

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ФГБОУ ВО КУБГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ)

*На правах рукописи*

**Симовоник Анна Николаевна**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ  
АДЕНОМИОЗА**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
доктор медицинских наук,  
профессор **Куценко И.И.**,  
доктор медицинских наук,  
профессор **Могильная Г.М.**

Краснодар

2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	36
1.1. Современные представления об аденомиозе .....	36
1.2. «Переходная зона» матки и ее участие в развитии аденомиоза .....	39
1.3. Современные возможности и перспективы ранней диагностики аденомиоза .....	45
<b>ГЛАВА II. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	51
2.1. Оценка информативности различных методов диагностики диффузного аденомиоза (данные ретроспективного анализа) .....	51
2.2. Клиническая характеристика обследованных пациенток с аденомиозом различной степени .....	56
2.3. Результаты инструментальной диагностики в исследуемых группах ..	70
2.3.1. Результаты ультразвукового исследования больных с аденомиозом различной степени .....	70
2.3.1.1. Результаты биометрического ультразвукового исследования больных с аденомиозом различной степени .....	70
2.3.1.2. Допплерометрические характеристики кровотока в бассейне маточных артерий больных с аденомиозом различной степени .....	73
2.3.2. Гистероскопическое исследование у больных с аденомиозом различной степени .....	79
2.4. Морфологическая, морфометрическая и иммуногистохимическая характеристика биопсийного и операционного материала .....	82
2.4.1. Морфологические и морфометрические особенности ткани «переходной зоны», эутопического эндометрия и наружного миометрия в норме .....	83

2.4.2.	Морфологические и морфометрические особенности ткани «переходной зоны», эутопического, эктопического эндометрия и наружного миометрия при аденомиозе различных степеней .....	89
2.4.3.	Результаты морфологического и иммуногистохимического исследования фрагментов внутреннего миометрия «переходной зоны» и наружного миометрия в группе здоровых женщин и пациенток с аденомиозом различных степеней .....	97
2.4.4.	Иммуногистохимическое изучение экспрессии фактора VEGF-A в эутопическом эндометрии и цервикальной слизи у пациенток с аденомиозом .....	107
2.5.	Корреляционная зависимость между морфометрическими и иммуногистохимическими параметрами тканей миометрия, эндометрия «переходной зоны» и уровнем VEGF-A в цервикальной слизи при аденомиозе .....	113
2.6.	Разработка и результаты доплерометрической функциональной нагрузочной пробы в исследуемых группах .....	115
2.6.1.	Корреляционная зависимость между коэффициентом функциональной нагрузочной пробы и морфометрическими и иммуногистохимическими параметрами тканей «переходной зоны» матки и цервикальной слизи .....	123
2.7.	Эффективность нового метода неинвазивной диагностики аденомиоза ранних степеней .....	126
	<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	129
	<b>ВЫВОДЫ</b> .....	143
	<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b> .....	145
	<b>СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	146
	<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	148
	<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b> .....	171

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** В структуре гинекологической заболеваемости аденомиоз занимает одно из ведущих мест и встречается у 12–50 % женщин репродуктивного возраста. По данным как отечественных, так и иностранных авторов, аденомиоз является частой причиной дисменореи, менометроррагии бесплодия, хронических тазовых болей различной интенсивности, нередко приводящих к психосоматическим и вегетативным нарушениям (Сидорова И.С. и др., 2012; Стрижаков А. Н. и др., 2014; Арутюнян А.Ф. и др., 2015; Шкляр А.А. и др., 2015; Rabinovici J. et al., 2013). В последние годы отмечается значительный рост частоты этого заболевания, причем чаще он диагностируется уже на поздних стадиях (III–IV стадия), представляющих собой серьезную опасность для здоровья пациенток, в том числе и репродуктивного (Андреева Е.Н. и др., 2011). Это связано с отсутствием четких неинвазивных критериев начальных степеней аденомиоза. Этиология этого заболевания и его патогенез дискутабельны. Считают, что причины развития аденомиоза отражены в следующих двух теориях: первая предполагает наличие инвагинации глубокой порции эндометрия между связками гладкомышечных клеток миометрия или вдоль интрамиометральных лимфатических сосудов (Ордянец И.М. и др., 2014; Mehaseb M.K. et al., 2011; Leyendecker G. et al., 2015); согласно второй теории причиной аденомиоза следует считать развитие метапластического процесса, который инициируется эктопическим расположением эндометриальной ткани в зоне миометрия за счет продукции ее *de novo* (Унаниян А.Л. и др., 2013; Непомнящих Л.М., 2012; Коган Е.А. и др., 2015). Многие авторы сходятся во мнении, что для уточнения патогенеза этого заболевания требуется проведение комплексных морфометрических исследований.

В аспекте разработки проблемы ранней диагностики аденомиоза наибольший интерес представляют имеющиеся в литературе сведения о роли в

развитии этого заболевания «переходной зоны» миометрия. Термин «переходная зона» миометрия введен в литературу Н. Hricak et al. в 1983 году, когда при использовании МРТ для исследования репродуктивной системы женщин авторы обнаружили функциональную зону, расположенную между эндометрием и миометрием. При этом в стенке матки были типированы три зоны: первая – это зона с высоким эхогенным сигналом (эхогенностью), принадлежащая эндометрию; вторая – внутренняя часть, прилежащая к базальному эндометрию, – это зона с низким эхо сигналом, она и получила название «переходная зона» (субэндометриальный слой). Третья зона – это участок с умеренно выраженным эхогенным сигналом (эхогенностью), или наружный миометрий. Структурные и функциональные отличия этой зоны, прежде всего, связывают с происхождением ее в эмбриогенезе из парамезонефрального протока. Согласно наиболее распространенной «теории инвагинации», развитие аденомиоза происходит во время менструаций на фоне процессов регенерации, заживления и реэпителизации слизистой оболочки матки. В этот момент может произойти внедрение клеток эндометрия в «ослабленную» переходную зону, имеющую структурные и функциональные различия по сравнению с остальным (внешним) миометрием (Levy G. et al., 2013; Ibrahim G.M. et al., 2017; Kunz G. et al., 2017). Процесс облегчается при наличии дисфункциональной гиперперистальтики матки и/или дискоординированных сокращений «переходной зоны», что может служить одним из патогенетических звеньев развития аденомиоза. В литературе есть данные и о том, что дефинитивные компоненты этой зоны характеризуются уменьшением доли экстрацеллюлярного матрикса и увеличением доли ядер (Scoutt L.M. et al., 1991). Наличие в «переходной зоне» участков, отличающихся высокой клеточной активностью, и, следовательно, увеличением числа ядер стромальных эндометриальных клеток и ядер гладкомышечных клеток связывают с последующим образованием очагов аденомиоза (Непомнящих Л.М., 2012). Морфогенетический материал стромальных клеток

может индуцировать образование эндометриальных желез и кровеносных сосудов, а также гиперплазию гладкомышечных клеток. Иммуногистохимические исследования при аденомиозе подтверждают наличие деградации межклеточного матрикса и активации процессов инвазии и метастазирования эндометрия в миометрий, сопровождающихся активным, но неполноценным неоангиогенезом (Gargett C.E. et al., 2007; Gargett C.E. et al., 2011).

Среди методов клинической и инструментальной диагностики аденомиоза широко используется гистероскопия, но метод является инвазивным, во многом субъективным, и разброс его чувствительности, 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).

Специфические лабораторные признаки у данного заболевания также отсутствуют.

МРТ картина аденомиоза характеризуется обнаружением нарушения нормальной анатомии зоны между эндометрием и миометрием, что выявляется при толщине разделительной зоны 8–12 мм и отображает локальную гиперплазию гладкомышечных клеток, окружающих эндометриальные ходы. Эффективность метода магнитно-резонансной томографии составляет 42–64 % (Адамян Л.В. и др., 2013). В то же время, когда аденомиоз не сопровождается выраженной локальной гладкомышечной гиперплазией, что возможно на ранних стадиях аденомиоза, данные МРТ неинформативны (Шкляр А.А. и др., 2015; Maubon A., 2010; Agostinho L.I.R. et al., 2016; Chapron C. et al., 2017).

Из инструментальных методов диагностики аденомиоза приоритетным является трансвагинальная эхография (ТВЭ), ввиду ее доступности, неинвазивности и низкой стоимости (Brosens J.J. et al., 2008; Dueholm M.,

2006; Naftalin J. et al., 2012; Sakhel K. et al., 2012; Exacoustos C. et al., 2014). Имеются данные об утолщении JZ более 8 мм без уточнения стадии распространенности аденомиоза (Барто Р.А., 2017). Однако информативность ультразвукового исследования 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). В последние годы в связи с широким внедрением в медицинскую практику доплерометрии с применением цветного доплеровского картирования появились единичные работы, посвященные изучению кровотока в бассейне маточных и яичниковых артерий при аденомиозе (Поздняков С.А. и др., 2006; Семенов И.А., 2007; 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). Следует отметить попытки авторов сопоставить данные сонографии с гистологическими исследованиями операционного материала (Арутюнян А.Ф. и др., 2013; Bazot M. et al., 2002; Керкер К. et al., 2007), при этом количество таких исследований весьма ограничено. Можно полагать, что комплексное исследование параметров, характеризующих кровотоки в бассейне маточных артерий, при сопоставлении их с морфометрическими и иммуногистохимическими параметрами «переходной зоны» матки позволит не только дополнить представления о патогенезе аденомиоза, но и разработать более информативные ранние неинвазивные методы диагностики заболевания.

**Степень разработанности проблемы.** Многофакторность патогенеза эндометриоза служит главной причиной отсутствия единого представления о нем (Максимова А.А. и др., 2017). Анализ литературных данных, касающихся проблем этиопатогенеза, клиники и диагностики аденомиоза, свидетельствует

об активном изучении факторов патогенеза, совершенствовании способов диагностики данного заболевания (Ваганов Е.Ф., 2011; Дамиров М.М. и др., 2013; Стрижаков А.Н. и др., 2014; Максимова А.А. и др., 2017; Levy G. et al., 2013). Доказано, что нейроэндокринные нарушения с формированием абсолютной или относительной гиперэстрогении особенно на фоне измененной рецепторной функции эндометрия (Ярмолинская М.И., 2009; Унанян А.Л. и др., 2013; Оразов М.Р., 2014; Хилькевич Е.Г. и др., 2016; Горшкова О.Н. и др., 2014; Leyendecker G. et al., 2006) создают благоприятный фон для возникновения данной патологии. Активно продвигаются научные исследования, подтверждающие и совершенствующие иммунологическую теорию происхождения аденомиоза. Хорошо известны данные анализа случаев семейного эндометриоза, показавшие, что предрасположенность к заболеванию передается по доминантному типу по женской линии (Гигани О.О и др., 2003; Сорокина А.В., 2011; Адамян Л.В. и др., 2013; Кузнецова И.В., 2013; Сагиндыкова Р.Р. и др., 2014; Стрижаков А.Н. и др., 2014; Щеголев А.И. и др., 2016; Ордиянц И.М. и др., 2014). Эту же закономерность проследили в своих исследованиях В.Е. Радзинского и др. (2001). Они установили, что наличие эндометриоза среди близких родственниц по материнской линии повышает риск его развития в 7 раз. Большое внимание уделяется роли цитокинов в патогенезе заболевания, имеются данные о повышении уровней провоспалительного пула цитокинового каскада (фактора некроза опухоли TNF, интерлейкина-1, 6, 8) в аспиратах из матки, соскобах эндометрия и в перитонеальной жидкости больных аденомиозом (Кузнецова И.В., 2013; Печеникова В.А. и др., 2015; Machado D.E. et al., 2008; Linda C. Giudice et al., 2012; Bedaiwy M.A. et al., 2013; Pontis A. et al., 2016). Одной из причин развития аденомиоза видится отсутствие базальной мембраны или наличие возможных дефектов мембраны между эндометрием и миометрием, что позволяет эндометрию врастать в зону миометрия (Зотова О. А. и др., 2013; Давыдов А.И. и др., 2016; Kuligowska E. et al., 2005; Hong S.C. et al., 2016).

В современной интерпретации гиперплазия переходной зоны миометрия предшествует развитию аденомиоза и эндометриоза. Накопленные в литературе данные свидетельствуют о том, что толщина JZ более 12 мм является одним из МРТ-критериев диагностики умеренного аденомиоза (Барто Р.А., 2017; Novellas S. et al., 2010; Chapron C. et al., 2017). Наиболее важным для диагностики аденомиоза признаком на МРТ является толщина переходной зоны более 12 мм. Толщина менее 8 мм, как правило, позволяет исключить диагноз. При толщине «переходной зоны» от 8 до 12 мм постановка диагноза аденомиоза требует определенных вторичных критериев (Agostinho L.I.R. et al., 2016).

Морфологическое исследование является самым достоверным методом диагностики аденомиоза, поскольку характер патологического процесса анализируется как на основании его макроскопической оценки, так и с учетом тщательного микроскопического исследования (Адамян Л.В. и др., 2015, Самоделкин Е.И. и др., 2015; Анфигенова Е.А., 2017). Несмотря на инвазивность биопсийной диагностики заболевания, к ней отмечается рост интереса обусловленного необходимостью гистологического подтверждения диагноза, а также невозможностью с помощью неинвазивных методов исследования выявить достоверные признаки наличия малой инвазии эндометриоидных очагов. В этой связи логически возникает вопрос о функциональном статусе ядер ткани эндометрия и гладкомышечных клеток матки, определяющих пролиферативные и инвазивные свойства тканей, в том числе и в области «переходной зоны», у здоровых женщин и у пациенток с развившимся аденомиозом.

