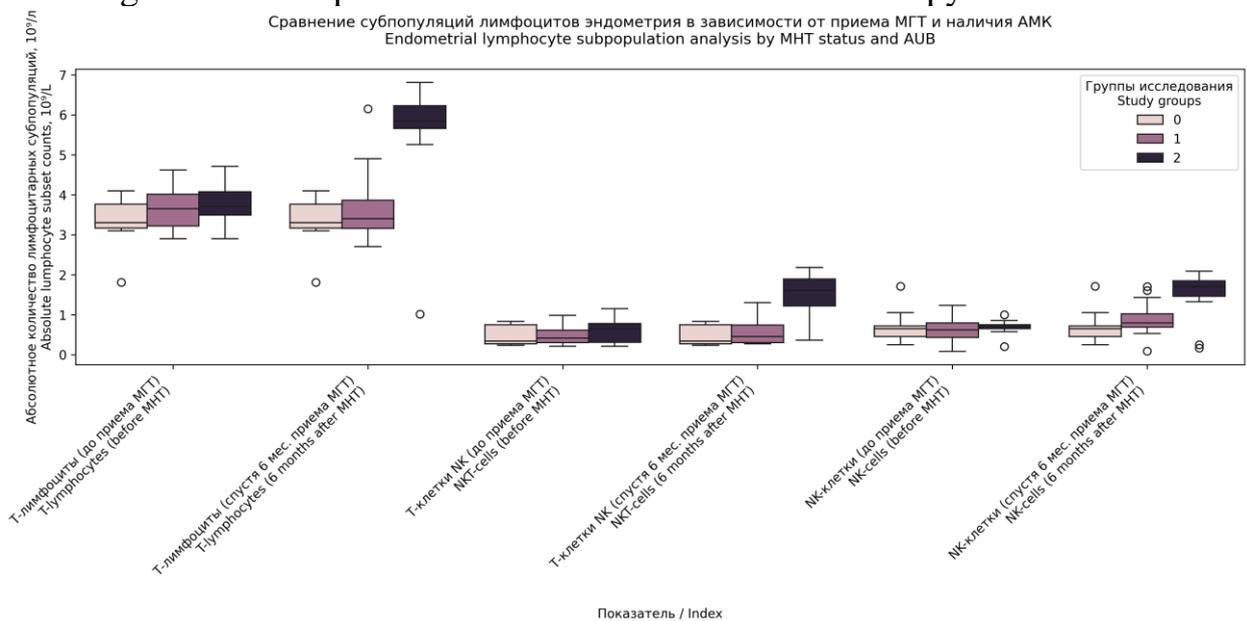


Рисунок 2. Иммуногистохимическое исследование биоптата эндометрия на CD56 (uNK-клетки), увеличение $\times 400$, окрашивание гематоксилином и эозином. Клетки с положительной ИГХ-экспрессией окрашены в характерный коричневый цвет и обозначены стрелками ().

(А), (Б) -до приема МГТ, (В)-эпизод АМК на фоне приема МГТ, (Г)-контрольная группа, не принимающая МГТ, (Д)- спустя 6 месяцев приема МГТ без эпизодов АМК.

Figure 2. Immunohistochemical analysis of endometrial biopsy for CD56 (uNK cells), magnification $\times 400$, staining with hematoxylin and eosin. Cells with positive IHC expression are stained brown and indicated by arrows (). (A), (B) before MHT use, (B) — episode of AUB during MHT use, (Г) — control group not receiving MHT, (Д) — after 6 months of MHT use without episodes of AUB

