

На правах рукописи

СИМОВОНИК Анна Николаевна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ
РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ АДЕНОМИОЗА**

14.01.01 – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Иваново – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России).

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Куценко Ирина Игоревна

доктор медицинских наук, профессор

Могильная Галина Мироновна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры акушерства и гинекологии №1
федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего образования
«Первый Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Унанян Ара Леонидович

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой акушерства и гинекологии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Ставропольский государственный медицинский
университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Аксененко Виктор Алексеевич

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 2018 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д208.028.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 153045, Россия, г. Иваново, ул. Победы 20.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В.Н. Городкова» Минздрава России, сайт: <http://www.niimid.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Панова Ирина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В структуре гинекологической заболеваемости аденомиоз встречается у 12–50 % женщин репродуктивного возраста, причем чаще он диагностируется уже на поздних стадиях (III–IV стадия), когда представляет собой серьезную опасность для здоровья пациенток (Шкляр А.А. и др., 2016; Leyendecker G. et al., 2006; Harada T. et al., 2016). Это связано с отсутствием четких неинвазивных критериев клинической и инструментальной диагностики начальных степеней аденомиоза.

В аспекте разработки проблемы ранней диагностики аденомиоза наибольший интерес представляют имеющиеся в литературе сведения о роли в развитии этого заболевания «переходной зоны» матки. Термин «переходная зона» введен после обнаружения при МРТ функциональной зоны, расположенной между эндометрием и миометрием (Hricak H. et al., 1983). Из инструментальных методов диагностики аденомиоза приоритетным является трансвагинальная эхография, ввиду ее доступности, неинвазивности и низкой стоимости. Однако информативность УЗИ для выявления аденомиоза колеблется, по данным разных авторов, от 20 до 86 %, что связано с низкой чувствительностью метода для аденомиоза I степени (Мельников М.В. и др., 2012; Тапильская Н.И. и др., 2015; Поморцев А.В. и др., 2015; Саидданеш Ш.Ф. и др., 2017). МРТ-диагностика аденомиоза при высокой стоимости и ограниченной доступности имеет информативность 42–64 %, так как на ранних стадиях аденомиоза данные МРТ малоинформативны (Шкляр А.А. и др., 2015; Agostinho L.I.R. et al., 2016; Chapron C. et al., 2017).

Гистероскопия – инвазивный метод, разброс чувствительности которого для диагностики аденомиоза, по данным разных авторов, составляет от 32,9 % до 91,4 %, в связи с низкой информативностью при ранних степенях заболевания (Непомнящих Л.М., 2012; Ключаров И.В. и др., 2013; Ищенко А.И. и др., 2013; Оразов М.Р., 2013; Саидданеш Ш.Ф. и др., 2017).

С учетом вышесказанного, разработка проблемы ранней неинвазивной диагностики аденомиоза, когда патологический процесс еще не распространен за пределы границ «переходной зоны», представляет значимый научно-практический интерес.

Степень разработанности. Одной из причин аденомиоза исследователи считают отсутствие условной базальной мембраны между эндометрием и миометрием или наличие в ней исходных/приобретенных дефектов, что позволяет эндометрию врастать в зону миометрия (Зотова О.А. и др., 2013; Давыдов А.И.

и др., 2016; Kuligowska E. et al., 2005). В исследовании C. Reinhold et al. (1999) показано, что аденомиоз на МРТ может быть с высокой точностью диагностирован при толщине «переходной зоны» от 12 мм или более. По данным Agostincho L.I.R. et al. (2016), при аденомиозе МРТ толщина «переходной зоны» составляет 8–12 мм, в связи с чем верификация диагноза требует привлечения дополнительных критериев. Отдельные авторы к УЗИ критериям аденомиоза относят утолщение «переходной зоны» более 8 мм (Барто Р.А., 2017) не уточняя при этом степень распространения процесса. Однако толщина «переходной зоны» 8–12 мм соответствует поражению практически половины наружного миометрия, что не позволяет использовать этот критерий для диагностики аденомиоза I степени.

Морфологическое исследование, несмотря на его инвазивность, является самым достоверным методом диагностики аденомиоза (Адамян Л.В. и др., 2013). Наряду с морфологическими исследованиями значимую роль в диагностике аденомиоза играют иммуногистохимические методы, которые подтверждают наличие дегенерации межклеточного матрикса и активации процессов инвазии и метастазирования эндометрия в миометрий, сопровождающихся активным, но неполноценным неоангиогенезом (Gargett С.Е. et al., 2007; 2011). Однако усиление экспрессии ангиогенных факторов не специфично для аденомиоза. В этой связи логически возникает вопрос о функциональном статусе ядер эндометрия и миометрия (определяющих пролиферативные и инвазивные свойства тканей), в том числе и в области «переходной зоны» у здоровых женщин, и в условиях развившегося аденомиоза.

В последние годы появились единичные работы, посвященные изучению кровотока в бассейне маточных и яичниковых артерий при аденомиозе (Арутюнян А.Ф., 2013; Джобава Э.М. и др., 2014; Есипова И.А., 2015; Тухбатуллин М.Г. и др., 2015; Nguyen M.S. et al., 2013), и попытки сопоставить данные УЗИ с гистологическими исследованиями при аденомиозе (Арутюнян А.Ф. и др., 2013; Алдангарова Г.А. и др., 2016).

В связи с этим, мы обратились к углубленному изучению морфологического и иммуногистохимического состояния эутопического эндометрия, наружного миометрия и тканей «переходной зоны» в сравнительном аспекте применительно к здоровым женщинам и при различных степенях аденомиоза, так как предположили, что эти морфологические особенности тканей отражаются на УЗ визуализации «переходной зоны» и особенностях кровоснабжения матки даже при I степени аденомиоза. Вышесказанное обусловило целесообразность проведения комплексных клинических и морфологических исследова-

ний дисфункций, наблюдаемых в «переходной зоне», данные которых позволят уточнить патогенетические аспекты заболевания и откроют перспективу оптимизации ранней неинвазивной диагностики аденомиоза.

Цель исследования: оптимизация ранней диагностики аденомиоза путем разработки клиничко-морфологических критериев, связанных с дисфункцией «переходной зоны».

Задачи:

1. Оценить клинические особенности и информативность инструментальных методов в диагностике различных степеней распространения аденомиоза.

2. Определить морфологические, морфометрические и иммуногистохимические особенности в тканях «переходной зоны» матки, эутопическом эндометрии, наружном миометрии и цервикальной слизи у условно здоровых женщин и у пациенток с аденомиозом различных степеней.

3. Оценить особенности ультразвуковой визуализации «переходной зоны» и функциональное состояние кровотока в бассейне маточной артерии при аденомиозе различных степеней.