Наряду с морфологическими исследованиями значимую роль в диагностике аденомиоза играют иммуногистохимические методы, призванные дать характеристику этого заболевания на молекулярном уровне.

Обзор литературы позволяет констатировать, что наиболее изученным иммуногистохимическим фактором при аденомиозе следует считать Ki-67, который выявляется в клетках как эндометрия, так и миометрия

(Непомнящих Л.Н. и др., 2013). I. Brosens et al. (2016) считают, что повышение инвазивного потенциала клеток эндометрия при аденомиозе связано со снижением экспрессии трансмембранного белка Е-кадгерина. На этом фоне происходит нарушение связей между ГМК миометрия, коллагеновыми и эластическими волокнами и окружающими эти волокна клетками.

Поскольку аденомиоз характеризуется активным циклом ангиогенеза (Gargett C.E. et al., 2007; Gargett C.E. et al., 2011), то достаточно много работ посвящено изучению наиболее типичного фактора ангиогенеза VEGF-A. Имплантиция эндометриоидных клеток была бы невозможной без неоангиогенеза. У пациенток с эндометриозом в перитонеальной жидкости нарушено равновесие между факторами, стимулирующими ангиогенез (факторы роста фибробластов, трансформирующие факторы роста), и ингибиторами ангиогенеза (ангиостатин, эндостатин и тромбоспондин). Дополнительно новые сосуды развиваются из эндотелиальных клеток (в местах усиленной васкуляризации) (Адамян Л.В. и др., 2013; Максимова А.А. и др., 2017). Иммуногистохимическое изучение экспрессии различных сигнальных молекул показало, что прогрессирование и рост очагов аденомиоза происходит под влиянием общего и локального гиперэстрогенизма с участием продуцируемого *in situ* фактора роста СОХ-2, а также VEGF-A, обладающих синергентным действием (Кузнецова И.В., 2013; Коган Е.А. и др., 2015; Адамян Л.В., 2016). Установлено, что в цервикальной слизи у больных с аденомиозом в зависимости от стадии заболевания наблюдается достоверное и резкое увеличение содержания VEGF-A (Гаврилова Т.Ю., 2007; Радзинский В.Е. и др., 2016). Однако усиление экспрессии ангиогенных факторов неспецифично для аденомиоза и встречается и при другой гинекологической патологии.

Таким образом, несмотря на обширные литературные данные, в настоящий момент отсутствуют методы исследования, позволяющие неинвазивно, с высокой степенью информативности верифицировать аденомиоз ранних стадий, когда патологический процесс еще не

распространен за пределы границ «переходной зоны». Поэтому целесообразно проведение комплексных клинико-морфологических и иммуногистохимических исследований дисфункций наблюдаемых в этой области, данные которых позволят совершенствовать раннюю неинвазивную диагностику этого заболевания.

**Цель исследования:** оптимизация ранней диагностики аденомиоза путем разработки клинико-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 работы** заключается в том, что в ней впервые установлено, что только у пациенток с аденомиозом I степени в 100 % случаев визуализируется «переходная зона» с  $M_0 = 5,2$  мм. Впервые проведенная оценка функционального состояния матки на основании изучения параметров гемодинамики в маточной артерии и ее ветвях при диффузном аденомиозе разных степеней показала, 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 при аденомиозе интенсивности артериального кровообращения в матке.

Впервые доказана динамичность статуса эндометриальной порции «переходной зоны» по отношению к эутопическому эндометрию у здоровых женщин, что подтверждается увеличением энтропии и пролиферативного потенциала и обосновывает целесообразность выделения этой порции в области «переходной зоны». Внутренний и наружный миометрий в норме морфологически однотипен, различия этих зон – функциональные.

Проведенный комплексный морфометрический и иммуногистохимический анализ «переходной зоны» подтвердил ее тканевую гетерогенность. Выявлено, что у здоровых женщин выраженные отличия эутопического эндометрия и наружного миометрия с аналогичными тканями «переходной зоны» по морфологическим признакам отсутствуют. Это позволяет утверждать, что «переходная зона», нетипируемая 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, 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 МА. Корреляционный анализ КФП МА и параметров, полученных в результате морфо- и иммуногистохимического анализа миометрия и эндометрия «переходной зоны» 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 моменты развития заболевания.

Подтверждена низкая чувствительность и специфичность стандартного

ультразвукового исследования и гистероскопии для верификации аденомиоза I степени. Доказано, что чувствительность и специфичность предложенного нами неинвазивного метода ранней диагностики аденомиоза достоверно не отличается от информативности шеститочечной биопсии миометрия.

**Теоретическая и практическая значимость.** 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.

Полученные результаты внедрены в практику работы Базовой акушерско-гинекологической клиники ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, гинекологических отделений и женских консультаций ПЦ ГБУЗ «ККБ № 2», гинекологического отделения клинической больницы МБУЗ «Родильный дом».

Материалы диссертации используются в учебном процессе студентов, клинических интернов, ординаторов, аспирантов на кафедрах акушерства, гинекологии и перинатологии и гистологии с эмбриологией ФГБОУ ВО

КубГМУ Минздрава России.

## Методология исследования

### Дизайн исследования

Исследование проводилось в три этапа на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии и на кафедре гистологии с эмбриологией ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

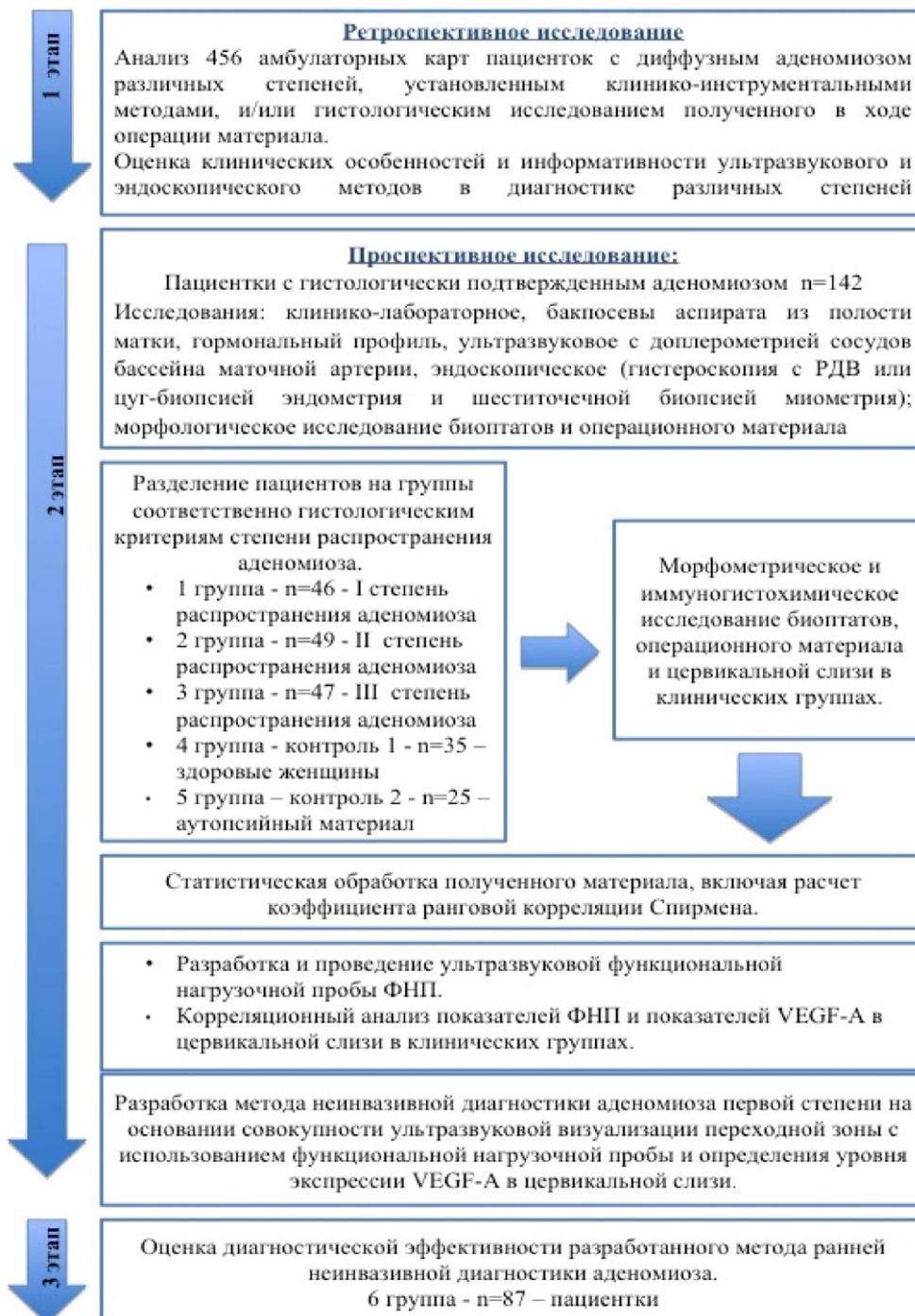


Рисунок 1 – Дизайн исследования

На первом ретроспективном этапе с целью оценки информативности стандартно применяющихся методов для выявления диффузного аденомиоза было проанализировано 456 карт больных, находившихся на стационарном лечении с 2014 по 2016 годы в гинекологических отделениях ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодар, МБУЗ Роддом г. Краснодар, БАГК ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, которым по различным клиническим показаниям была произведена гистерэктомия и на основании клинико-инструментальных и/или гистологических методов исследования был выставлен диагноз – диффузный аденомиоз различных степеней.

На втором этапе проспективно были обследованы 142 больные аденомиозом, обратившиеся с 2014 по 2017 годы в МБУЗ ЖК № 1, МБУЗ ЖК № 2, МБУЗ ЖК № 4 и в гинекологические отделения БАГК ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и МБУЗ Роддома г. Краснодара. Контрольными группами служили: аутопсийный материал от условно здоровых женщин, а также условно здоровые женщины, обратившиеся с целью профилактического осмотра.

Критерием отбора явился установленный диагноз аденомиоза на основании клинико-инструментальных и гистологических данных. Пациентки были разделены на клинические группы соответственно гистологическим критериям степени распространения аденомиоза:

- 1 группа –  $n = 46$  – I степень распространения аденомиоза
- 2 группа –  $n = 49$  – II степень распространения аденомиоза
- 3 группа –  $n = 47$  – III степень распространения аденомиоза

Группы контроля:

- 4 группа – контроль 1 –  $n = 35$  – условно здоровые женщины
- 5 группа – контроль 2 –  $n = 25$  – аутопсийный материал

Критериями включения пациенток в исследования:

- 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 из исследования являлись:

- возраст пациенток менее 18 лет, более 50 лет;

- другие локализации эндометриоза;

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

- отказ от участия в исследовании.

На третьем этапе для оценки информативности разработанного метода выявления аденомиоза I степени была сформирована 6 клиническая группа – 87 пациенток, обследованных согласно разработанному нами методу ранней неинвазивной диагностики.

### **Клинические исследования**

В клиническом исследовании подробно изучались жалобы, данные гинекологического анамнеза, включающие информацию о характере менструальной функции (менархе, регулярность, длительность и болезненность менструаций, наличие нарушений менструального цикла), сведения о гормональной терапии, проводимой ранее, о возрасте начала половой жизни, количестве половых партнеров. Соматический анамнез пациенток включал сведения о наследственной патологии, данные об общесоматических заболеваниях, наличии отягощенного аллергоанамнеза. Данные акушерского анамнеза позволяли оценить репродуктивную и детородную функции, количество и течение беременностей, наличие прерываний беременности, а также характер течения родов и послеродового периода. Анализировались сведения о ранее проведенных лечебных и диагностических манипуляциях, оперативных вмешательствах, заключениях гистологических исследований, данных о проведенной терапии.

Системный подход в оценке степени тяжести дисменореи обеспечивался использованием шкалы В.Н. Прилепской и Е.А. Межевитиновой (2000) (приложение 1).

Также были выявлены особенности телосложения, наличие ожирения, распределение волосяного покрова, состояние щитовидной и молочных желез. При гинекологическом исследовании осматривали наружные половые органы, шейку матки и влагалище в зеркалах и проводили бимануальное влагалищное исследование. При бимануальном исследовании определяли размеры матки, ее консистенцию, форму, болезненность, подвижность, размеры, болезненность и подвижность придатков.

Исходно проводилось ультразвуковое исследование с применением ЦДК у всех обследуемых пациенток. Эхографическое исследование позволило оценить размеры, структурные изменения матки (эндометрий, «переходная зона», миометрий), а также выявить особенности васкуляризации с оценкой в них качественных и количественных показателей кровотока, в том числе при динамическом наблюдении на протяжении менструального цикла. Через месяц после гистероскопии дополнительно применялась разработанная функциональная нагрузочная проба, рассчитанная на выявление изменений в сосудистой резистентности маточных артерий и сосудах миометрия у больных с аденомиозом.

Гистероскопия с шеститочечной биопсией миометрия проводилась всем 142 пациенткам (100 %) на 5–7 день менструального цикла. Внутри каждой клинической группы были проведены морфометрическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов, цервикальной слизи, в случае оперативного лечения – операционного материала.