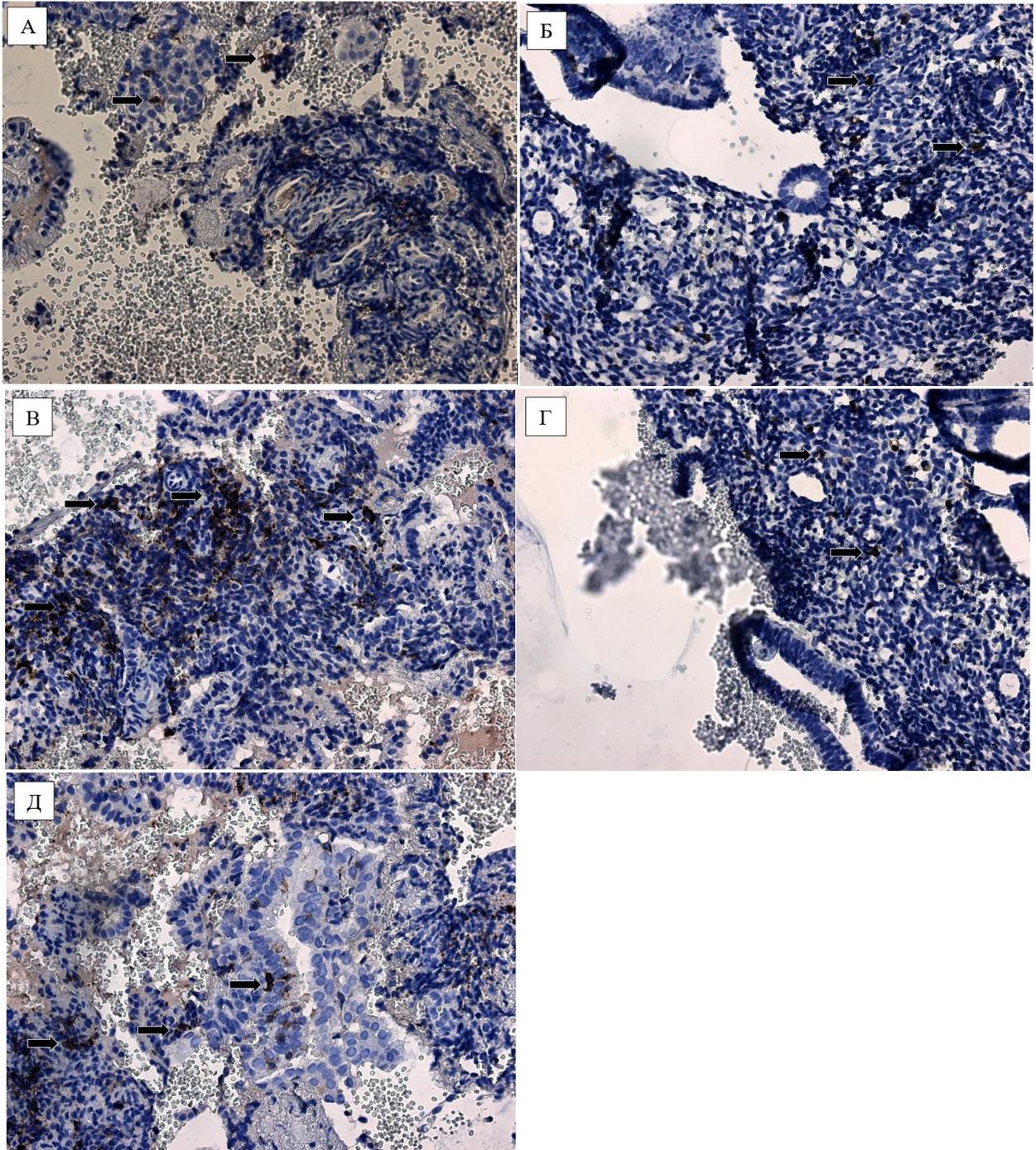
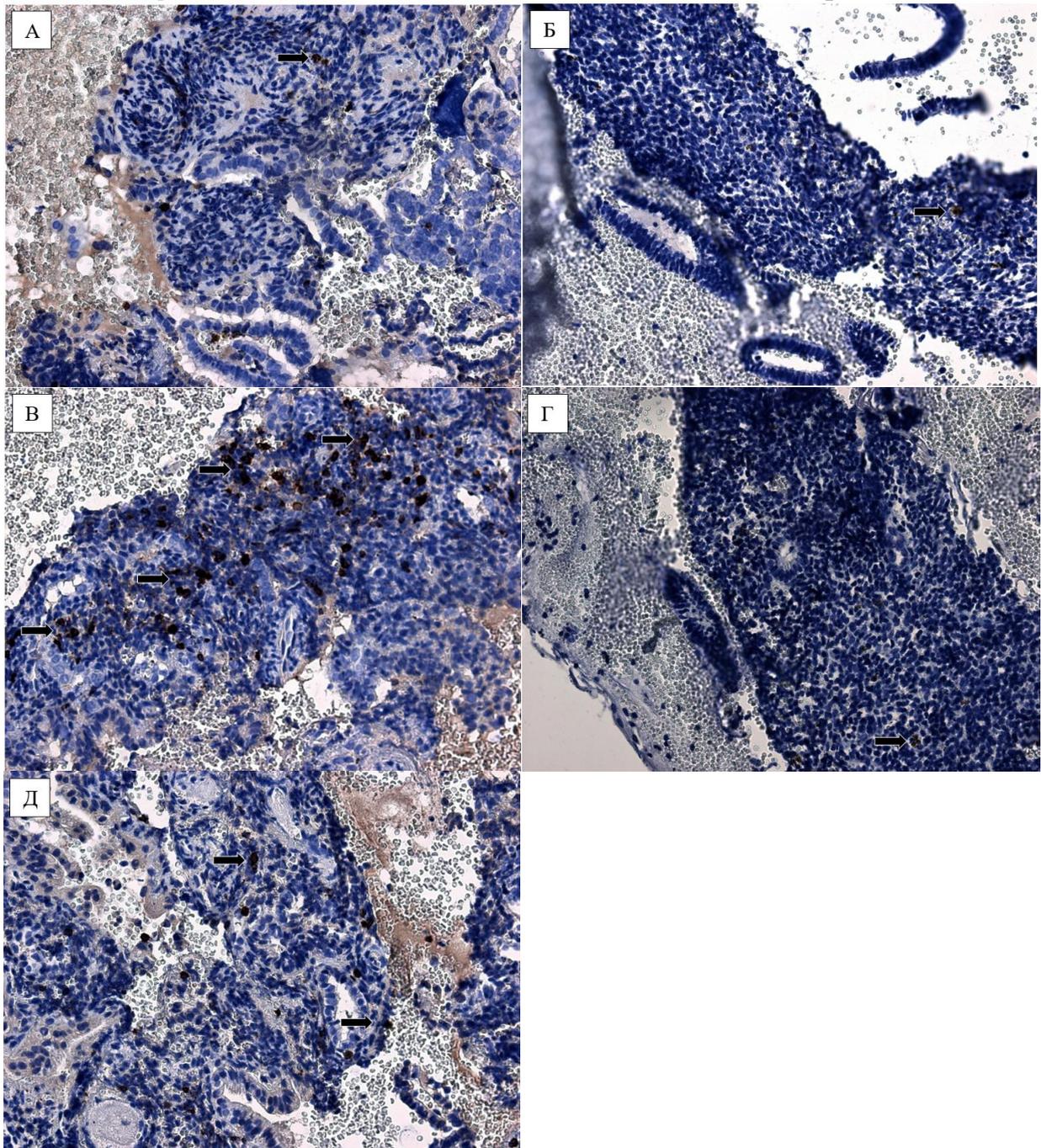