4. Установить коррелятивные взаимосвязи между ультразвуковыми показателями и параметрами морфометрических и иммуногистохимических маркеров в «переходной зоне» матки, эутопическом и эктопическом эндометрии, наружном миометрии и цервикальной слизи при аденомиозе различных степеней.

5. На основании полученных коррелятивных взаимосвязей разработать метод ранней неинвазивной диагностики аденомиоза и оценить его диагностическую информативность.

Научная новизна

В проведенном исследовании впервые установлено, что только у пациенток с аденомиозом I степени в 100 % случаев при УЗИ визуализируется «переходная зона» с $M_0 = 5,2$ мм. Впервые на основании изучения параметров гемодинамики в маточной артерии и ее ветвях при диффузном аденомиозе разных степеней показано, что при аденомиозе, независимо от степени распространения, определяется более высокое сопротивление кровотоку в бассейне маточных артерий по сравнению с таковым у здоровых женщин, что свидетельствует об уменьшении у больных аденомиозом интенсивности артериального кровообращения в матке.

Проведенный комплексный морфометрический и иммуногистохимический анализ «переходной зоны» выявил, что у здоровых женщин выраженные отличия эутопического эндометрия и наружного миометрия с аналогичными тканями «переходной зоны» по морфологическим признакам отсутствуют, и подтвердил ее

тканевую гетерогенность. Это позволяет утверждать, что «переходная зона», не типизируемая в условиях УЗИ и МРТ, является функциональной зоной.

Впервые проведенное комплексное морфологическое и морфометрическое исследование тканей матки при аденомиозе разных степеней свидетельствуют о том, что эутопический эндометрий и особенно эндометриальная порция «переходной зоны» обладают повышенной способностью к пролиферации и инвазивной активности, а преобладание в тканях миометрия «переходной зоны» аморфного вещества уже при I степени аденомиоза благоприятствует процессу инвазии эндометрия в миометрий. Показатели кариометрии внутреннего миометрия доказывают наличие гиперпролиферативной активности гладких миоцитов, что обуславливает развитие гиперплазии мышечной ткани матки по мере инвазии эндометриальных очагов.

Впервые установлено, что при аденомиозе даже I степени в области миометрия происходит снижение объема экстрацеллюлярного фибриллярного компонента, и наиболее выраженное для «переходной зоны». Повышение экспрессии коллагена IV типа при аденомиозе, выявляемое в зоне внутреннего миометрия уже на ранних стадиях связано с патологическим избыточным ангиогенезом, сопровождающим процесс инвазии и роста участков эктопического эндометрия.

Показано, что уже при I степени распространения аденомиоза за счет дисбаланса между активностью антиангиогенного и проангиогенного факторов роста в эндометрии изменяется аутокринная регуляция ангиогенеза и усиливается пролиферативная активность сосудов. Это обуславливает избыточную экспрессию VEGF-A в цервикальной слизи.

Впервые на основании установленных изменений морфометрических и иммуногистохимических параметров тканей «переходной зоны» для выявления скрытых возможностей изменения маточной гемодинамики у пациенток с аденомиозом различных степеней разработана ультразвуковая функциональная нагрузочная проба с вычислением КФП в маточной артерии. Корреляционный анализ КФП и параметров, полученных в результате морфо- и иммуногистохимического анализа миометрия и эндометрия «переходной зоны» матки у больных аденомиозом различной степени распространения показал, что сильная корреляционная статистически значимая связь имеется только при аденомиозе I степени, что позволило разработать метод ранней неинвазивной диагностики аденомиоза, включающий совокупность показателей, отражающих основные патогенетические звенья развития заболевания.

Доказано, что чувствительность и специфичность предложенного нами неинвазивного метода диагностики аденомиоза I степени достоверно не отли-

чается от информативности шеститочечной биопсии с гистологическим исследованием миометрия.

Теоретическое и практическое значение работы. На основании проведенных исследований углублены и расширены представления о патогенезе аденомиоза.

В области «переходной зоны» матки подробно изучены морфологические, морфометрические и иммуногистохимические показатели, отражающие избыточный пролиферативный потенциал эутопического эндометрия и эндометриальной порции «переходной зоны», снижение объема экстрацеллюлярного фибриллярного компонента во внутреннем миометрии с патологическим избыточным ангиогенезом, сопровождающим процесс инвазии и роста участков эктопического эндометрия даже при I степени распространения аденомиоза.

В результате проведенного комплексного исследования практическому здравоохранению предложен эффективный метод ранней неинвазивной диагностики аденомиоза, включающий совокупность ультразвуковых и иммуногистохимических параметров. По результатам исследования получена приоритетная справка на полезную модель «Способ ранней неинвазивной диагностики аденомиоза» № 2017 118669 от 29.05.2017.

Методология и методы исследования. Исследования проводились в гинекологических отделениях и женских консультациях на клинических базах кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии (БАГК ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Перинатального центра ГБУЗ «ККБ № 2», МБУЗ «Родильный дом» г. Краснодара, женских консультаций № 4, № 5 г. Краснодара) а также на кафедре гистологии с эмбриологией ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России с 2014 по 2017 гг. в несколько этапов.

На первом этапе с целью оценки информативности стандартно применяющихся методов для выявления аденомиоза ретроспективно было проанализировано 456 историй болезни пациенток, подвергшихся гистерэктомии, которым на основании клиничко-инструментального и/или гистологического исследования был диагностирован диффузный аденомиоз различных степеней.

На втором этапе проспективно были обследованы 142 пациентки с гистологически подтвержденным аденомиозом.

Критериями включения послужили:

- возраст пациенток от 18 до 50 лет;
- наличие диффузного аденомиоза, подтвержденного инструментальными методами и результатами гистологического исследования;

- отсутствие острой и другой хронической гинекологической патологии в течение года до проведения исследования;

- отсутствие гормонотерапии в течение одного года.

Критериями исключения пациенток послужили:

- возраст пациенток менее 18 лет, более 50 лет;
- другие локализации эндометриоза, очаговая форма аденомиоза, миома матки;

- наличие или обострение хронической экстрагенитальной патологии в стадии субкомпенсации и декомпенсации в течение года до проведения исследования;

- отказ от участия в исследовании.

Прошедшие по всем критериям 142 пациентки были разделены на 3 клинические группы в зависимости от степени распространения аденомиоза: 1 группа (n = 46) – аденомиоз I степени, 2 группа (n = 49) – аденомиоз II степени, 3 группа (n = 47) – аденомиоз III степени. Контрольные группы: 4 группа (контроль-1) – 35 условно здоровых женщин и 5 группа (контроль-2) – аутопсийный материал от условно здоровых женщин (25 случаев).

На третьем этапе обследовано 87 больных (6 группа) с целью оценки информативности разработанного метода ранней неинвазивной диагностики аденомиоза.