Изучали морфологию биопсийного материала и операционного материала (удаленная матка): эутопический эндометрий, очаги аденомиоза, участки, соответствующие локализации «переходной зоны» и наружный миометрий

При гистологическом исследовании эктопических очагов аденомиоза определяли их размер, форму, локализацию, степень поражения миометрия; отмечали наличие и выраженность гипертрофированных мышечных волокон; по микроскопическим признакам определяли тип эпителия, его соответствие фазе цикла и сопоставимость с днем цикла, подсчитанным с первого дня последней менструации.

Степень распространения аденомиоза оценивали по следующим морфологическим критериям (Адамян Л.В., 2013):

- I стадия – патологический процесс ограничен подслизистой оболочкой тела матки;
- II стадия – патологический процесс распространяется до середины толщины тела матки;
- III стадия – в патологический процесс вовлечен весь мышечный слой матки до ее серозного покрова;
- IV стадия – вовлечение в патологический процесс, помимо матки, париетальной брюшины малого таза и соседних органов.

Всего была произведена 81 гистерэктомия (16,48 %): 21 экстирпация матки (25,9 %) и 60 надвлагалищных ампутаций матки (74,0 %). Показаниями для гистерэктомии у 59 больных (72,8 %) явились неэффективность или невозможность консервативной терапии аденомиоза (анемия 2–3 степени и (или) некупируемый болевой синдром, непереносимость гормональных препаратов и аденомиоз III степени). Аденомиоз в сочетании с пограничной опухолью яичника (в менопаузальном периоде) служил показанием для гистерэктомии у 13 больных (16,04 %). Было выполнено 2 экстирпации матки с придатками (9,5 %); 9 экстирпаций матки и придатков с одной стороны (42,8 %); 10 экстирпаций матки без придатков (47,6 %); 5 надвлагалищных ампутаций матки с придатками (8,3 %); 11 надвлагалищных ампутаций матки и придатков с одной стороны (18,33 %); 28 надвлагалищных ампутаций матки без придатков (46,66 %)

(таблица 1). У 5 больных аденомиозом II степени (3,5 %) операция была произведена в связи пролапсом гениталий 3–4 степени.

**Таблица 1** – Количество и вид операций, проведенных у обследуемого контингента

Вид операции	1 эгрруппа	2 эгрруппа	3 эгрруппа	Всего эпо группам
Экстирпация матки, всего	0	5	16	21
Надвлагалищная ампутация матки, всего	13	16	31	60
Лапароскопия	19	7	2	28
Гистероскопия	46	49	47	142
Пункционная 6-точечная биопсия миометрия	46	49	47	142
Всего операций	124	128	143	490

### **Лабораторные методы обследования**

Пациенткам в проведенном в исследовании было выполнено стандартное обследование: ИФА или РПГА на сифилис, определение антител к антигенам ВИЧ, HBsAg, anti-HCV, флюорография органов грудной клетки, ЭКГ, исследование отделяемого из влагалища для оценки характера микрофлоры, ПЦР-диагностика урогенитальной микрофлоры и посев из цервикального канала на условно-патогенную микрофлору, клинико-биохимические анализы крови и мочи.

### **Микробиологические методы**

#### **Диагностика инфекций, передаваемых половым путем:**

Хламидийная: полимеразная цепная реакция (ПЦР), иммуноферментный анализ (ИФА), метод прямой иммунофлуоресценции (ПИФ) с использованием отечественных тест-систем «ХламиСлайд», «ХламиСкан». Микоплазменная: твердая питательная среда Хейфлика НИЦФ (Санкт-Петербург), ПЦР для определения двух типов генитальных микоплазм *Ureaplasma Urealyticum* и *Mycoplasma hominis* с использованием «Полимик-МК», «Полимик-Ур» НПФ «Литех». Вирус простого герпеса 1–2

типа и цитомегаловирус: обнаружение ДНК возбудителей выполнялось методом ПЦР с использованием тест-систем производства ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора (Москва). Экстракция нуклеиновых кислот для последующих ПЦР исследований проводилась с использованием набора серии «ДНК-сорб» производства ФГУН «ЦНИИЭ» г. Москва. Материалом для выделения и последующей амплификации ДНК ВПГ-2 послужили соскобы эпителия цервикального канала.

### **Диагностика условно-патогенной урогенитальной флоры**

**Бактериоскопический метод:** посевы на элективные среды с последующей идентификацией и определением гемолитических свойств.

### **Исследование гормонального статуса**

Для оценки гормонального статуса больных аденомиозом и пациенток контрольной группы-1 исследовались концентрация гонадотропных и стероидных гормонов в сыворотке крови. Исследование проводилось методом ИФА, с использованием реагентов 100-02 Стероид ИФА-прогестерон № 100-03, Стероид ИФА-тестостерон № 100-04, ИФА-пролактин, № 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 в первую фазу на 2–3 день цикла и во вторую фазу (21–23 день цикла).

### **Инструментальное обследование**

#### **Ультразвуковые методы**

Ультразвуковое исследование (УЗИ) проводилось всем пациенткам в первую и вторую фазы менструального цикла по трансабдоминальной (Donald, 1965) и трансвагинальной методикам на аппаратах «Алока 4000» при помощи конвексных трансабдоминального и трансвагинального

мультичастотных (2,5–7,5 МГц) трансдьюсеров, позволяющих проводить дуплексное сканирование как в режиме цветового доплеровского картирования (ЦДК), так и «энергетического» цветового кодирования и в режимах серой шкалы. Оценка изображения в режиме серой шкалы проводилась по общепринятой методике (Демидов В.Н. и др., 1997). При осмотре яичников, помимо биометрии, отражались признаки функциональной активности (состояние фолликулярного аппарата, наличие желтого тела), а также наличие патологических структур. При измерении тела матки определялись размеры матки, ее контуры, особенности эхоструктуры, наличие очаговых образований с указанием их количества и локализации, асимметрия толщины стенок. Объем матки вычислялся по формуле  $V = L \times W \times H \times 0,523$  (L – длина матки; W – ширина матки; H – высота матки). Особое внимание уделялось так называемой «переходной зоне».

Маточные сосуды сканировали в сагиттальной плоскости, что позволяло оценить индексы сопротивления в артериальных сосудах: индекс резистентности (RI) и пульсационный индекс (PI), а также пиковую систолическую скорость (PS) и конечную диастолическую скорость (ED); в венах – среднюю линейную скорость потока крови ( $V_{\text{tamx}}$ ) с использованием трансвагинального трансдьюсера.

Дополнительно применялась разработанная функциональная нагрузочная проба, рассчитанная на выявление изменений в сосудистой резистентности маточных артерий и сосудов миометрия у больных с аденомиозом.

### **Функциональная нагрузочная проба**

После проведения исследования кровотока в горизонтальном положении пациентке предлагалось пять раз привести ноги, согнутые в коленных суставах к груди, формируя угол в  $90^0$  градусов, после чего

проводилось повторное измерение гемодинамических параметров и вычислялся коэффициент функциональной пробы (КФП) – отношение разницы между исходным индексом резистентности маточных артерий (IR<sub>ma</sub>) и результатом того же критерия, полученного после проведения функциональной пробы (IR<sub>1ma</sub>) к исходному IR<sub>ma</sub>, умноженному на 10.

$$\text{КФП} = \frac{\text{IR}_{\text{ma}} - \text{IR}_{1\text{ma}}}{\text{IR}_{\text{ma}}} \times 10$$

### **Гистероскопия**

При выполнении гистероскопии использовали гистероскоп фирмы Karl Storz (Германия) и жидкостную методику с применением стерильного изотонического раствора NaCl. По результатам гистологического исследования соскобов оценивалось состояние эндометрия и косвенно гормональный фон. Пункционную биопсию миометрия выполняли с помощью иглы для пункционной биопсии Bard-Monopty (Германия) с длиной режущей части не менее 19 мм. При этом колюще-режущая часть биопсийной иглы со стороны слизистой проникала в миометрий. Далее, за счет автоматического поворота, режущая часть отсекала столбик ткани, который оказывался в специальном желобке в колюще-режущей части иглы. После этого иглу удаляли. Полость матки осматривали для выявления признаков аденомиоза, при наличии устьев железистых ходов выполняли пункцию в их проекции, при отсутствии – в 2 точках по передней стенке матки, в 2 – в дне и 2 в задней стенке. Полученные биоптаты отправляли на гистологическое исследование. Данный способ осуществляли при жидкостной гистероскопии.

### **Гистологические методы исследования**

Гистологически оценка статуса стенки матки в норме включала не только традиционное описание эндометрия и миометрия, но и выделение расположенной между ними «переходной зоны». При этом изучение этой

зоны проводилось в нескольких полях зрения с описанием базальной части эндометрия в виде стромального компонента и расположенных в составе этой стромы донных частей эндометриальных желез, так как приведенные ниже исследования доказали целесообразность выделения эндометриальной порции «переходной зоны».

Морфологически однотипный слой миометрия согласно своим эмбриологическим и функциональным свойствам также был разделен на две зоны: внутренний миометрий (ВМ) и наружный миометрий (НМ). При этом первая из них рассматривалась в контексте как часть «переходной зоны», прилежащей к собственно типичному миометрию, а наружная – это собственно типичный миометрий.

Терминологически при изучении стенки матки в норме и при аденомиозе нами описывались следующие зоны:

- зона эутопического эндометрия (ЭЭ) – функциональный слой и часть базального слоя эндометрия;

- «переходная зона»:

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

- б) миометриальная порция (ВМ) – это внутренние гладкомышечные клетки прилегающие к базальному слою эндометрия;

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

Для морфологической оценки полученных нами микропрепаратов в полном объеме были использованы стандартные гистологические и иммуногистохимические методы: окраска гематоксилином и эозином, реакция Маллори, окрашивание по Массону и Ван-Гизону – набор наиболее известных и широко применяемых окрасок, используемых в различных

клиниках, которые предлагают свой набор реакций для использования стандартного протокола.

### **Окрашивание по Маллори**

Метод направлен на выявление коллагена и ретикулярных волокон. Избирательность данного метода основана на специфическом связывании молибденовой кислоты с соединительнотканными волокнами с последующим присоединением обычных сульфатированных красителей аминотрифенилметанового ряда с помощью их  $\text{NH}_2$ -групп. По результатам окрашивания коллагеновые волокна – темно-синие, эластические волокна – бледно-розовые или не окрашиваются, эритроциты – желтые.

### **Окрашивание по Массону с анилиновым синим**

При использовании данного метода происходит избирательное окрашивание коллагена с помощью анилинового синего. Эта специфика связана со сродством коллагена к определенным кислотным красителям в кислых средах.

### **Окрашивание по Вейгерту / Ван-Гизону**

Данная методика позволяет выявлять эластические волокна соединительной ткани, коллагена и клеточные ядра. Метод основан на сродстве комплекса фуксин-резорцин к эластическим волокнам. В результате использования данного метода эластические волокна и ядра окрашиваются в черный цвет, а коллаген – в различные оттенки красного.

### **Окрашивание по Ван-Гизону**

Этот метод применялся для окраски соединительной ткани с целью типирования в ней коллагеновых волокон с последующей количественной (цифровой) оценкой компонента в прослойках соединительной ткани.

Морфометрическое изучение включало расчет соотношения аморфного и волокнистого компонентов по данным компьютерной морфометрии

микропрепаратов с использованием стандартизированных микрофотографий в tiff-формате, полученных цифровой камерой для микроскопии DCM310 и программы Scion Image. Предварительно, по данным изучения малой площади видеоизображения, равной 10 x 10 пикселей, определяли градационные характеристики видеоизображения, соответствующие аморфному и волокнистому компоненту соединительной ткани, а также объем ядерной массы, характеризующий количество ядерного материала, приходящееся на единицу объема исследуемой ткани в соответствующих зонах, которые в дальнейшем использовали в измерениях. Соотношение аморфного и волокнистого компонентов рассчитывали как процент площади видеоизображения микропрепарата при увеличении 40 x 10 занятой аморфным или волокнистым компонентом. При этом в зависимости от интенсивности окраски ядерная масса подразделялась на гипер- и гипохромную составляющую. Измеряемая площадь составляла 100 x 100 пикселей компьютерного монитора класса SVGA при его разрешении 600 x 800 пикселей. С целью оценки степени организованности формируемого фибриллярного компонента эндометрия использовали показатель энтропии (Автандилов Г.Г., 1990), который следует рассматривать как меру упорядоченности структурно-функциональной целостности объекта. Все цифровые данные подвергались статистической обработке по программе Microsoft Excel.

### **Окрашивание по Фёльгену**

Реакция Фёльгена, используемая для выявления клеточной ДНК, основана на кислом гидролизе нуклеиновой кислоты; при ней сначала пурины, а затем пиримидины отщепляются от дезоксирибозофосфата, в результате чего освобождаются реакционноспособные альдегидные группы. Последние взаимодействуют с реактивом Шиффа. Ядерный хроматин окрашивается в пурпурно-красный цвет.

После окрашивания проводили морфометрию ядер – кариометрию. Измерение диаметра ядра включало определение его по длинной и короткой оси. Эти показатели использовали для расчета эллиптичности ядра, которая представляет собой отношение большего диаметра к меньшему. При этом динамика фактора эллиптичности оценивается как предиктор малигнизации (Sabo E. et al., 2006).