Рисунок 3. Иммуногистохимическое исследование биоптата эндометрия на CD3 (Т-лимфоциты), увеличение $\times 400$, окрашивание гематоксилином и эозином. Клетки с положительной ИГХ-экспрессией окрашены в характерный коричневый цвет и обозначены стрелками ().

(А), (Б) - до приема МГТ, (В)-эпизод АМК на фоне приема МГТ, (Г)- контрольная группа без МГТ, (Д)- спустя 6 месяцев приема МГТ без эпизодов АМК.

Figure 3. Immunohistochemical analysis of endometrial biopsy for CD3 (T-lymphocytes), magnification $\times 400$, staining with hematoxylin and eosin. Cells with positive IHC expression are stained brown and indicated by arrows (). (A), (B) — before MHT use, (B) — episode of AUB during MHT use, (Г) — control group not receiving MHT, (Д) — after 6 months of MHT use without episodes of AUB



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Сафарли Сабина Эльмар кызы – врач акушер-гинеколог, аспирант кафедры акушерства и гинекологии института хирургии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; 117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;
ТЕЛЕФОН: 8(916)580-07-08;
ORCID ID 0009-0001-7966-7486;
e-mail: sabina.safarli000@gmail.com

Sabina E. Safarli — obstetrician and gynecologist, postgraduate student of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Medical Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov str., Moscow, 117513, Russian Federation;
telephone: 8(916)580-07-08;
ORCID ID 0009-0001-7966-7486;
e-mail: sabina.safarli000@gmail.com

Блок 2. Информация об авторах

Доброхотова Юлия Эдуардовна – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии института хирургии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России;
117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;
ORCID ID 0000-0002-7830-2290.

Yulia E. Dobrokhotova — Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University;
1, Ostrovityanov str., Moscow, 117513, Russian Federation

Ильина Ирина Юрьевна – д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии института хирургии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России;
117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;
ORCID ID 0000-0001-8155-8775.

Irina Yu. Ilyina — Dr. Sc. (Med.), Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University;
1, Ostrovityanov str., Moscow, 117513, Russian Federation;

Нариманова Метанат Рафиг кызы – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии института хирургии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России;
117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;
ORCID ID 0000-0003-0677-2952.

Metanat R. Narimanova — С. Sc. (Med.), associate professor of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University;

1, Ostrovityanov str., Moscow, 117513, Russian Federation;

Гришин Игорь Игоревич – д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии института хирургии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России;

117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;

ORCID ID 0000-0001-5839-1858.