Помимо стандартных клиничко-лабораторных исследований (сбора жалоб, анамнеза, оценки объективного статуса, бимануального влагалищного и ультразвукового исследования) всем пациенткам оценивали гормональный статус. Исследование проводилось методом ИФА с использованием реагентов 100-02 Стероид ИФА-прогестерон № 100-03, № 100-05 Гонадотропин ИФА-ЛГ № 100-06 Гонадотропин ИФА-ФСГ, Estradiol ELISA KIT- 2693 (производителей компании «Алкор Био», «DRG»). Определялись фолликулостимулирующий, лютеинизирующий гормоны, эстрадиол и прогестерон на 2–3 день цикла и во вторую фазу (21–23 день цикла).

Проводилось УЗИ с измерением области «переходной зоны» и применением ЦДК с последующей качественной оценкой кривых скоростей кровотока в бассейне маточной артерии на аппаратах «Aloka 4000».

При гистероскопии на 7–8 день цикла (гистероскоп фирмы Karl Storz (Германия) выполняли пункционную шеститочечную биопсию миометрия с помощью иглы Bard-Monoparty (Германия) с длиной режущей части 19 мм.

Проведен морфометрический анализ тканей матки в группах больных аденомиозом и 5 группе (контроль-2). Исследованию подвергались:

- **эутопический эндометрий** – функциональный слой и часть базального слоя эндометрия;

- «переходная зона»:

- **эндометриальная порция** – участок, граничащий с внутренним миометрием и включающий в себя нижнюю часть базального слоя, представленного донными частями эндометриальных желез, цитогенной стромой и внеклеточным матриксом;

- **миометриальная порция** – внутренние гладкомышечные клетки, прилегающие к базальному слою эндометрия;

- **наружный миометрий** – силовой миометрий матки – гладкомышечные клетки с элементами окружающей их цитогенной стромы и внеклеточным матриксом.

Полученный материал фиксировали в 10 % формалине с последующей заливкой в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, Маллори, Массону, а также пикросириусом красным с последующим использованием поляризационной микроскопии.

Иммуногистохимическое исследование осуществляли по стандартному протоколу с использованием моноклональных антител. Для выявления коллагена I типа использовали антитела ab 34710, Abcam, Англия; для коллагена IV типа – ab 6586, Abcam, Англия. Для выявления экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-A) использовали антитела anti VEGF antibody (1 : 100, ab 46154 Abcam, Англия). Для количественного анализа использовали программу Scion Image с целью определения оптической плотности экспрессии данного маркера. Для характеристики ядер цитогенной стромы эндометрия и миометрия использовали реакцию Фельгена. Полученные с помощью цифровой камеры для микроскопии DCM 310 микрофотографии в tiff-формате подвергали компьютерной морфометрии. Оптическую плотность ядер измеряли виртуальным зондом постоянных размеров с использованием параметра «Optical densiti» программы Scion Corporation. В микропрепаратах, окрашенных по Ван-Гизону, измеряли объем ядерной массы. Для оценки степени организованности изученных структурных компонентов использовали показатель энтропии (Автандилов Г.Г., 1990).

На основе статистической обработки материала была разработана и выполнена доплерометрическая функциональная нагрузочная проба.

Статистическая обработка данных выполнена на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel». Все полученные количественные данные обработаны методом вариационной статистики. Каче-

ственные данные представлены в виде показателей частот (%). Для оценки значимости межгрупповых различий применяли тест Стьюдента, где $p < 0,05$ принимали как статистически достоверное. Коэффициент корреляции и его достоверность рассчитывали по Браве-Пирсон.

Положения, выносимые на защиту:

1. Эутопический эндометрий (преимущественно в эндометриальной порции «переходной зоны») при диффузном аденомиозе I степени обладает повышенной способностью к инвазивной активности. Преобладание аморфного вещества в миометрии «переходной зоны» способствует инвазии эндометрия в миометрий. Наличие плеоморфизма ядер гладких миоцитов «переходной зоны» определяет развитие гиперплазии мышечной ткани матки по мере миграции и инвазии эндометриальных очагов и сосудов.

2. При аденомиозе I степени ультразвуковая визуализация «переходной зоны» и высокорезистентный кровоток в бассейне маточных артерий связаны с морфологическими изменениями с области «переходной зоны» (избыточный пролиферативный потенциал тканей, патологический неоангиогенез и коллаgenoобразование, превалирование аморфного компонента тканей).

3. Ультразвуковая визуализация «переходной зоны» более 5 мм является одним из эхографических критериев аденомиоза I степени. Применение функциональной нагрузочной пробы при доплерометрии в бассейне маточных сосудов повышает специфичность и чувствительность ультразвуковой диагностики. Совокупность ультразвуковых параметров и определение уровня экспрессии VEGF-A в цервикальной слизи служит специфичным неинвазивным методом диагностики аденомиоза I степени.

Личное участие автора. Диссертационная работа представляет самостоятельный труд автора. Автором самостоятельно проведен анализ современной литературы, осуществлен отбор пациенток в группы, их клиническое обследование. Была выполнена систематизация, статистико-математическая обработка полученных результатов, их анализ и описание; сформулированы выводы, практические рекомендации.

Степень достоверности и апробация работы. Научные положения диссертации обеспечены эмпирической базой, опирающейся на теоретический и практический материал, собранный автором. Достоверность результатов исследования подтверждена достаточным количеством клинического материала. Методологически правильно использован широкий спектр современных клинико-лабораторных исследований. Первичная статистическая обработка полученных данных выполнена автором с помощью методов описательной статистики.

Материалы диссертации были представлены на Межрегиональной научно-практической конференции «Амбулаторная акушерско-гинекологическая помощь в сохранении репродуктивного здоровья» (Краснодар, 2017); Региональной междисциплинарной научно-практической конференции «Современные инновации в здравоохранении» (Краснодар, 2017); Межрегиональной научно-практической конференции «Современные медицинские технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (Краснодар, 2017); X Юбилейном региональном научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Геленджик, 2017); X Общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и конверсии» (Москва, 2017); XVIII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2017). Результаты исследования были включены в региональный проект У.М.Н.И.К. 2016 и 2017 гг.

Полученные результаты внедрены в практику работы гинекологических отделений Базовой акушерско-гинекологической клиники ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Перинатального центра ГБУЗ «ККБ № 2», МБУЗ «Родильный дом» и женских консультаций № 4, № 5 г. Краснодара и используются в учебном процессе студентов, ординаторов, аспирантов на кафедрах акушерства, гинекологии и перинатологии и гистологии с эмбриологией ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 7 научных работ, из них 5 – в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, заключения, списка сокращений, приложений и списка литературы, который содержит 88 отечественных работ и 112 зарубежных. Работа изложена на 172 страницах машинописного текста. Диссертация иллюстрирована 39 таблицами и 23 рисунками и содержит 1 приложение.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Результаты исследования и их обсуждение. Наиболее частыми симптомами аденомиоза явились дисменорея и геморрагический синдром, тяжесть которых прогрессировала по мере увеличения степени распространения заболевания. При этом аденомиоз I степени (1 группа) характеризовался наличием дисменореи легкой или средней степени (73,9 %), кровомазания до и после менструации (76 %), бесплодия (43,4 %), что подтверждает данные литературы о малосимптомности и неспецифичности клинической картины.