Полученные микропрепараты подвергали компьютерной морфометрии с использованием стандартизированных микрофотографий в tiff-формате, полученных цифровой камерой для микроскопии DCM310. Анализ полученных изображений проводили с помощью компьютерной программы Scion Image фирмы Scion Corporation, сертифицированной в 2000 году National Institute of Health (USA). Числовые значения результатов измерений выражали в единицах, заданных программой Scion Image. Измерению подвергали диаметры ядер клеток, оптическую плотность ядер, эллиптичность. Измеряемая площадь составляла 100 x 100 пикселей компьютерного монитора класса SVGA при его разрешении 600 x 800 пикселей.

### **Окраска пикросириусом красным с последующей поляризационной микроскопией**

Пикросириус красный – двухкомпонентный краситель, в состав которого входят сириус красный F3BA и пикриновая кислота. Основным красящим компонентом является сириус красный- анионный краситель, вступающий в реакцию с основными группами молекул коллагена, при этом молекула красителя ориентируется так, что ее продольная ось параллельна оси коллагенового волокна.

Окраску пикросириусом красным проводили по D. Dayan и др. (1989). Результаты окрашивания пикросириусом красным оценивали в поляризованном свете (Junqueira L.C.V. et al., 1982; Dayan D. et al., 1989) при скрещенном анализаторе микроскопа МП-8. При этом коллаген I типа, состоящий из

плотнупакованных толстых фибрилл, в поляризованном свете дает свечение в спектре от желтого до красного цвета. Коллаген III типа, состоящий из рыхло упакованных тонких фибрилл, дает слабое свечение зеленоватого оттенка.

### **Альциановый синий рН 2,5 (Morwy)**

С целью выявления кислых гликопротеинов в тканевых образцах мы использовали альциановый синий при рН 2,5. Селективность окрашивания обеспечивается избирательным взаимодействием альцианового синего с карбоксильными и сульфатными группами полианионов.

## **Иммуногистохимические методы**

### **Коллагены I, II, IV типов**

Иммуногистохимический анализ выполняли по следующему протоколу:

1. Срезы депарафинировали и гидратировали по стандартной методике.
2. Эндогенную пероксидазную активность блокировали 3 % раствором пероксида водорода.
3. Антигены демаскировали в растворе Access Rodent (Menarino diagnostics, Италия) на водяной бане в течение 40 минут.
4. Неспецифическое связывание антител блокировали раствором Rat Background Block (Menarino diagnostics, Италия) в течение 30 минут.
5. Инкубировали с первичными антителами в течение 16 часов при температуре 4 °С.
6. Промывали раствором фосфатного буфера.

Для использованных антител, выбрана система детекции АВС, которая включала следующие этапы:

- 1) инкубацию с биотинилированными козьими антителами, антиполивалентными в течение 10 минут при комнатной температуре;
- 2) четырехкратную отмывку фосфатным буферным раствором;

- 3) инкубацию со стрептавидин пероксидазой в течение 10 минут при комнатной температуре;
- 4) четырехкратную отмывку фосфатным буферным раствором;
- 5) инкубацию с DAB хромогеном в течение 3-5 минут;
- 6) четырехкратную отмывку фосфатным буферным раствором;
- 7) докрашивание срезов гематоксилином Майера в течение 1 минуты;
- 8) дегидратацию срезов и заключение в монтирующую среду Consul-Mount (Thermo Fisher Scientific).

### **Выявление VEGF-A**

Для выявления сосудистого эндотелиального фактора роста мы использовали антитела anti VEGF antibody (1 : 100, ab 46154 Abcam, Англия) в качестве маркера ангиогенеза, который способствует миграции клеток, а также ингибирует апоптоз.

Для количественного анализа использовали программу Scion Image с целью определения оптической плотности экспрессии данного маркера.

### **Подготовка и получение цервикагинальной слизи для изучения экспрессии VEGF-A**

Забор цервикальной слизи (ЦС) проводили с использованием флоковых тампонов фирмы «Соран» (Италия). Терминальную часть флоковых тампонов с полученным материалом помещали в одноразовые стерильные пробирки (1,5 мл) (Eppendorf), содержащие 1 мл теплого физиологического раствора (38–40°). Образцы с примесью крови (n = 5) были исключены из исследования. Далее проводили заморозку образцов при температуре –20 °С. При накоплении достаточного для проведения исследования количества образцов их одновременно размораживали при комнатной температуре.

### **Оценка уровня экспрессии $\alpha$ -гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA)**

Для выявления экспрессии  $\alpha$ -SMA с последующей количественной оценкой уровня его содержания были использованы антитела anti-Actin antibody (1 : 200, ab 3280, Abcam, Англия).

Нами был проведен количественный морфометрический анализ результатов иммуногистохимического выявления гладкомышечного актина с использованием метода оценки площади позитивных участков в узкой спектральной области с оптической плотностью выше пороговой. Срезы фотографировали с помощью микроскопа Olympus IX 51 с камерой Olympus XC30 (охлаждение элементом Пелетье, CCD матрица с разрешением 2080 × 1544, 12 бит на канал). Все изображения имели одинаковое разрешение и степень увеличения (x 200). Результат фотографирования сохраняли в виде отдельных файлов изображений в 16-битном tiff-формате. С помощью свободного программного обеспечения – Rawtherapee проводили нормализацию изображений по экспозиции и балансу белого. Нормализованные изображения сохраняли в 8-битном tiff-формате. Количественный морфометрический анализ образцов выполняли с помощью разработанной нами программы «DAB analyzer» (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016660185 от 08.09.2016 г.) В ее основе лежит алгоритм цветовой деконволюции, разработанный Ruifrok A.C. и Johnston D.A. Цветовая деконволюция позволяет сегментировать из исходного изображения каналы отдельных цветовых меток и построить карту распределения их оптической плотности на микрофотографии. Данный метод применим при выделении как двух красителей – пары гематоксилин-эозин, гематоксилин-DAB хромоген, так и трех – окраска трихром по Массону, окраска по Маллори.

Сущность разработанного алгоритма состоит в следующем:

1. При запуске программа получает необходимые параметры – пороговые значения сегментации, путь к каталогу с изображениями и другие.

После чего файлы в целевом каталоге подвергаются многопоточной параллельной обработке.

2. Каждый файл подвергается обработке с помощью алгоритма цветовой деконволюции, позволяющей получить карту распределения оптической плотности каждого красителя в исходном изображении.

3. Полученные карты распределения пигмента бинаризируются путем попиксельного сравнения каждой точки изображения с заданным исследователем порогом. Таким образом, только области с оптической плотностью выше заданной считаются положительно окрашенными.

4. Для каждого изображения производится подсчет относительной площади положительного окрашивания.

5. После обработки изображений из заданной серии результаты морфометрического анализа сохраняются в отдельном файле.

Данный алгоритм применяли для всей серии изображений, результаты измерений в виде csv-файла сохранили для последующего анализа и интерпретации. Коэффициент пропорциональности  $\text{мкм}^2/\text{пиксель}$  составил 0,03. Это позволило вычислить площади структур с привязкой к абсолютным значениям.

Общий объем проведенных исследований представлен в таблице 2.

**Таблица 2** – Объем проведенных исследований

Виды исследований	Здоровые женщины		Больные аденомиозом			Всего n = 202
	4 группа (контроль-1) n = 35	5 группа (контроль-2) n = 25	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47	
1	2	3	4	5	6	7
УЗИ с ЦДК	35		46	49	47	177
УЗИ с ЦДК после ФНП	35		46	49	47	177
Гистероскопия			46	49	47	142
Пункционная 6-точечная биопсия миометрия			46	49	47	142

## Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7
Лапароскопия			8	4		12
Экстирпация матки				5	16	21
Надвлагалищная ампутация матки			13	16	31	60
ИФА или РПГА на сифилис	35		46	49	47	177
АТ к АГ ВИЧ	35		46	49	47	177
HBsAg	35		46	49	47	177
Anti HCV	35		46	49	47	177
Re-графия грудной клетки	35		46	49	47	177
ЭКГ	35		46	49	47	177
Влагалищный мазок на степень	35		46	49	47	177
ПЦР-диагностика урогенитальной микрофлоры	35		46	49	47	177
Посев из ц/канала	35		46	49	47	177
Общий анализ крови	35		46	49	47	177
Биохимический анализ крови	35		46	49	47	177
Биохимическая коагулограмма	35		46	49	47	177
Определение концентрации гормонов в сыворотке крови	35		46	49	47	177
Определение уровня экспрессии $\alpha$ -SMA в ГМК		25	46	49	47	167
Определения уровня экспрессии VEGF-A в тканях матки		25	46	49	47	167
Определения уровня экспрессии VEGF-A в цервикальной слизи	35		46	49	47	177

**Окончание таблицы 2**

1	2	3	4	5	6	7
Определение пролиферативного потенциала в тканях матки		25	46	49	47	167
Кариометрия ядер клеток стромального, железистого компонентов эндометрия		25	46	49	47	167
Кариометрия ядер клеток миометрия		25	46	49	47	167

**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 JZ и высокорезистентный кровоток в бассейне маточных артерий связаны с морфологическими изменениями в области «переходной зоны» (избыточный пролиферативный потенциал тканей, патологический неоангиогенез и коллагенообразование, 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.

## **Степень достоверности и апробации результатов работы**

### **Статистический анализ**

Статистическая обработка данных выполнена на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц Microsoft Excel. Все полученные количественные данные обработаны методом вариационной статистики. Полученные результаты выражались в форме средних значений (M) и ошибки среднего (m). Качественные данные представлены в виде показателей частот (%). При сравнении средних значений изучаемых групп процент возможной ошибки находили по таблице t-критерия Стьюдента для парных сравнений, выражаемый в виде значений достоверности различия – «р», где  $p < 0,05$ , принимали как статистически достоверным. Коэффициент корреляции – r и его достоверность рассчитывали по Брауэ-Пирсон, где 0,3–0,5 – умеренная, 0,5–0,7 – значительная и 0,7–0,9 – сильно выраженная связь.

Чувствительность (Se) методов диагностики вычисляли по формуле:

$$Se = \frac{TP}{D} \times 100\%,$$

где TP – истинно положительные результаты исследования; D – количество всех заболевших.

Специфичность (Sp) вычисляли по формуле:

$$Sp = \frac{TN}{D} \times 100\%,$$

где TN – истинно отрицательные случаи; D – здоровые пациенты

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.

**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.

## ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современные представления об аденомиозе

Впервые наличие желез эндометрия в стенке матки описал Карл Рокитанский в 1860 году. Но только в 1972 году С.С. Bird и соавторы предложили действующее по сей день определение внутреннего эндометриоза матки, согласно которому, аденомиоз представляет собой доброкачественную инвазию эндометрия в миометрий, что ведет к диффузному увеличению матки, а микроскопически выражается в наличии эктопически расположенных желез и стромы эндометрия, окруженных гипертрофическим и гиперпластическим миометрием. Данная патология – широко распространенное гинекологическое заболевание, которое встречается у 12–50 % женщин репродуктивного возраста. В структуре гинекологических заболеваний доля аденомиоза среди всех других локализаций составляет от 70 % до 90 % (Коган Е.А. и др., 2014; Шкляр А.А. и др., 2015). Уточнение его формы и темпов прогрессирования заболевания на начальном этапе связано со значительными трудностями (Ищенко А.И. и др., 2013). В последние годы изучение ранней неинвазивной диагностики аденомиоза определяется высокой частотой встречаемости этого заболевания, его ассоциацией с бесплодием (Адамян Л.В. и др., 2013; Коган Е.А. и др., 2014), а также нарушением качества жизни женщины (Рухляда Н.Н., 2004; Непомнящих Л.М. и др., 2012; Rabinovici J., 2015; Kunz G. et al., 2017).

Среди причин бесплодия аденомиоз занимает второе место после трубного фактора и достигает 20 %. Патогенез бесплодия не вполне ясен. Ряд авторов считают, что оно обусловлено гиперперистальтикой или дискоординацией перистальтики матки, что приводит к нарушению

транспорта спермы (Адамян Л.В. и др., 2013; Brosens J.J. et al., 2012; Garry R., 2014; Bulun S.E. et al., 2015). В 96 % случаев женщины так и не реализуют репродуктивную функцию, несмотря на лечение (Адамян Л.В. и др., 2013; Гайдуков С.Н. и др., 2016).

Данная патология чаще встречается в репродуктивном возрасте, средний возраст больных аденомиозом составляет около 30 лет (Стрижаков А.Н. и др., 2014). Некоторые авторы указывают на поздний репродуктивный возраст – 40–50 лет (Адамян Л.В. и др., 2013; Levy G. et al., 2013). По результатам обследования 227 женщин в возрасте от 17 до 46 лет, G. Kunz (2007) установил, что аденомиоз появляется у женщин достаточно рано. Автор связывает его с процессом мышечной гиперактивности (Kunz G. et al., 2007). На этом фоне происходит травматизация матки, в результате чего эндометрий инвагинирует в миометрий. Способность аденомиоза к инфильтративному росту объясняется способностью выделять липолитические и триполитические ферменты (Баскаков В.П. и др., 2012; Дамиров М.М. и др., 2012; Анфигенова Е.А., 2017). В исследованиях последних лет большое внимание уделено изучению процессов пролиферации, апоптоза, экспрессии факторов роста, активности металлопротеиназ и их ингибиторов (Коган Е.А. и др., 2010). Аденомиоз возникает у многорожавших женщин (Стрижаков А.Н. и др., 2014). Беременность приводит к нарушению эпителиально – стромального взаимодействия в зоне эндометриально-миометриального стыка (Brosens J.J. et al., 2012), что способствует инвазии базального слоя эндометрия в прилежащий миометрий (Тихомиров А.Л. и др., 2013; Унанян А.Л., 2013; Rabinovici J., 2015).