Igor I. Grishin — Dr. Sc. (Med.), Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University;

1, Ostrovityanov str., Moscow, 117513, Russian Federation;

Ракша Александр Петрович – д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии и клинической патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, заведующий патологоанатомическим отделением ГБУЗ «ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова ДЗМ» Москва, Россия;

117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;

ORCID ID 0009-0005-7897-5179.

Alexander P. Raksha – Dr. Sc. (Med.), Department of Pathological Anatomy and Clinical Pathological Anatomy, Pirogov Russian National Research Medical University; Head of the Pathological Anatomy Department, Pirogov City Clinical Hospital No. 1;

1, Ostrovityanov str., Moscow, 117513, Russian Federation;

Щербак Екатерина Вадимовна – врач-патологоанатом ГБУЗ «ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова ДЗМ» Москва, Россия;

117049, Россия, г. Москва, Ленинский просп., д.8;

ORCID ID 0009-0006-0346-4523.

Ekaterina V. Scherbak – Pathologist, Pirogov City Clinical Hospital No. 1;

Leninsky Prospect, 8, Moscow, 117049, Russian Federation;

Казиева Милана Давудовна – ассистент кафедры акушерства и гинекологии института хирургии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России;

117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;

ORCID ID 0009-0004-2567-6215.

Milana D. Kazieva — Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University;

1, Ostrovityanov str., Moscow, 117513, Russian Federation.

Азимова Амина Юсуповна – врач акушер-гинеколог, старший лаборант кафедры акушерства и гинекологии института хирургии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России;
117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;
ORCID ID 0000-0001-8528-9648.

Amina Yu. Azimova — obstetrician and gynecologist, senior research assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University;
1, Ostrovityanov str., Moscow, 117513, Russian Federation

Блок 3. Метаданные статьи

РОЛЬ UNK-КЛЕТОК В ПАТОГЕНЕЗЕ АНОМАЛЬНОГО МАТОЧНОГО КРОВОТЕЧЕНИЯ У ЖЕНЩИН, ПРИНИМАЮЩИХ МГТ.

THE ROLE OF UNK-CELLS IN THE PATHOGENESIS OF ABNORMAL UTERINE BLEEDING IN WOMEN RECEIVING MENOPAUSAL HORMONE THERAPY.

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

РОЛЬ UNK-КЛЕТОК ПРИ АМК НА ФОНЕ МГТ
ROLE OF UNK-CELLS IN MHT-RELATED AUB

Ключевые слова: аномальное маточное кровотечение, менопаузальная гормональная терапия, маточные естественные киллеры, лейкоциты, постменопауза.

Keywords: abnormal uterine bleeding, menopausal hormone therapy, uterine natural killer cells, leukocytes, menopause.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 6,

Количество таблиц – 2,

Количество рисунков – 3.

19.04.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

| Порядковый номер ссылки | Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные | ФИО, название публикации и источника на английском | Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi. |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Доброхотова Ю.Э., Ильина И.Ю., Сафарли С.Э. Аномальные маточные кровотечения и кровотечения в постменопаузе на фоне приема менопаузальной гормональной терапии: современные данные. РМЖ. Мать и дитя. 2024;7(3):241–247. | Dobrokhotova Yu.E., Il'ina I.Yu., Safarli S.E. Abnormal uterine bleeding and postmenopausal bleeding with menopausal hormone therapy: current evidence. Russian Journal of Woman and Child Health. 2024;7(3):241–247 (in Russ.). | DOI: 10.32364/2618-8430-2024-7-3-9. |
| 2 | Зайдиева Я.З., Казанцева В.Д. Сравнительный анализ распространенности аномальных маточных кровотечений у женщин в постменопаузе на фоне различной менопаузальной гормональной терапии (систематический обзор). Российский | Zaidieva Ya. Z., Kazantseva V. D. Comparative analysis of the prevalence of abnormal uterine bleeding in postmenopausal women against the background | https://doi.org/10.17116/rosakush20212106151 . |