Обращало на себя внимание то, что показатели соматической заболеваемости (ЖДА, гепатохолециститы, эндокринная патология) у пациенток 1 группы не имели статистически значимого отличия от 4 группы (контроль-1), тогда

как пациентки 2 и 3 групп показали статистически значимую разницу как по сравнению с 4 и 1 группами. Возможно, это связано с более молодым возрастом пациенток 1 группы.

В гинекологическом анамнезе у всех пациенток с аденомиозом отмечена высокая частота хронического метроэндометрита и/или сальпингоофорита – 135 пациенток (95 %). Однако по результатам ПЦР-диагностики, посевов и гистологического исследования соскобов эндометрия и пунктатов миометрия диагноз «хронический метроэндометрит» не подтвердился ни у одной пациентки.

Общими гормональными изменениями являлись относительная гиперэстрогемия и снижение уровня прогестерона, наблюдаемое у пациенток даже с I степенью аденомиоза (1 группа – $26,8 \pm 2,35$ нмоль/л, 2 группа – $15,9 \pm 2,13$ нмоль/л и 3 группа – $12,8 \pm 5,87$ нмоль/л, против $43,2 \pm 3,3$ нмоль/л в 4 группе (контроль-1), ($p < 0,05$). Эти данные подтверждают дисгормональный генез аденомиоза, но в связи с их непатогномоничностью не могут служить критерием верификации данного заболевания.

По данным ультразвукового исследования, зона сниженной эхогенности, примыкающая к эндометрию, («переходная зона») была обнаружена у всех пациенток 1 группы при толщине $5,2 \pm 1,9$ мм ($M_0 = 5,2$ мм), тогда как во 2 группе она визуализировалась у 79,6 % пациенток, толщина ее возрастала до $12,4 \pm 2,6$ мм ($M_0 = 10$ мм), в 3 группе «переходная зона» не визуализировалась («размывалась») в связи с выраженным распространением эндометриоидных очагов и гипертрофией наружного миометрия.

Оценка функционального состояния кровотока в бассейне маточной артерии на основании изучения параметров гемодинамики показала, что при аденомиозе, независимо от степени распространения, определялось статистически значимое увеличение сопротивления кровотоку в бассейне маточных артерий по сравнению с таковым у здоровых женщин, что свидетельствует об уменьшении у больных аденомиозом интенсивности артериального кровообращения в матке. При этом у пациенток 1 группы достоверные различия IR наблюдались в маточных артериях ($IR_m 0,92 \pm 0,04$ против $IR_m 0,85 \pm 0,04$ в 4 группе (контроль-1), $p < 0,05$), у пациенток со второй степенью аденомиоза (2 группа) – в маточных и аркуатных ($IR_m 0,95 \pm 0,04$, $IR_a 0,73 \pm 0,01$ против $IR_m 0,85 \pm 0,04$, $IR_a 0,66 \pm 0,03$ в 4 группе (контроль-1), $p < 0,05$). При аденомиозе III степени (3 группа) выявлялось максимальное нарушение кровотока во всем бассейне маточных артерий ($IR_m 0,98 \pm 0,01$, $IR_a 0,68 \pm 0,05$, $IR_r 0,60 \pm 0,03$, $IR_b 0,58 \pm 0,03$ против $IR_m 0,85 \pm 0,04$, $IR_a 0,66 \pm 0,03$, $IR_r 0,52 \pm 0,01$, $IR_b 0,42 \pm 0,05$ в 4 группе (контроль-1), $p < 0,05$) для всех показателей (рисунок 1).

Проведенный морфологический, морфометрический и иммуногистохимический анализ тканей матки в аутопсийном материале группы 5 (контроль-2) в области «переходной зоны сравнительно с НМ и ЭЭ показал тканевую гетеро-

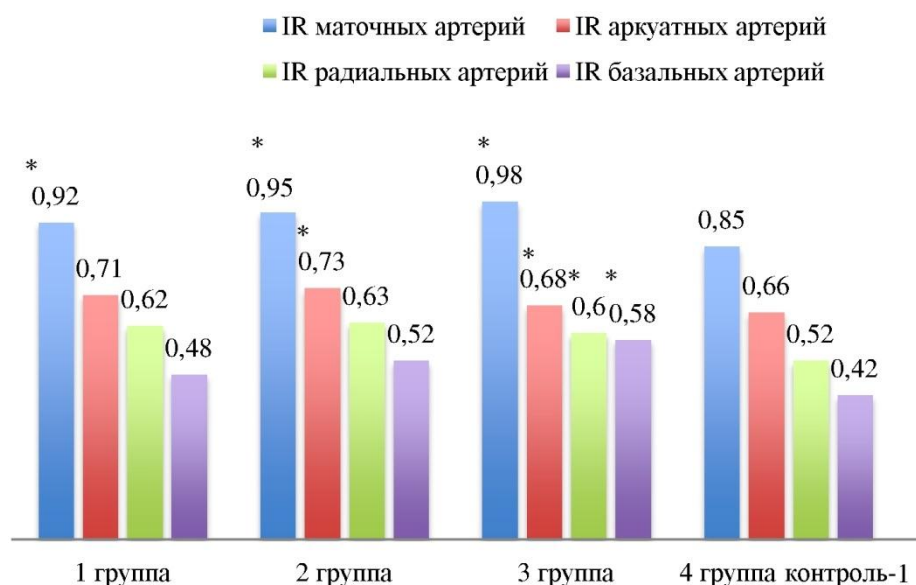


Рисунок 1 – Индекс резистентности (IR) у здоровых женщин и пациенток с аденомиозом:

* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей IR у пациенток с аденомиозом различных степеней по сравнению со средними значениями аналогичных показателей у условно здоровых женщин.

генность «переходной зоны», где каждый из элементов влияет на структурную организацию. Динамичность статуса эндометриальной порции «переходной зоны» по отношению к ЭЭ подтверждалась лишь увеличением энтропии. ВМ по морфологическим чертам соответствовал наружному, за исключением более высокого ядерно-цитоплазматического соотношения и более высокой оптической плотности. В зоне ВМ также имело место статистически значимое различие для энтропии ($p < 0,001$).