Существует множество работ, посвященных изучению этиопатогенеза, а также поиску новых методов лечения данного заболевания (Ваганов Е.Ф., 2011; Дамиров М.М. и др., 2013; Стрижаков А.Н. и др., 2014; Максимова А.А. и др., 2017; Bilotas M. et al., 2006; Leyendecker G. et al., 2015).

По данным многих авторов (Leyendecker G. et al., 2017), возникновение эктопических очагов эндометрия связано с инвазией в миометрий, по другим данным (Зотова О.А. и др., 2013; Давыдов А.И. и др., 2016; Kuligowska E. et al., 2005; Bergeron C. et al., 2006; Bulun S.E. et al., 2009), эктопические очаги развиваются из остатков мюллеровых протоков, третьи указывают на первичные нарушения в иммунной и эндокринной системах (Дамиров М.М., 2004). Тем не менее установить точную причину возникновения аденомиоза так и не удалось. В настоящее время проводятся многочисленные исследования по изучению этиологии и осуществляется поиск новых методов лечения данного заболевания (Nanan A. et al., 2012; Bulun S.E et al., 2009; Bilotas M. et al., 2016).

В объяснении возникновения аденомиоза, по мнению многих авторов, основную роль играют гормональная и иммунологическая теории (Ярмолинская М.И., 2009; Адамян Л.В. и др., 2013; Унанян А.Л. и др., 2013; Горшкова О.Н. и др., 2014; Оразов М.Р., 2014; Хилькевич Е.Г. и др., 2016; Leyendecker G. et al., 2006). В 1908 г. Т. Cullen первым описал классические симптомы внутреннего эндометриоза, такие как маточное кровотечение, дисменорея и изменение размеров матки (увеличение размеров до менструации и уменьшение – после ее окончания).

В отечественной литературе предлагается клиническая классификация диффузного аденомиоза (Адамян Л.В., 2013), согласно которой выделяют 4 стадии распространения. Она рассматривает диффузное поражение миометрия в зависимости от глубины инвазии эндометриальной ткани.

I стадия – патологический процесс ограничен подслизистой оболочкой тела матки.

II стадия – патологический процесс переходит на мышечный слой матки.

III стадия – распространение патологического процесса на всю толщю мышечной оболочки до ее серозного покрова.

IV стадия – вовлечение в патологический процесс, помимо матки, париетальной брюшины малого таза и соседних органов.

## **1.2. «Переходная зона» стенки матки и ее участие в развитии аденомиоза**

Термин «переходная зона» впервые использовала в своих работах Н. Hricak (1983) для описания новой функциональной зоны, расположенной между эндометрием и миометрием – junctional zone (JZ). При исследовании органов малого таза у женщин автор обнаружил на МРТ новую функциональную зону, расположенную между эндометрием и миометрием, что привлекло внимание исследователей в связи с открывающимися возможностями уточнения этиологии, патогенеза и диагностики аденомиоза. Так, например, Brown et al. (1991), пытаясь сопоставить результаты МРТ с гистологическими находками, исследовали внутренний миометрий и выявили, что он характеризуется концентрической ориентацией гладкомышечных клеток, а наружный – их продольной ориентацией. Brosen et al. (2012) при описании «переходной зоны» закрепляют этот термин за Mitchell et al. (1990). При этом они согласны, что дефиниция нормальной «переходной зоны» трудна для анатомического типирования при МРТ. JZ можно интерпретировать как васкулярный слой миометрия, однако нет адекватного объяснения тому, почему эта зона видна при МРТ (Scoutt L.M. et al., 1991).

На XI Всемирном конгрессе по эндометриозу (Франция, 2011 г.) было выдвинуто положение, согласно которому, патологические процессы в матке укладываются в новый синдром аденомиоз/эндометриоз. В основу этого синдрома положены нарушения, происходящие во внутреннем слое миометрия, а именно в «переходной зоне». Она характеризуется рядом структурных и функциональных различий по отношению к внешнему миометрию (Halis et al. 2010). В основу этих различий положены особенности гистогенеза. Как известно, эндометрий матки и внутренний миометрий имеют общий источник своего развития – парамезонефральный проток, окруженный первоначально одним слоем мезенхимных клеток

(Konishi I. et al., 1984). К 14 недели гестационного периода здесь уже типизируются 2 ряда мезенхимных клеток, при этом наружный субсерозный слой содержит клетки более длинные, чем внутренний слой. Гладкие миоциты внутреннего миометрия появляются на 21 недели эмбриогенеза. К 31 недели эмбриогенеза из зрелых гладкомышечных клеток формируются связки. В литературе бытует мнение, что субсерозные клетки мезенхимы формируют наружный миометрий, тогда как клетки внутреннего слоя Мюллера протока являются прогениторными и для эндометриальных клеток стормы, и для внутреннего миометрия. Они по сути завершают фазу органогенетической дифференцировки (Kurita T. et al., 2011). Также ход эмбриогенеза объясняет особенности строения и функции JZ, обнаруживающей гипозхогенность при УЗИ.

Интерес к этой зоне связан еще и с тем, что она по современным представлениям играет важную роль не только в развитии аденомиоза, но и в процессах репродукции и акушерских исходах. Сегодня с использованием различных методов визуализации возможно провести тщательную оценку «переходной зоны», при этом ширина ее в норме зависит от циклических изменений в эндометрии. Одни авторы считают, что максимальное утолщение этой зоны происходит между 16 и 17 днями цикла, другие этот факт отрицают (Novellas S. et al., 2011; Tamai K. et al., 2015). Однако они сходятся в том, что ее толщина с возрастом нарастает до 8 мм. M. Vazot et al. (2001) в результате проведенных исследований выявили, что у 1/3 женщин в период менопаузы в норме «переходная зона» вообще никак не типировалась.

Как пишут M. Dueholm et al. (2001), «переходная зона» не представляется одинаковой по толщине на всем протяжении. В ней можно вычислить максимальную и минимальную толщину на передней и задней стенках. При этом величина различий толщины более, чем 5 мм является показателем аденомиоза. В то же время S. Novellas et al. (2011) установили, что при толщине «переходной зоны» 12 мм и более, диагноз «аденомиоза» очевиден, с

точностью до 85 % и специфичностью – 96 %. Вместе с тем M. Bazot et al. (2011) отмечают, что чувствительность, не превышает 63 %. Так, среди критериев раннего определения аденомиоза называют три следующих: первый – это толщина «переходной зоны», в пределах от 8 до 12 мм (Bazot M. et al., 2011; Dueholm M. et al., 2012); второй – соотношение толщины «переходной зоны» к толщине всего миометрия – 40 % (Exacoustas C. et al., 2013) и третий – различие между максимальной и минимальной толщиной «переходной зоны» ( $JZ_{\max} - JZ_{\min} = JZ_{\text{dif}}$ ) составляет более, чем 5 мм. При этом первые два критерия могут находиться под влиянием гормонов, тогда как третий признак представляется более индифферентным. Не исключено, что утолщение «переходной зоны» – это результат инфильтрации зоны внутреннего миометрия. Эта концепция опирается на многие факты, первый из которых заключается в том, что толщина «переходной зоны» будет более значительной, чем инфильтрация желез в зону миометрия (Levy G. et al., 2006).

Возвращаясь к определению аденомиоза, данному С.С. Bird et al. (1972), можно считать, что «переходная зона» матки отличается от аналогичных участков других зон организма отсутствием четко выраженного протективного слоя или мембраны, а эндометриальные железы лежат на внутреннем миометрии (Fusi L. et al., 2006), что приближает эту зону к типичной подслизистой основе.

Цель морфометрических и иммуногистохимических исследований – выявление особенностей «переходной зоны». Выдвигается положение о том, что гиперплазия этой зоны является ранним предиктором развития аденомиоза. По данным большинства авторов, наиболее перспективным направлением в изучении этиологии и патогенеза аденомиоза признано исследование молекулярно-биологических особенностей эутопического и эктопического эндометрия (Адамян Л.В. и др., 2013; Ордянец И.М. и др., 2014; Стрижаков А.Н. и др., 2014; Bulun S.E et al., 2004; Mehaseb M.K. et al., 2011). Kunz G., Leyendecker G. (2015), анализируя эффект гиперплазии

миометрия при аденомиозе, утверждают, что выявленные при электронной микроскопии изменения только гладких миоцитов не могут объяснить весь патогенетический комплекс при аденомиозе. Тем не менее, Kaligowka E. et al. (2005) предположили, что одной из причин развития аденомиоза видится отсутствие базальной мембраны или наличие возможных дефектов мембраны между эндометрием и миометрием, что позволяет эндометрию врастать в миометрий. Эндометриальные железы проникают в зону миометрия и формируют эктопические интрамиометриальные железы, что приводит к гипертрофии и гиперплазии соседнего миометрия (Коган Е.А. и др., 2014; Vercellini P. et al., 2006).

Особого внимания заслуживает положение, выдвинутое G. Benagiano, I. Brosens (2012) о двух возможных вариантах патологии матки с учетом характеристики ее эпителиальных, стромальных и гладкомышечных клеток: 1) доминирование стромальных и эпителиальных клеток с развитием эндометриоза; 2) превалирование гладкомышечных клеток с развитием аденомиоза. При этом в обоих случаях важная роль отводится «переходной зоне», а в основе развивающихся патофизиологических процессов лежит нарушение функции и молекулярно абберрантные преобразования эндометрия. Описанные изменения индуцируются нарушением иммунологического статуса, инвазией, снижением апоптоза, изменением экспрессии специфических генов и протеинов, и увеличением продукции цитокинов.

Наряду с морфологическими исследованиями ведущую роль в диагностике аденомиоза играют иммуногистохимические методы, призванные дать характеристику этого заболевания на молекулярном уровне.

Обзор литературы позволяет констатировать, что наиболее изученным иммуногистохимическим фактором при аденомиозе следует считать Ki-67. Так, по данным иммуноцитохимического анализа, проведенного Л.М. Непомнящих и др. (2013) оказалось, что в случае с аденомиозом Ki-67

выявляется как в клетках эндометрия, так и миометрия, при этом индекс метки в различных клеточных популяциях варьируется. Наиболее высокий индекс регистрируется в эпителиоцитах эндометриальных желез, но при очаговом аденомиозе. Авторы отмечают, что для стромального варианта при характерной для него железистой гиперплазии эндометрия индекс Ki-67 почти в 3 раза ниже. По данным А.К. Лужниковой (2012), нормальный эндометрий отличается высоким уровнем экспрессии, но снижается при диффузном аденомиозе и особенно резко – в случае очагового аденомиоза. Вместе с тем М.К. Mehaseb et al. (2011) отмечают отсутствие экспрессии Ki-67 в контроле и слабый уровень его при аденомиозе, при этом экспрессия этого компонента для внутреннего слоя миометрия составила 0,8 %, а для наружного слоя – 0,4 %. И.П. Зарубина и др., (2009) предлагают использовать маркер Ki-67 для дифференцировки эутопического эндометрия, где его экспрессия низкая, тогда как эктопический эндометрий отличается высокой степенью экспрессии Ki-67.

Достаточно хорошо изученным маркером считаются и металлопротеиназы (Унанян А.Л. и др., 2013). Так, Л.М. Непомнящих и др. (2012) провели изучение характера экспрессии MMP-1, 2, 7, 9 для клеток стромы очагов аденомиоза и аутологичного гиперплазированного эндометрия и обнаружили повышение уровня экспрессии упомянутых маркеров по сравнению с неизмененным эндометрием. Изучение экспрессии металлопротеиназ MMP-2 и MMP-9 показало, что их можно считать маркерами инвазивного роста, при этом наиболее высокая активность оказалась характерной для эпителия очагов аденомиоза типа гиперплазии с атипией (Е.А. Коган и др., 2014; Ткачева Е.В. и др., 2015). Авторы считают, что расщепление экстрацеллюлярного матрикса собственной пластинки эндометрия этими ферментами способствует распространению инвазии стромальных клеток и эпителия эндометрия вглубь миометрия (Ткачева Е.В. и др. 2015)

С.В. Савельев и др. (2011) изучили распределение коллагена IV типа при аденомиозе. Оказалось, что при иммуногистохимическом выявлении этого белка повышенная экспрессия его регистрируется на участках, где стенки артериол или капилляра контактирует с ГМК, этот контакт индуцирует их активную пролиферацию и атипичную дифференцировку, что и приводит к возникновению миоматозных узлов.

I. Brosens et al. (2012) считают, что повышение инвазивного потенциала клеток эндометрия при аденомиозе – это снижение экспрессии трансмембранного белка E-кадгерина. На этом фоне происходит нарушение связей между ГМК миометрия, коллагеновыми и эластическими волокнами и окружающими эти волокна клетками.

Иммуногистохимическое изучение экспрессии различных сигнальных молекул показало, что прогрессирование и рост очагов аденомиоза происходит под влиянием общего и локального гиперэстрогенизма с участием продуцируемого *in situ* фактора роста COX-2, а также VEGF, обладающих синергетным действием (Коган Е.А. и др., 2013; Оразов М.Б. и др., 2015). Авторы не исключают, что очаги аденомиоза с гиперплазией и атипией могут быть источником развития аденокарциномы тела матки.