| | | | |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| | вестник акушера-гинеколога. 2021;21(6):51–58 | of various menopausal hormone therapy (systematic review). Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist = Rossiiskii vestnik akushera-ginekologa. 2021;21(6):51–58. (In Russ.). | |
| 3 | Arbuckle R., Humphrey L., Abraham L., Dennerstein L., Simon J.A., Mirkin S., Bonner N., Walmsley S., Tatlock S., Symonds T. Qualitative cross-cultural exploration of vaginal bleeding/spotting symptoms and impacts associated with hormone therapy in post-menopausal women to inform the development of new patient-reported measurement tools. <i>Maturitas</i> . 2014;78(3):219-27. | | doi: 10.1016/j.maturitas.2014.04.019. |
| 4 | Archer D.F. Endometrial bleeding during hormone therapy: the effect of progestogens // <i>Maturitas</i> . 2007. Т. 57, №1. С. 71-76. | | doi: 10.1016/ j.maturitas.2007.02.022. |
| 5 | Carugno J. Clinical management of vaginal bleeding in postmenopausal women. <i>Climacteric</i> . 2020;23(4):343-349. | | doi: 10.1080/М 13697137.2020.1739642. |

| | | | |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|----------------------------------|
| | | | |
| 6 | Critchley HO.D., Maybin J.A., Armstrong G.M., Williams AR.W. Physiology of the Endometrium and Regulation of Menstruation. <i>Physiol Rev.</i> 2020;100(3):1149-1179. | | doi: 10.1152/physrev.00031.2019. |
| 7 | Dudley A.C., Griffioen A.W. Pathological angiogenesis: mechanisms and therapeutic strategies. <i>Angiogenesis.</i> 2023;26(3):313-347. | | doi: 10.1007/s10456-023-09876-7. |
| 8 | Gasteiger G, Hemmers S, Firth MA, Le Floc'h A, Huse M, Sun JC, Rudensky AY. IL-2-dependent tuning of NK cell sensitivity for target cells is controlled by regulatory T cells. <i>J Exp Med.</i> 2013 Jun 3;210(6):1167-78. | | doi: 10.1084/jem.20122462. |
| 9 | Gu Y., Han F., Xue M., Wang M., Huang Y. The benefits and risks of menopause hormone therapy for the cardiovascular system in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. <i>BMC Womens Health.</i> 2024;24(1):60. | | doi: 10.1186/s12905-023-02788-0. |
| 10 | Hapangama D.K., Bulmer JN. Pathophysiology of heavy menstrual bleeding. <i>Womens Health (Lond).</i> 2016;12(1):3-13. | | doi: 10.2217/whe.15.81. |

| | | | |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------------------------|
| 11 | Hickey M., Ameratunga D., Marino J.L. Unscheduled bleeding in continuous combined hormone therapy users. <i>Maturitas</i> . 2011;70(4):400-3. | | doi: 10.1016/j.maturitas.2011.09.010. |
| 12 | Hickey M., Crewe J., Goodridge J.P., Witt .CS., Fraser I.S., Doherty D., Christiansen FT, Salamonsen LA. Menopausal hormone therapy and irregular endometrial bleeding: a potential role for uterine natural killer cells? <i>J Clin Endocrinol Metab</i> . 2005;90(10):5528-35. | | doi: 10.1210/jc.2005-0688. |
| 13 | Kolatt T.S., Shufaro Y., Mashiach S., Czernobilsky B., Aviel-Ronen S., Apel-Sarid L., Dahan M., Or Y. Revealing the uterine blood vessel network via virtual pathology. <i>Reprod Fertil</i> . 2023;4(1):e220135. | | doi: 10.1530/RAF-22-0135. |
| 14 | Li T, Li RHW, Ng EHY, Yeung WSB, Chiu PCN, Chan RWS. Interleukin 6 at menstruation promotes the proliferation and self-renewal of endometrial mesenchymal stromal/stem cells through the WNT/ β -catenin signaling pathway. <i>Front Immunol</i> . 2024 May 3;15:1378863. | | doi: 10.3389/fimmu.2024.1378863. |
| 15 | Marjoribanks J., Farquhar C., Roberts H., Lethaby A., Lee J. Long-term hormone | | doi: 10.1002/14651858.CD004143.pub5. |

| | | | |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|------------------------------------|
| | therapy for perimenopausal and postmenopausal women. Cochrane Database Syst Rev. 2017;1(1):CD004143. | | |
| 16 | Middelkoop M.A., Don E.E., Hehenkamp WJ.K., Polman N.J., Griffioen A.W., Huirne JA.F. Angiogenesis in abnormal uterine bleeding: a narrative review. Hum Reprod Update. 2023;29(4):457-485. | | doi: 10.1093/humupd/dmad004. |
| 17 | Sriprasert I., Beydoun H., Barnabei V., Nassir R., LaCroix A.Z., Archer D.F. Incidence of endometrial spotting or bleeding during continuous-combined estrogen-progestin therapy in postmenopausal women with and without hypertension. Menopause. 2015;22(10):1067-75. | | doi: 10.1097/GME.0000000000000436. |