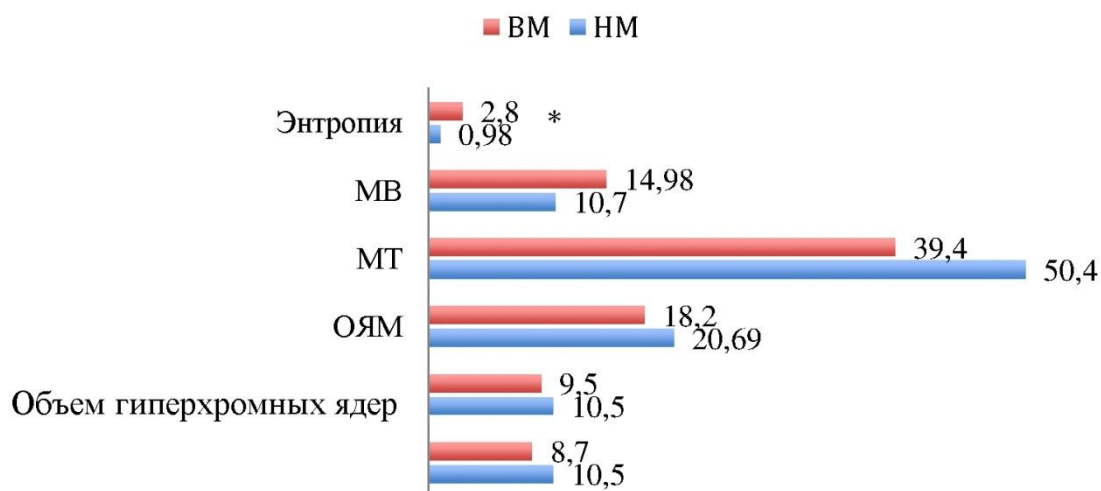


Рисунок 2 – Морфометрическая характеристика ядер наружного миометрия и миометрия «переходной зоны» в 5 группе (контроль-2): * – соответствует статистически значимому

различию средних значений показателей внутреннего миометрия (ВМ) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей наружного миометрия (НМ) в 5 группе

Это позволяет утверждать, что «переходная зона», нетипируемая в условиях УЗИ у здоровых женщин, является функциональной и осуществляет некую «барьерную функцию».

Проведенное морфологическое и морфометрическое исследование тканей матки при аденомиозе разных степеней (1, 2 и 3 группы) свидетельствует о том, что ЭЭ и ЭП характеризуются статистически значимым повышением коэффициента эллиптичности и нарастанием оптической плотности ядер, выше уровня контроля-2 (5 группа), что обуславливает повышенную способность эндометрия к пролиферации и, следовательно, к инвазивной активности.

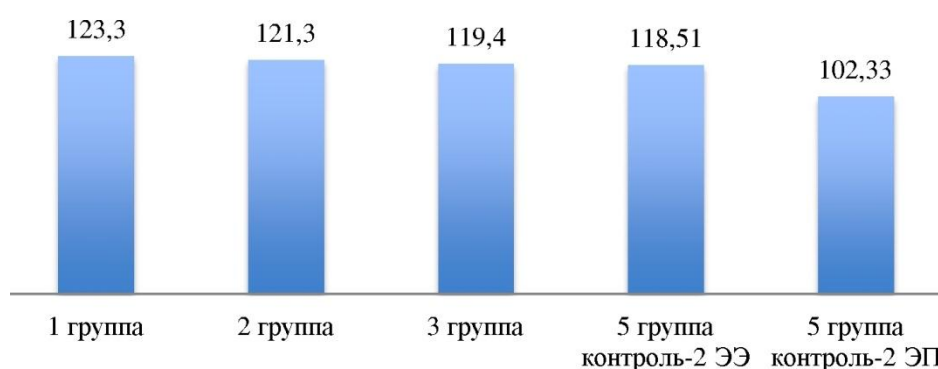


Рисунок 3 – Показатели оптической плотности эутопического эндометрия (ЭЭ) и эндометрия «переходной зоны» (ЭП) при аденомиозе

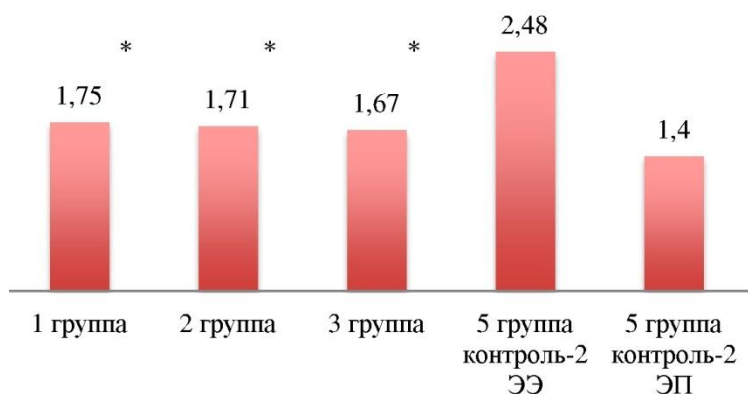


Рисунок 4 – Показатели эллиптичности эутопического эндометрия (ЭЭ) и эндометрия «переходной зоны» (ЭП) при аденомиозе: * – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей эллиптичности эндометрия «переходной зоны» (ЭП) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 5 группе (контроль-2)

Преобладание в тканях миометрия «переходной зоны» аморфного вещества благоприятствует процессу инвазии эндометрия в миометрий. При этом даже на ранних стадиях аденомиоза (1 группа) ядра гладких миоцитов «пере-

ходной зоны» обнаруживают эффект плеоморфизма, и средний диаметр ядер оказывается ниже уровня контроля – 2 (5 группа). Выявленное для этих ядер увеличение индекса ядерной симметрии можно интерпретировать как молекулярный предиктор пролиферативной активности, что в итоге приводит к гиперплазии мышечной ткани матки по мере инвазии эндометриальных очагов.

Кроме того, во всех клинических группах пациенток с аденомиозом начиная с I степени распространения (1 группа), в области ВМ изменяется соотношении объема соединительной ткани, окружающей мышечные группы. По сравнению с контролем – 2 (5 группа), при аденомиозе в области «переходной зоны» происходит снижение объема экстрацеллюлярного фибриллярного компонента.