В исследовании М.К. Mahasseb et al. (2011) показано распределение десмина и виментина в миометрии как главных компонентов промежуточных филаментов. Оказалось, что в случае аденомиоза экспрессия десмина совпадает с контролем. Виментин выявляется в высоких концентрациях в прослойках соединительной ткани, окружающей мышечные волокна. Сами мышечные клетки окрашиваются слабо.

А.Л. Унанян и др. (2013) изучали уровень экспрессии *bax* в эндометрии. Оказалось, что при активном аденомиозе показатель ниже, чем при неактивном. Эти данные авторы интерпретируют как увеличение показателя индуктора апоптоза.

Поскольку аденомиоз характеризуется активным циклом ангиогенеза (Gargett С.Е. et al., 2007; Gargett С.Е. et al., 2011), достаточно много работ

посвящено изучению наиболее типичного фактора ангиогенеза VEGF-A. В эндометрии экспрессия этого фактора коррелирует с неоваскуляризацией. VEGF-A при аденомиозе выявляется в эпителиальных и стромальных клетках и модулируется активином A (Rocha A.L. et al., 2012). Активность сосудистого фактора роста была достаточно высокой в эпителии очагов аденомиоза типа гиперплазии с атипией и низкой – в эпителии неактивных очагов (Коган Е.А. и др., 2013). В работе М.Р. Оразова и др. (2015) изучены нейрососудистые отношения в стенке матки при аденомиозе. Авторы отмечают наличие высокой степени экспрессии VEGF-A фактора в миометрии: в участках ремоделирования миометрия VEGF-позитивные клетки выявлялись в зоне периваскулярных инфильтратов. Экспрессия VEGF-A была сопряжена с эктопическим ростом эндометрия и с эффектом ремоделирования миометрия. Более того, эндометриальные клетки могут синтезировать и секретировать VEGF-A.

Распределение гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA) в миометрии при аденомиозе изучено М.К. Mehaseb et al. (2011). Иммуногистохимия  $\alpha$ -SMA показала отсутствие различия экспрессии этого фактора в контроле и при аденомиозе. Это позволило авторам прийти к заключению о том, что гипертрофия миометрия при аденомиозе – это результат увеличения объема экстрацеллюлярного матрикса. На этом фоне происходит нарушение нормальной геометрии мышечных волокон.

### **1.3. Современные возможности и перспективы ранней диагностики аденомиоза**

Основными современными методами неинвазивной диагностики аденомиоза является трансвагинальное УЗИ, МРТ (Garcia L. et al., 2011; Di Donato N. et al., 2015, Ferreira de Souza L.R.M et al., 2017). Эти методы абсолютно безопасны, не имеют противопоказаний и позволяют исследовать

все слои стенки матки (Баскаков В.П. и др., 2012; Адамян Л.В. и др., 2013). Информативность МРТ составляет 42–64 % (Адамян Л.В., Кулаков В.И., 1998). МРТ диагностика аденомиоза основана на обнаружении толщины разделительной зоны «миометрий-эндометрий» 8–12 мм, отображающей локальную гиперплазию миоцитов, окружающих эндометриальные гетеротопии. В то же время, когда аденомиоз не сопровождается выраженной локальной гладкомышечной гиперплазией, что возможно при ранних стадиях аденомиоза, данные МРТ неинформативны (Шкляр А.А. и др., 2015; Agostinho L.I.R. et al., 2016; Chapron C. et al., 2017). Кроме того, МРТ – дорогостоящий метод с ограниченной доступностью, что затрудняет его применение для ранней диагностики заболевания, когда его симптоматика отсутствует или слабовыражена.

Диагностическая чувствительность УЗИ с анализом ретроспективных данных и гистологическим подтверждением заболевания, по данным различных авторов, колеблется от 45 до 90 %, ложноотрицательные результаты отмечены в 8,5 % наблюдений, а ложноположительные – в 14 % (Мельников М.В. и др., 2012; Тапильская Н.И. и др., 2015; Поморцев А.В. и др., 2015; Саидданеш Ш.Ф. и др., 2017). Нельзя не учитывать то обстоятельство, что на результат УЗИ при аденомиозе немалое влияние оказывает субъективная интерпретация изображения, поскольку размеры гетеротопий очень малы (Дамиров М.М., 2012). Выявление эхонегативных (анэхогенных) кистозных образований, заполненных мелкодисперсной жидкостью, является единственным достоверным признаком аденомиоза, имеющим гистологическое соответствие в виде кистозно расширенных эндометриальных желез, заполненных кровью (Хачатрян А.К., 2006; Reinhold C. et al., 2008). Однако процент выявления данного признака крайне низок (Bazot M. et al., 2011).

Считается, что наиболее характерными ультразвуковыми признаками аденомиоза являются увеличение передне-заднего размера матки за счет

утолщения ее стенок, появление в миометрии различной величины гипер- и анэхогенных округлых образований, имеющих не всегда четкие контуры.

Неравномерность толщины стенок матки, выявляемая при II–III степенях аденомиоза, чаще наблюдается за счет увеличения задней стенки (Буланов Н.М и др., 2014; Atri M. et al., 2000). При проведении УЗИ в динамике менструального цикла отмечается, что появляются ультразвуковые признаки эндометриоза за 3–5 дней до менструации и или исчезают или значительно уменьшаются к седьмому дню цикла (Буланов Н.М. и др., 2014; Гайдуков С.Н. и др., 2015).

В настоящее время, по мнению многих авторов (Буланов Н.М и др., 2014), можно выделить ведущие (основные) эхографические признаки заболевания, к которым относят:

- увеличение матки в основном за счет передне-заднего размера и асимметричное утолщение одной из стенок;
- зоны повышенной эхогенности круглой или овальной формы в миометрии, анэхогенные участки или кистозные полости, содержащие мелкодисперсную взвесь;
- нечеткий контур полости матки (неравномерность толщины базального слоя эндометрия, его зазубренность);
- зоны повышенной эхогенности в миометрии, дающие линейные акустические тени;
- гиперэхогенные линейные структуры на границе эндометрия и миометрия.

Более четкая визуализация наблюдается на более поздних стадиях, когда уже можно обнаружить ультразвуковые критерии аденомиоза (Демидов В.Н., Гус А.И., 2012).

Вспомогательную роль в диагностике аденомиоза при проведении УЗИ могут играть цветное доплеровское картирование (ЦДК) и доплерометрия, основанные на регистрации скоростей движения крови

(Поздняков С.А. и др., 2006; Семенов И.А., 2007; 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). При этом значительные изменения происходят в сосудистой системе матки и, в частности, в микроциркуляторном русле (Семенов И.А., 2007; Арутюнян А.Ф. и др., 2013). Результаты доплерографии показали, что у больных с аденомиозом I степени наблюдался низкорезистентный маточный кровоток, что свидетельствует о повышенной васкуляризации матки в начальных этапах развития заболевания. В то же время у пациенток с аденомиозом II–III степени определялся высокорезистентный кровоток как в маточных артериях, так и в сосудах миометрия, который указывает на ухудшение кровотока в сосудистом бассейне матки (Арутюнян А.Ф. и др., 2013).

Гистероскопия, являясь инвазивным методом, позволяет детально рассмотреть внутреннюю поверхность матки, устья маточных труб, визуализировать эндометриоидные ходы, открывающиеся в полость матки и имеющие вид темно-красных точечных отверстий, диффузно или очагово расположенных на фоне бледно-розовой слизистой оболочки (симптом пчелиных сот), изменение рельефа стенки матки в виде складок, крипт, хребтов и очаговых выбуханий (Непомнящих Л.М., 2012; Ключаров И.В. и др., 2013; Ищенко А.И. и др., 2013; Оразов М.Р., 2013; Бреусенко В.Г. и др., 2014; Саидданеш Ш.Ф. и др., 2017). Общепринятая гистероскопическая классификация аденомиоза по степени распространения была принята в 1997 году (Савельева Г.М., Бреусенко В.Г., 2014).

I степень – рельеф стенок не изменен, определяются эндометриоидные ходы в виде глазков темно-синюшного цвета или открытые кровоточащие. Стенки матки при выскабливании обычной плотности;

II степень – рельеф стенок матки (чаще задней стенки) неровный, имеет вид продольных или поперечных хребтов или разволокненных мышечных волокон, визуализируются эндометриоидные ходы. Стенки матки ригидные, полость плохо растяжима, стенки плотнее, чем обычно;

III степень – по внутренней поверхности матки определяются выпуклости различной величины без четких контуров. На их поверхности иногда визуализируются эндометриоидные ходы. Поверхность стенки неровная, отмечается ребристость, стенки плотные, при выскабливании слышен скрип.

Верификация аденомиоза, особенно ранних стадий, основанная только на гистероскопической картине может быть ошибочной. Для ее констатации необходимо предварительное инструментальное удаление функционального слоя эндометрия. При выскабливании слизистой тела матки повреждается целостность сосудистой системы базального слоя и, нередко за эндометриоидные гетеротопии принимаются кровоточащие венулы (Давыдов А.И. и др., 2015). Кроме того, гистероскопия не позволяет определить гистологическую стадию распространенности патологического процесса, поскольку определяет лишь прилежащие к полости матки слои эндометрия (Дамиров М.М., 2012). При аденомиозе лапароскопическая диагностика возможна только в случае поражения всей толщи матки с вовлечением серозной оболочки (Пересада О.А., 2011).

Морфологическое исследование является самым достоверным способом диагностики аденомиоза, так как характер патологического процесса анализируется как на основании его макроскопической оценки, так и при микроскопическом исследовании (Адамян Л.В. и др., 2015; Самоделкин Е.И. и др., 2015; Анфигенова Е.А., 2017). Макроскопически при аденомиозе матка имеет неравномерно плотную консистенцию, утолщенные стенки, причем чаще заднюю. На разрезе ткани матки визуально определяются как слегка выпуклые, плохо очерченные, без капсулы островки белесоватой ткани со спиралевидно закрученными волокнами, между которыми находятся пучки мышечной ткани (Адамян Л.В. и др., 2013; Баскаков В.П., 2012; Дамиров М.М., 2012). Что же касается микроскопического исследования, то материал для изучения получают, как правило, путем биопсии или же после гистерэктомии. Являясь инвазивным

методом диагностики аденомиоза, хоть и относительно безопасным, пункционная биопсия миометрия позволяет получать гистологический материал, пригодный для дальнейшего исследования с целью диагностики аденомиоза (Фридман Д.Б. и др., 2005; Коган О.М. и др., 2012).

Приведенный нами литературный обзор свидетельствует о том, что неинвазивная диагностика ранних стадий аденомиоза остается крайне актуальной и до сих пор не решенной проблемой. На сегодняшний день те клинические и инструментальные методы, которые используются для диагностики аденомиоза являются либо инвазивными (биопсия, гистероскопия), либо недостаточно информативными для выявления данной патологии на ранних стадиях. Несомненно, дисфункции «переходной зоны» участвуют в развитии аденомиоза, возможно, как ключевой компонент его этиопатогенеза. Изучение «переходной зоны» с оценкой ее пролиферативной активности, ангиогенной характеристикой в норме и при различных степенях распространения аденомиоза, в эктопическом и эутопическом эндометрии открывает перспективы углубления и расширения представлений о патогенезе аденомиоза. Проведение прямых клинико-морфологических сопоставлений позволит совершенствовать раннюю его диагностику.

## ГЛАВА II. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1. Оценка информативности различных методов диагностики диффузного аденомиоза (данные ретроспективного анализа)

С целью оценки информативности стандартно применяющихся методов для выявления диффузного аденомиоза на ретроспективном этапе исследования было проанализировано 456 карт больных, находившихся на стационарном лечении с 2014 по 2016 годы в гинекологическом отделении ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодар, гинекологическом отделении МБУЗ Роддом г. Краснодар, БАГК ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, которым по различным клиническим показаниям была произведена гистерэктомия.

У этих больных на основании клинико-инструментального и/или гистологического методов исследования был выставлен диагноз «диффузный аденомиоз» различных степеней. Комплекс исследований, уточняющих диагноз по данным историй болезни, включал трансвагинальное ультразвуковое исследование (ТВУЗИ), жидкостную гистероскопию с проведением отдельного диагностического выскабливания и последующим гистологическим исследованием соскоба, а также гистологическое исследование материала полученного в ходе операции. У 334 пациенток аденомиоз был выявлен или подтвержден гистологически. При этом из 334 пациенток аденомиоз различных степеней по результатам ТВУЗИ был выявлен в 149 случаях, по результатам гистероскопии в – 201 случае. У 122 пациенток аденомиоз был диагностирован по данным клинико-инструментальных исследований и не являлся основным диагнозом, обуславливающим удаление органа, и позднее не был подтвержден результатами гистологического исследования. Из них 112 пациенткам аденомиоз был выставлен по данным УЗИ, а 79 – по данным гистероскопии.

192 из 456 пациенток (46,4 %) была произведена экстирпация матки и 264 (53,6 %) – надвлагалищная ампутация матки. Наиболее частыми показаниями к операции явились миома матки и/или аденомиоз в сочетании с рецидивирующими гиперпластическими процессами в эндометрии, отмеченные у 260 пациенток (57 %), быстрый рост или вторичные изменения в миоматозном узле – 176 случаев (38,6 %), а также аденомиоз III степени и неэффективность консервативной терапии аденомиоза, сопровождающегося менометроррагией и выраженным болевым синдромом – у 93 пациенток (20,3 %). Пограничная опухоль яичника в сочетании с миомой и/или аденомиозом служила показанием для гистерэктомии у 31 больной (6,7 %).

**Таблица 3** – Показания к гистерэктомии

Миома матки	Миома матки и аденомиоз	Аденомиоз (II–III степень)	Пограничная опухоль яичника в сочетании с миомой и/или аденомиозом	Всего
156	176	93	31	456

Из 456 случаев гистерэктомии 83 пациенткам (18,2 %) была произведена экстирпация матки с обеими придатками, 12 (2,6 %) – экстирпация матки и придатков с одной стороны, 49 (10,7 %) – экстирпация матки без придатков, 12 пациенткам (2,6 %) была произведена надвлагалищная ампутация матки с придатками и с резекцией большого сальника; 127 (27,8 %) – надвлагалищная ампутация матки и придатков с одной стороны, 217 (47,6 %) – надвлагалищная ампутация матки без придатков (рисунок 2).

Средний возраст пациенток составил  $43,3 \pm 8,8$  года. Длительность заболевания, приведшего к гистерэктомии, составила  $8,6 \pm 4,73$  лет. Статистических различий по особенностям гинекологического анамнеза по группам нами выявлено не было. В гинекологическом анамнезе отмечалась высокая частота хронических воспалительных заболеваний женских половых органов (хронический метроэндометрит и/или сальпингофорит) – 348

пациенток (76,3 %), неоднократно проходивших курсы антибактериальной и противовоспалительной терапии. Лечение дисбиоза влагалища и кольпитов проводили в анамнезе 358 больных (78,5 %). Воспалительные заболевания были ассоциированы как с бактериальной патогенной и условно – патогенной флорой, так и с урогенитальной инфекцией.



Рисунок 2 – Долевое соотношение показаний к гистерэктомии

При анализе клинических данных пациенток нами не было обнаружено достоверной разницы по большинству анализируемых параметров между пациентками с наличием гистологически подтвержденного аденомиоза и без него. Гиперполименорея, метроррагия, анемия, болевой синдром и дисменорея встречались с равной частотой случаев (таблица 4). Таким образом, анамнестические и клинические данные не позволяют достоверно дифференцировать аденомиоз по клинической симптоматике.

Проведя анализ чувствительности и специфичности методики стандартного УЗИ и гистероскопии, мы получили следующие результаты (таблица 5).

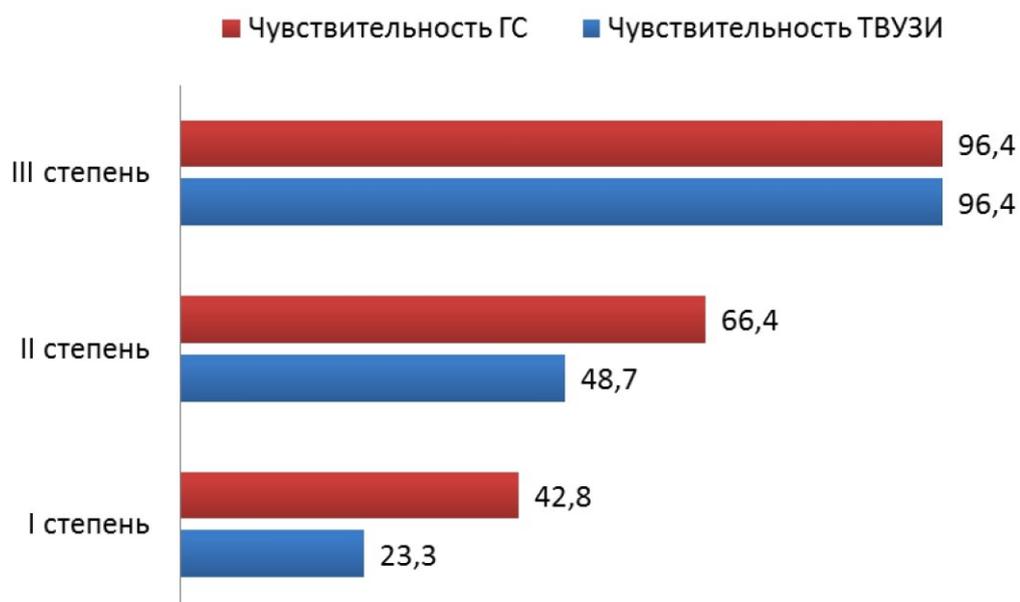
Чувствительность ТВУЗИ для аденомиоза I степени составила 23,3 %, для аденомиоза II степени – 48,7 %, для аденомиоза III степени – 96,4 %. Специфичность данной методики составила для аденомиоза I степени составила 39,3 %, для аденомиоза II степени – 63,4 %, для аденомиоза III степени – 97,3 %.

**Таблица 4** – Распределение пациентов с различными клиническими симптомами заболевания (n = 456)

Параметры	Гистологически подтвержденный аденомиоз n = 334		Гистологически не подтвержденный аденомиоз n = 122	
	Абс.	%	Абс.	%
Гиперполименорея	284	85,0	118	83,1
Метроррагия	234	70,1	102	73,1
Анемия	302	90,4	96	92,6
Болевой синдром	184	55,1	87	58,2
Дисменорея	150	44,9	35	43,4

**Таблица 5** – Чувствительность ТВУЗИ и гистероскопии для верификации аденомиоза различной степени тяжести

	Аденомиоз			
	I степень	II степень	III степень	Всего
Результат гистологического исследования	159,0	119,0	56,0	334,0
ТВУЗИ	37,0	58,0	54,0	149,0
Чувствительность ТВУЗИ	23,3	48,7	96,4	44,6
Гистероскопия	68,0	79,0	54,0	201,0
Чувствительность гистероскопии	42,8	66,4	96,4	60,2

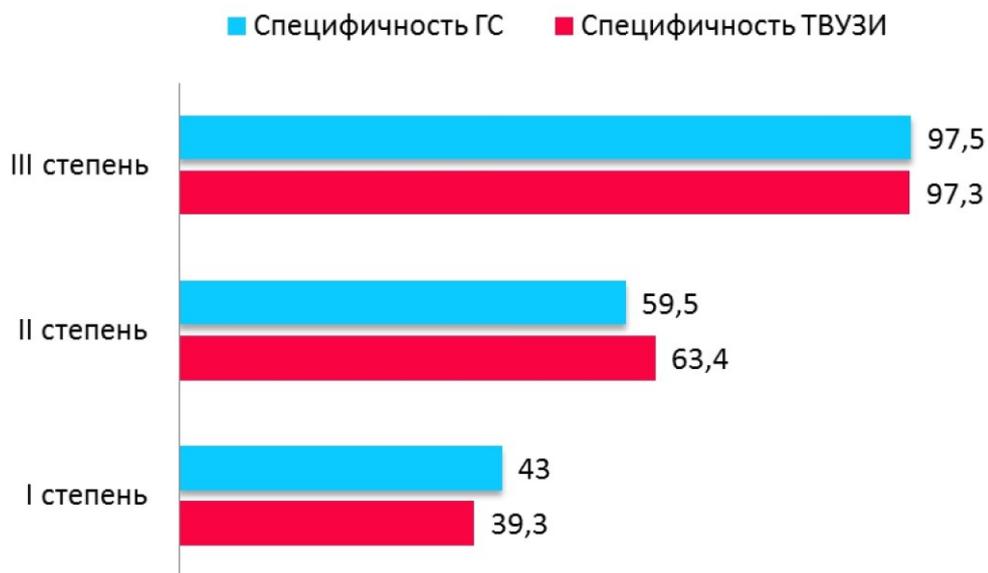


**Рисунок 3** – Показатели чувствительности ТВУЗИ и гистероскопии для верификации аденомиоза различной степени тяжести

При анализе результатов верифицирующей возможности гистероскопии выявлено, что чувствительность данного метода по результатам ретроспективного исследования составила для аденомиоза I степени 42,8 %, для аденомиоза II степени – 66,4 %, для аденомиоза III степени – 96,4 %. Специфичность данной методики составила для аденомиоза I степени 43,0 %, для аденомиоза II степени – 59,5 %, для аденомиоза III степени – 97,5 % (таблица 6, рисунок 4).

**Таблица 6** – Специфичность ТВУЗИ и гистероскопии для верификации аденомиоза различной степени тяжести

	Аденомиоз		
	I степень	II степень	III степень
ТВУЗИ	68	41	3
Специфичность ТВУЗИ	39,3	63,4	97,3
Гистероскопия	45	32	2
Специфичность гистероскопии	43,0	59,5	97,5



**Рисунок 4** – Показатели специфичности ТВУЗИ и гистероскопии для верификации аденомиоза различной степени тяжести

Из представленных данных следует, что чувствительность и специфичность гистероскопии далеки от параметров «золотого стандарта» при диагностике ранних степеней аденомиоза. Стандартное УЗИ,

включающее многочисленные качественные ультразвуковые признаки, также не обладает достаточной чувствительностью и специфичностью для диагностики аденомиоза I степени, что подтверждает литературные данные об отсутствии на сегодняшний момент методик эффективной ранней верификации аденомиоза на дооперационном этапе.

## 2.2. Клиническая характеристика обследованных пациенток с аденомиозом различной степени

Подробное обследование больных с аденомиозом (n = 142) показало, что у большинства пациенток наблюдались клиничко-анамнестические особенности.

Возраст больных аденомиозом варьировал от 25 до 54 лет.

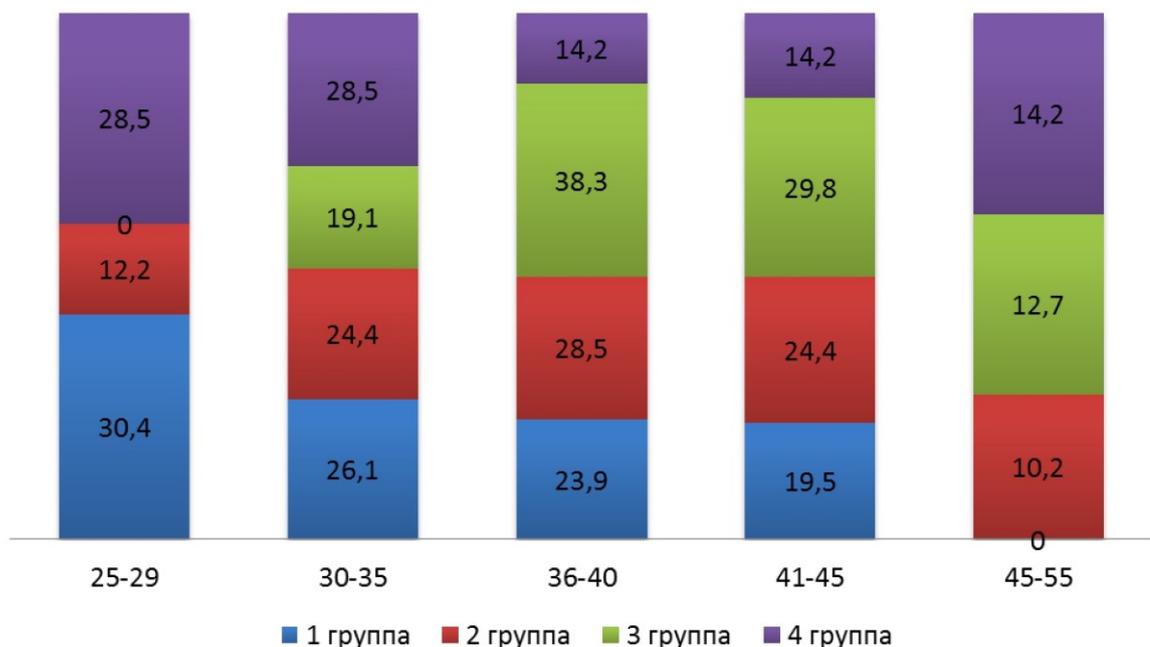
**Таблица 7** – Распределение обследованных больных аденомиозом по возрасту

Возрастной период	1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47		4 группа n = 35 (контроль-1)	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
25–29	14*	30,4	6^	12,2	0**	0	10	28,5
30–35	12	26,1	12	24,4	9**	19,1	10	28,5
36–40	11	23,9	14	28,5	18	38,3	5	14,2
41–45	9	19,5	12	24,4	14	29,8	5	14,2
46–55	0	0	5	10,2	6	12,7	5	14,2

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей во 2 группе; ^ – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 3 группе; \*\* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 1 группе.

В 1-й группе преобладали пациентки репродуктивного возраста – 26 пациенток (56,5 %) и позднего репродуктивного возраста – 20 больных (41,3 %). Во 2-й группе также преобладали женщины репродуктивного 18 (36,7 %) и

позднего репродуктивного возраста 26 (53 %), в перименопаузальном возрасте находилось 5 (10,2 %) пациенток. В третьей клинической группе преобладали пациентки позднего репродуктивного возраста – 27 (57,4 %) и наблюдалось максимальное количество пациенток перименопаузального возраста 6 (12,7 %) по сравнению с первыми двумя клиническими группами, и только 9 (19,1 %) больных репродуктивного возраста. Эти данные, вероятно, свидетельствуют о том, что аденомиоз, как хроническое заболевание, у пациенток в раннем репродуктивном возрасте развивается малосимптомно и постепенно прогрессирует, проявляясь выраженной клиникой распространенных стадий уже в четвертой декаде жизни.



**Рисунок 5** – Распределение клинических групп пациенток по возрастному периоду

Основными поводами для обращения к врачу служили: дисменорея (жалобы на ноющие боли внизу живота за 2–5 дней до начала менструации и болезненные менструации), неустойчивый, склонный к гиперполименорее менструальный цикл (длинные, более 7 дней менструации, сочетающиеся с коротким менструальным циклом 23–25 дней), кровомазание до и после менструации, а также в дни предполагаемой овуляции, маточные кровотечения различной интенсивности, бесплодие длительностью от 2 до 6 лет.