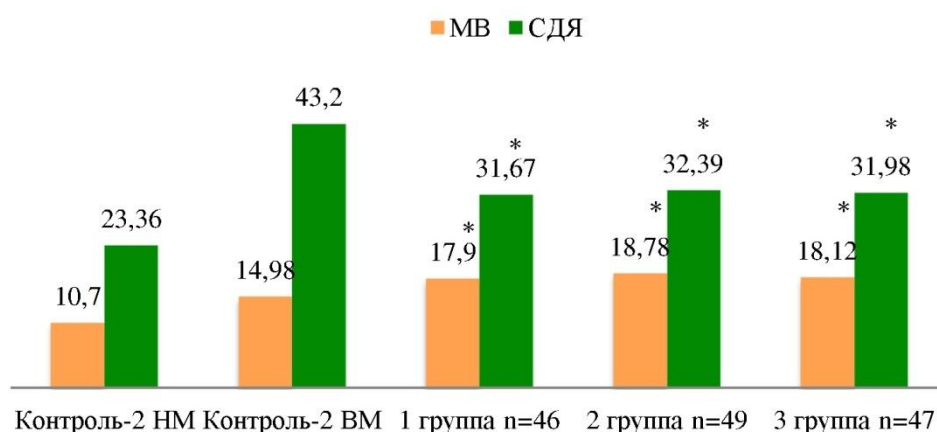


Рисунок 5 – Морфометрическая характеристика внутреннего миометрия различных стадий аденомиоза по сравнению с наружным и внутренним миометрием 5 группы (контроль-2): * – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей внутреннего миометрия (ВМ) у пациенток с аденомиозом по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 5 группе (контроль-2)

Повышение экспрессии коллагена IV типа при аденомиозе, выявляемое в зоне ВМ даже у пациенток 1 группы, связано с патологически избыточным ангиогенезом, сопровождающим процесс инвазии и роста участков эктопического эндометрия.

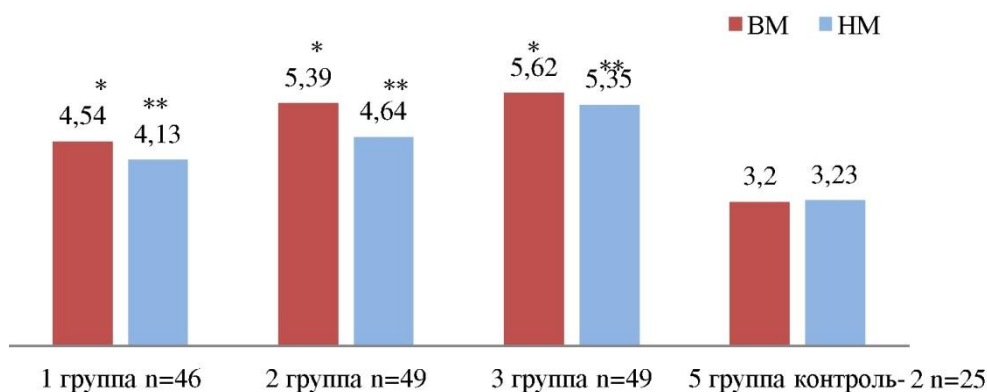


Рисунок 6 – Показатели экспрессии коллагена IV типа при аденомиозе: * – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей ВМ в 5 группе по сравнению со средними значениями аналогичных показателей НМ в 5 группе;

** – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей при аденомиозе по сравнению со средними значениями аналогичных показателей НМ в 5 группе

Иммуногистохимическое выявление VEGF-A показало, что при наличии аденомиоза экспрессия этого фактора регистрируется максимально в эпителиоцитах эндометриальных желез «переходной зоны» и очагах эктопического эндометрия, а также и в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов даже при аденомиозе первой степени (1 группа). Как известно, при адекватной пролиферативной активности эндометрия ангиогенез протекает упорядоченно и с умеренной интенсивностью. Избыточная экспрессия VEGF-A, полученная в нашем исследовании, включает эндотелиальные клетки в цикл гиперактивной пролиферации, миграции, организации тубул и изменяет характер ангиогенеза, формируя образование незрелых кровеносных сосудов.

Проведенный корреляционный анализ показателей, характеризующих пролиферативные свойства тканей (энтропия ВМ и средний диаметр ядер эндометрия «переходной зоны»), величины экспрессии соединительнотканых компонентов (коллаген I и IV типов), а также количественных характеристик факторов, отражающих интенсивность ангиогенеза (VEGF-A) в ЭП с параметрами, определяющими резистентность кровотока у обследуемых пациенток, выявил то, что избыточная пролиферативная активность тканей, коллагенообразование и неоангиогенез имеют статистически значимую сильную положительную корреляционную связь во всех клинических группах больных аденомиозом.

Как известно, перфузия миометрия зависит от нескольких параметров, наиболее важные из которых – перфузионное давление и резистентность сосудистого русла. Благодаря механизмам ауторегуляции, маточная сосудистая сеть поддерживает перфузию миометрия и эндометрия в пределах очень узкого диапазона колебаний. Исходя из результатов корреляционного анализа, мы предположили, что микрососуды в зоне миометрия при распространении аденомиоза прогрессивно задействовали свой вазодилататорный резерв и утратили возможность к открытию дополнительных артериовенозных шунтов. Поэтому стимуляция маточных сосудов нагрузка на них при распространенном аденомиозе не приведёт к увеличению кровотока в той степени, в какой он будет увеличиваться в миометрии пациенток с ранними степенями аденомиоза, где, вероятно, сохранился резерв миомерального кровотока. Эти различия составляют патофизиологическую основу предложенной нами нагрузочной функциональной пробы для оптимизации критериев ультразвуковой диагностики аденомиоза ранних степеней.

Проба заключалась в следующем: после измерения IR в маточной артерии в горизонтальном положении пациентке предлагалось пять раз привести ноги, согнутые в коленных суставах к груди, формируя угол в 90 градусов, после чего

проводилось повторное измерение IR (IR_{1ma}). Вычисляли коэффициент нагрузочной пробы (КФП), как отношение разницы между исходным IR_{ma} и IR_{1ma} (результат, полученный после проведения функциональной пробы) к исходному IR_{ma} , умноженному на 10.

$$КФП = \frac{IR_{ma} - IR_{1ma}}{IR_{ma}} \times 10.$$

Проведенные исследования показали, что КФП был максимальным в 1 клинической группе и составил $1,52 \pm 0,07$, во 2 группе КФП был равен $0,84 \pm 0,22$, в 3 группе – $0,31 \pm 0,16$, что статистически достоверно отличалось от значений данного показателя в 4 группе (контроль-1) – $0,12 \pm 0,02$, $p < 0,05$. При этом наиболее значимая статистически достоверная разница наблюдалась у пациенток с аденомиозом I степени (1 группа), что позволило определить КФП как один из характерных диагностических признаков аденомиоза I степени.

С целью поиска неинвазивных маркеров, отражающих состояние локального ангиогенеза у пациенток с аденомиозом, мы обратились к исследованию цервикального секрета с определением показателей экспрессии VEGF-A, поскольку известно, что ЦС содержит в растворимой форме ингибиторы и активаторы процессов неоангиогенеза, коррелирующие с локальным гомеостазом тканей матки. В 1 группе концентрация VEGF-A составила $102,5 \pm 19,3$ пг/мл, во 2 группе – $768,6 \pm 84,3$ пг/мл, в 3 группе – $974,3 \pm 57,6$ пг/мл, что статистически значимо отличалось от контроля-1 (4 группа) – $54,3 \pm 12,5$ пг/мл ($p < 0,05$). При этом имело место и статистически значимое внутригрупповое различие ($p < 0,05$).

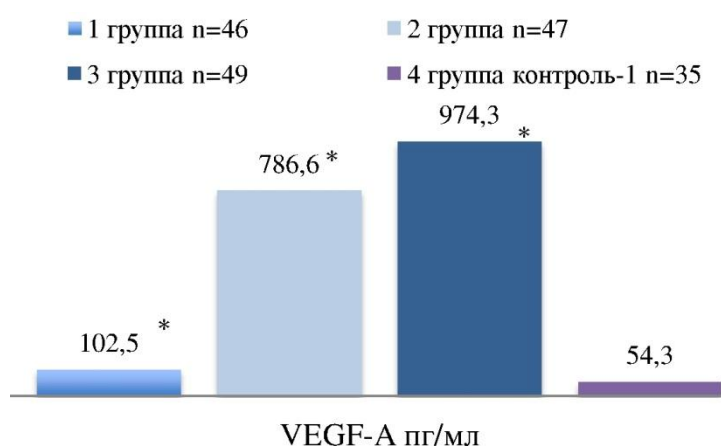


Рисунок 7 – Показатели экспрессии VEGF-A в цервикальной слизи: * – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей VEGF-A при аденомиозе по сравнению со средним значением аналогичного показателя в 5 группе (контроль-2)

Увеличение активности антиангиогенного фактора в ЦС указывает на изменение аутокринной регуляции ангиогенеза в эндометрии уже на ранних стадиях аденомиоза и, как следствие, на усиление пролиферативной активности

сосудов. В целом, эти данные позволяют использовать данный показатель как один из дополнительных ранних неинвазивных диагностических маркеров.

Для сопряжения полученных результатов морфогистологического исследования с иммуногистохимическими параметрами тканей миометрия и эндометрия «переходной зоны» нами был проведен корреляционный анализ внутри клинических групп. Наиболее важным было выявление корреляционной связи между параметрами кровотока, полученными в результате проведения функциональной пробы, морфологическими и иммуногистохимическими особенностями тканей, локализующихся в «переходной зоне» матки у здоровых женщин и больных аденомиозом различной степени. Проведенный анализ показал, что у пациенток 1 группы между КФП и энтропией ВМ, экспрессией коллагена IV типа, VEGF-A ЭП и VEGF-A в ЦС связи были положительны и соответственно равны $r = 0,919$, $r = 0,96$, $r = 0,93$, $r = 0,88$, ($p < 0,05$). У пациенток 2 и 3 клинических групп наблюдалась положительная средняя статистически значимая корреляционная связь между КФП и Э ВМ, экспрессией коллагена IV типа ($r = 0,65$ (2 группа) и $r = 0,57$ (3 группа); $r = 0,66$ (2 группа) и $r = 0,54$ (3 группа) соответственно, $p < 0,03$). Между КФП и VEGF-A ЭП и VEGF-A в ЦС у пациентов 2 и 3 групп выявлена средняя положительная статистически значимая корреляционная связь ($r = 0,65$ (2 группа) и $r = 0,57$ (3 группа); $r = 0,61$ (2 группа) и $r = 0,53$ (3 группа)). Таким образом, сильная корреляционная статистически значимая связь имела только при аденомиозе I степени.

В целом, наше исследование показало, что на начальном этапе формирования аденомиоза, несмотря на усиленные пролиферативные процессы в эндометрии и миометрии «переходной зоны», накопление избыточного количества аморфного вещества и активный патологический неоангиогенез в «переходной зоне», еще сохраняются высокие резервные резистивные возможности и в ответ на гемодинамическую нагрузку происходит уменьшение сопротивления в микрососудистом русле. Это приводит к нормализации кровотока в зоне маточных артерий, что подтверждается высоким КФП. Напротив, при развитии процесса с углублением стадии аденомиоза гиперпродукция коллаген, как в миометрии, так и в аномальных сосудах, а также гипертрофия гладкомышечной ткани миометрия «переходной зоны» обуславливает ограничение эластичности сосудистой стенки. При этом на фоне усиливающегося исходного нарушения параметров кровотока функциональная проба становится менее показательной.

Проведенные исследования позволили разработать метод ранней неинвазивной диагностики аденомиоза, включающий совокупность ультразвуковых и иммуногистохимических параметров. При визуализации толщины «переходной

зоны» 5 мм и более проводится измерение сосудистого кровотока в маточных артериях с функциональной нагрузочной пробой и вычисляется КФП. Кроме того, у данных пациенток определяют VEGF-A в ЦС. При условии наличия сочетанного выявления толщины «переходной зоны» более 5 мм, КФП более 1,2 и уровня VEGF-A более 70 пг/мл верифицируют наличие первой степени аденомиоза.

С целью оценки информативности разработанного нами метода неинвазивной диагностики аденомиоза I степени была сформирована 6 клиническая группа – 87 пациенток, находившихся на амбулаторном лечении и диспансерном наблюдении по поводу идиопатического бесплодия. Помимо бесплодия пациенток беспокоили длительные (более 7 дней) менструации, сочетающиеся с коротким менструальным циклом (23–25 дней), кровомазание до и после менструации, а также в дни предполагаемой овуляции. Пациентки были обследованы согласно Приказу МЗ РФ от 01.11.2012 № 572н, дополнительно им было проведено УЗИ с визуализацией «переходной зоны», функциональная нагрузочная проба, исследование VEGF-A в ЦС и шеститочечная биопсия миометрия при проведении гистероскопии с морфологическим исследованием биоптатов.

В итоге чувствительность предложенного нами метода составила 91,67 %, а специфичность – 94,87 %, что достоверно не отличалось от информативности гистологической диагностики материала, полученного при шеститочечной биопсии.

ВЫВОДЫ:

1. Выраженность клинической симптоматики аденомиоза, верификационная информативность УЗИ и гистероскопии возрастают по мере увеличения степени распространения аденомиоза. Аденомиоз I степени характеризуется минимальной непатогномоничной симптоматикой, стандартное УЗИ и гистероскопия не обладают достаточной диагностической чувствительностью и специфичностью.

2. У здоровых женщин достоверные отличия ($p > 0,05$) между ЭЭ и НМ и соответствующими тканями в области «переходной зоны» по морфологическим признакам отсутствуют, за исключением увеличения коэффициента энтропии в ЭП и более высоких показателей ядерно-цитоплазматического соотношения и оптической плотности ВМ ($p < 0,03$). Это позволяет утверждать, что «переходная зона» в норме является функциональной и в целом осуществляет барьерную функцию.

3. При аденомиозе I, II, III степеней в ЭЭ и особенно в ЭП отмечается повышение коэффициента эллиптичности и нарастание оптической плотности ядер ($p < 0,05$), что обуславливает повышенную способность эндометрия к про-

лиферации. Во ВМ преобладает аморфное вещество ($p < 0,05$), что способствует инвазии эндометрия в миометрий. Наличие плеоморфизма ядер миоцитов ВМ (средний диаметр ядер ниже уровня контроля, $p < 0,05$) и увеличение индекса ядерной симметрии ($p < 0,05$) определяют пролиферативную активность, способствующую гиперплазии мышечной ткани матки по мере инвазии эндометриальных очагов. При этом достоверного статистического различия показателей по мере распространения аденомиоза не наблюдается.

4. Выявленный дисбаланс между увеличением активности антиангиогенного и проангиогенного факторов роста в эндометрии «переходной зоны» и в ЦС (прямая положительная корреляция) даже при аденомиозе I степени указывает на изменение аутокринной регуляции ангиогенеза уже на ранних стадиях аденомиоза и, как следствие, на усиление патологической пролиферативной активности сосудов.

5. Ультразвуковая визуализация «переходной зоны» толщиной более 5 мм и статистически значимое увеличение сопротивления кровотоку в бассейне маточных артерий являются одними из эхографических признаков аденомиоза I степени. Применение функциональной нагрузочной пробы при доплерометрии в бассейне маточных сосудов повышает специфичность и чувствительность ранней ультразвуковой диагностики.

6. Сильная корреляционная статистически значимая связь между КФП и параметрами морфо- и иммуногистохимического анализа миометрия и эндометрия «переходной зоны» матки отмечается только при аденомиозе I степени.

7. Ультразвуковая визуализация «переходной зоны» с использованием функциональной нагрузочной пробы в совокупности с определением уровня экспрессии VEGF-A в цервикальной слизи служит специфичным и чувствительным неинвазивным методом диагностики аденомиоза I степени.

Результаты исследования позволяют сделать **практические рекомендации:**

1. При ультразвуковой визуализации «переходной зоны» более 5 мм у пациентов необходимо проводить функциональную нагрузочную пробу. Определяют IR_{ma} до и после функциональной нагрузочной пробы – пятикратного приведения ног, согнутых в коленных суставах к груди, и последующего вычисления значения КФП (отношения разницы между IR_{ma} и IR_{1ma} к исходному IR_{ma} , умноженному на 10). Проба считается положительной при КФП более 1,2. Наличие «переходной зоны» более 5 мм и КФП более 1,2 является ультразвуковым критерием диагностики аденомиоза I степени.

2. При отсутствии УЗИ маркеров гиперплазии эндометрия выполнять ги-

стероскопию с целью подтверждения аденомиоза I степени нецелесообразно. Для уточнения диагноза у пациентов с вышеуказанными ультразвуковыми критериями аденомиоза I степени следует дополнительно определить VEGF-A в ЦС, и при условии наличия сочетанного выявления толщины «переходной зоны» более 5 мм, КФП более 1,2 и уровня VEGF-A более 70 пг/мл, верифицируют аденомиоз первой степени.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ:

1. Симовоник, А.Н. Особенности строения переходной зоны стенки матки / **А.Н. Симовоник** // Научно-теоретический медицинский журнал МОРФОЛОГИЯ. – 2016. – № 3. – С. 188–189.

2. Могильная, Г.М. Морфометрическая характеристика ядер клеток переходной зоны миометрия при аденомиозе / Г.М. Могильная, И.И. Куценко, **А.Н. Симовоник** // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 3(158). – С. 88–91.

3. Симовоник, А.Н. Особенности ядер клеток переходной зоны у больных с аденомиозом / **А.Н. Симовоник** // Российский медико-биологический вестник. Приложение 2. – 2016 – С. 190.

4. Могильная, Г.М. Компоненты переходной зоны стенки матки при аденомиозе / Г.М. Могильная, И.И. Куценко, **А.Н. Симовоник** // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – URL : <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25621>

5. Куценко, И.И. Ультразвуковая диагностика аденомиоза I степени распространения // И.И. Куценко, Е.И. Кравцова, **А.Н. Симовоник**, О.А. Рудеева // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 6. – URL : <https://www.science-education.ru/article/view?id=27350>

Публикации в журналах, сборниках, материалах конференций и тезисы докладов:

6. Кравцова, Е.И. Особенности артериального кровотока в матке у пациенток с начальными стадиями аденомиоза // Е.И. Кравцова, В.А. Авакимян, **А.Н. Симовоник**, О.А. Рудеева / Материалы конгресса «XI Международный конгресс по репродуктивной медицине». Москва – 2017. – С. 41-43.

7. Куценко, И.И. Иммуногистохимическое изучение экспрессии VEGF в цервикальной слизи у пациенток с аденомиозом // И.И. Куценко, **А.Н. Симо-**

ник, Е.И. Кравцова, О.В. Томина / Материалы X Юбилейного регионального научно-образовательного форума «Мать и Дитя». Геленджик – 2017. – С. 23-25.

Список условных сокращений

- АК** – аморфный компонент
ВК – волокнистый компонент
ВМ – внутренний миометрий (миометрий «переходной зоны»)
ГМК – гладкомышечные клетки
ЖДА – железодефицитная анемия
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
КФП – коэффициент функциональной пробы маточных артерий
ЛГ – лютеинизирующий гормон
МВ – межклеточное вещество
МРТ – магнито-резонансная томография
МТ – мышечная ткань
НМ – наружный миометрий
ОП – оптическая плотность
ОЯМ – объем ядерной массы
СДЯ – средний диаметр ядер
ТВУЗИ – трансвагинальное ультразвуковое исследование
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
ЦДК – цветное доплеровское картирование
ЦС – цервикальная слизь
Э – показатель энтропии
ЭЛ – эллиптичность
ЭП – эндометрий «переходной зоны»
ЭЭ – эутопический эндометрий
IR – индекс резистентности
IR_{1ma} – индекс резистентности маточных артерий после проведения функциональной пробы
IR_{ma} – индекс резистентности маточных артерий
PI – пульсовой индекс
PS – пиковая систолическая скорость
r – коэффициент корреляции
R – систоло-диастолическое отношение
TNF – фактор некроза опухоли
VEGF-A – сосудистый эндотелиальный фактор роста

СИМОВОНИК Анна Николаевна

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 31.01.18

Печать трафаретная. Формат 60×84 ¹/₁₆.

Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 1829

Отпечатано в ООО «Издательский Дом – ЮГ»

350072, г. Краснодар, ул. Зиповская, 9, литер «Г», оф. 41/3,

Тел. +7(918) 41-50-571

e-mail: id.yug2016@gmail.com

Сайт: www.id-yug.com