**Таблица 8** – Распределение пациентов в наблюдаемых группах с различными клиническими симптомами заболевания (n = 142)

Показания для обращения	1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Дисменорея	46	100	49	100	47	100
Кровомазание до и после менструации	35	76	44	89,8	47	100
Кровомазание в середине менструального цикла	8	17,3	15*	30,6	3	6,1
Гиперменорея	22*	47,8	49*	100	4	8,5
Гиперполименорея	9*	19,5	32	65,3	35	69,2
Метроррагия	1*	2,2	2*	4,1	34	72,3
Бесплодие	19*	67,8	7	25	2	7,1

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей в первой и второй клинических группах по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в третьей клинической группе.

Наиболее частым симптомом заболевания по данным нашего исследования явилась дисменорея. Частота дисменореи у пациенток всех клинических групп составила 100 %. Причем выраженность дисменореи оценивалась пациентками как средняя в 50,7 % и как тяжелая в 22,5 %. У 34 пациенток 1 группы (аденомиоз I степени) преобладала средняя степень дисменореи – (73,9 %). У пациенток 2 группы (с аденомиозом второй степени) средняя степень дисменореи выявлена у 21 больной (46,9 %), тогда как тяжелая – у 15 (38,7 %). У пациенток с аденомиозом III степени (3 группа) также приблизительно в равных долях встречалась дисменорея легкой и средней степени тяжести (42,6 % и 36,1 % соответственно).

Вторым по распространенности симптомом в обследуемых группах было кровомазание до и после менструации, причем при ранней, I степени распространения аденомиоза, данный симптом выявлялся у 35 больных (76 %), частота данного синдрома была статистически значимо увеличена при второй стадии аденомиоза (2 группа), у пациенток 3 группы данный симптом

**Таблица 9** – Выраженность дисменореи у пациенток с аденомиозом

Степень дисменореи	1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
1 (легкая)	5*	10,8	7	14,2	15**	42,6
2 (средняя)	34*	73,9	21	46,9	17**	36,1
3 (тяжелая)	7*	15,2	15 <sup>^</sup>	38,7	10	21,2

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей во 2 группе; ^ – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 3 группе; \*\* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 1 группе.

нивелировался за счет достоверного увеличения гиперполименореи и метроррагии ( $p < 0,05$ ). Кровомазание в середине менструального цикла достоверно значимо чаще ( $p < 0,05$ ) в изолированном виде встречалось у пациенток 2 клинической группы – 15 (30,6 %), как и гиперменорея, имеющая место у 100 % женщин второй группы.

Симптом гиперполименореи – обильные и длительные менструации – выявлен у 32 больных (65,3 %) 2 группы и у 35 (69,2 %) 3 группы, тогда как у пациенток 1 группы данный симптом наблюдался всего у 9 (19,5 %) женщин. Метроррагия в 1 и 2 клинических группах присутствовала в единичных случаях (таблица 8). При этом у пациенток 3 группы метроррагия с достоверно значимой увеличенной частотой ( $p < 0,05$ ) по сравнению с пациентками 1 и 2 группы наблюдалась у 34 (72,3 %), причем по поводу данного симптома более чем у половины пациенток ранее уже проводилось раздельное диагностическое выскабливание.

Бесплодие наиболее часто (43,4 %) являлось причиной обращения за амбулаторной помощью пациенток, у которых впоследствии был заподозрен и подтвержден аденомиоз I степени (1 группа), причем в анамнезе у 5 из них были неудачные попытки экстракорпорального оплодотворения. Таким

образом, у больных с I стадией аденомиоза в клинической картине заболевания преобладает дисменорея, пред- и постменструальные кровомазания, гиперменорея, неустойчивый менструальный цикл и бесплодие. Для пациенток с аденомиозом II и III степени помимо дисменореи характерны менометроррагии и маточные кровотечения различной интенсивности. Полученные нами данные подтверждают общепризнанное мнение о том, что клиническая симптоматика начальной степени аденомиоза неспецифична и не позволяет верифицировать заболевание, что приводит к его прогрессированию до тяжелых, консервативно некурабельных степеней.

Семейный анамнез практически у половины обследованных пациенток (68 (47,8 %)) характеризовался наличием доброкачественных (гормонозависимых) опухолевых и опухолевидных заболеваний матки и придатков у близких родственников.

Кроме того, у пациенток с аденомиозом выявлена большая частота встречаемости разнообразных эндокринно-обменных нарушений, имевших место у ближайших родственников: у 42 женщин (29,6 %) они страдали ожирением, в 6 случаях (8,5 %) – болели сахарным диабетом II типа, а в 8 случаях (11,4 %) – имели патологии щитовидной железы. Причем достоверной разницы по частоте встречаемости патологии по группам отмечено не было. Таким образом, практически у всех пациенток имелся фактор отягощенной наследственности, чаще по материнской линии, в основном доброкачественными опухолями половых органов и эндокринной патологией. У 47 пациенток (33,1 %) в семейном анамнезе встречался аденомиоз, что может свидетельствовать о генетической предрасположенности к данному заболеванию.

Соматический анамнез у пациенток с аденомиозом был проведен с учетом детского и юношеского периода, формирующего репродуктивное здоровье пациенток. Выявлена достаточно высокая частота (114 больных (80,3 %)) встречаемости детских инфекций (корь, краснуха, ветряная оспа в

различных сочетаниях), частые заболевания ЛОР-органов (хронический тонзиллит, аденоидит, гайморит др.), а также более высокую подверженность (96 пациенток (67,6 %)) острым респираторным заболеваниям пациенток с аденомиозом по сравнению с 4 группой (контроль-1), а также достоверно значимая частота встречаемости вегетососудистых дистоний в препубертатном и постпубертатном периоде у пациенток с аденомиозом по сравнению с 4 группой (контроль-1) (53,5 %, против 1,6 %). Повышенная масса тела в детстве встречалась у 64 (54 %) пациенток.

На первом месте среди соматических заболеваний у пациенток всех клинических групп преобладали железодефицитные анемии (ЖДА) (109 пациенток – 76,7 %). Причем у пациенток 3 клинической группы с распространенным аденомиозом ЖДА встречались в 100 % случаев. На втором месте оказалась патологии органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и гепато-билиарного комплекса, которые имели место у 85 больных (59,8 %) с аденомиозом; хронические гастриты – у 64 больных (45,1 %); хронический, в том числе калькулезный холецистит – у 45 (31,6 %); язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки – у 12 (8,4 %). Гепато-холециститы встречались у всех пациенток, но наиболее часто во 2 и 3 клинических группах (34 и 36 пациенток соответственно) и у 22 из них были причиной непереносимости гормональной терапии. При этом заболевания гепатобилиарной системы у 64 пациенток (45 %) часто сочетались с повышенной массой тела: ожирение 2 степени – у 56 (39,4 %) пациенток. Ожирение 3 степени – у 8 (5,6 %) пациенток 3 группы. Заболевания щитовидной железы у больных с аденомиозом встречались у 24 пациенток (16,9 %). Также из эндокринно-обменных заболеваний следует отметить высокую частоту сахарного диабета, диагностированного у 19 больных (19,1 %). Полученные результаты подтверждают высокую частоту эндокринно-обменных заболеваний у пациенток с аденомиозом. Обращало на себя внимание то, что у пациенток 2 и 3 групп статистически значимо

увеличивалась частота встречаемости всех вышеперечисленных заболеваний как по сравнению с 4 группой (контроль-1), так и по сравнению с пациентками с I степенью аденомиоза (таблица 10). Вероятно, это связано с более молодым возрастом у пациенток первой клинической группы.

**Таблица 10** – Структура основных экстрагенитальных заболеваний у пациенток с аденомиозом

Экстрагенитальные заболевания	4 группа n = 35 (контроль-1)		1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Анемия	0	0	23*	0,5	39*	82,9	47*	100
Заболевания органов ЖКТ и гепато-билиарного комплекса (хронические гастриты, энтероколиты, холециститы, гепатиты)	3	8,5	15*	32,6	34*	69,3	36*	76,6
Ожирение	2	5,7	7*	15,2	23*	46,9	34*	72,7
Гипотиреоз	0	0	3*	6,5	9*	18,3	12*	25,5
НЦД по гипотоническому типу	2	5,7	18*	39,1	13*	26,5	3	6,3
Хронические воспалительные заболевания верхних дыхательных путей (ХОБЛ)	0	0	0	0	4*	8,1	7*	14,9
Сахарный диабет II типа	0	0	2*	4,3	8*	16,3	9*	19,1

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей группы контроля-1.

При сборе акушерско-гинекологического анамнеза выявлено, что менархе у 89 пациенток (62,6 %) с аденомиозом наступило в возрасте 12–13 лет – 98 (69,1 %), старше 15 лет – у 28 (19,7 %), в 13-14 – у 16 (11,2 %), у 9 (6,3 %) – в возрасте 11–12 лет. В контрольной группе менархе наступило в среднем в 13–14 лет – у 34 пациенток (68 %), 12–13 лет – у 16 (32 %), после 15 лет – у 2 (4 %). При этом статистически значимых межгрупповых различий выявлено не было, но в целом у пациенток с аденомиозом наблюдалось более раннее менархе по сравнению с 4 группой (контроль-1).

**Таблица 11** – Особенности репродуктивного анамнеза у пациенток с аденомиозом

Характеристика репродуктивной функции	4 группа n = 35 (контроль-1)		1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Бесплодие первичное	0	0	18	39,1	1	2,0	1	2,1
Бесплодие вторичное	0	0	1	2,1	6	12,2	1	2,1
Имели беременности	35	100	27	58,7	48	97,9	46	97,8
Роды	35	100	25	54,4	37	75,5	36	76,5
Искусственные аборт	12	34,3	32*	69,6	35*	71,4	34*	72,3
Самопроизвольные аборт	1	2,8	12*	26,1	16*	32,7	20*	42,6
Осложнения беременности	5	14,3	20*	43,5	25*	51,0	20*	42,6
Осложнения родов	0	0	5*	10,9	12*	24,5	10*	21,2
Осложнения абортов	0	0	15*	32,6	18*	36,7	23*	48,9
Внематочная беременность	0	0	2	4,3	6*	12,2	10*	21,2

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 4 группе (контроль-1).

У 77 пациенток (54,2 %) с аденомиозом были 1 роды, у 38 (26,7 %) – двое родов, у 2 (1,4 %) – трое. Беременностей не было у 25 пациенток (17,6 %) с аденомиозом, причем наиболее высок этот показатель был у пациенток 1 группы (первичное бесплодие у 18 (17,3 %)). Вторичное бесплодие наблюдалось у 8 пациенток (26 %), преимущественно во второй клинической группе. Артифициальные аборт имели место у 101 пациентки (71,1 %), причем у 56 (39,4 %) была прервана первая беременность. У 45 пациенток (31,7 %) в анамнезе было 2 и более прерываний беременности. Самопроизвольные выкидыши и/или замершие беременности отмечались у 48 больных (33,8 %). В анамнезе в 4 группе условно здоровых женщин (группа контроля-1) у 20 (40 %) были одни роды, 2 родов – у 22 женщин (44 %), у 8 (16 %) – 3 родов и более, у 27 (54 %) отмечалось от 1 до 3 артифициальных аборта. Среди осложнений после искусственных и самопроизвольных абортов у

56 (55,4 %) отмечались воспалительные заболевания матки и придатков, кровотечения, потребовавшие повторного выскабливания матки, нейроэндокринные нарушения (ановуляторные циклы, дисфункциональные маточные кровотечения). У больных аденомиозом выявлена высокая частота осложнений течения беременностей (преэклампсии) – у 39 (33,3 %), хроническая плацентарная недостаточность – у 79 (67,5 %) и осложнения родов – у 64 (54,7 %) (аномалии родовой деятельности, кровотечения, внутриматочные вмешательства, травмы родовых путей).

**Таблица 12** – Частота перенесенных основных гинекологических заболеваний у пациенток аденомиозом

Гинекологические заболевания	4 группа n = 35 (контроль-1)		1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Гиперпластические процессы эндометрия	0	0	1	2,1	10*	20,0	16*	34,0
Эндометрит и (или) сальпингоофорит	0	0	43*	93,4	46*	93,8	46*	97,8
НМОЦ	0	0	8*	17,4	9*	18,4	12*	25,5
Патология шейки матки	5	14,3	9	19,6	15*	30,6	10*	21,3
Опухоли и опухолевидные образования яичников	0	0	4*	8,6	4*	8,1	6*	12,7*

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 4 группе (контроль-1).

В гинекологическом анамнезе пациенток аденомиозом отмечена высокая частота хронических воспалительных заболеваний женских половых органов (хронический метроэндометрит и/или сальпингоофорит) – у 135 пациенток (95 %). Им неоднократно проводилась антибактериальная и противовоспалительная терапия, эффект от которой был кратковременный. Диатермокоагуляция шейки матки проводилась 34 пациенткам с аденомиозом (23,9 %) по поводу «эрозии» шейки матки, 26 (18,3 %) – криодеструкция, 6 пациенткам (4,6 %) – лазероапоризация. Ювенильные

кровотечения, требовавшие лечебных мероприятий (гормонотерапии, витаминотерапии, ФТЛ), отмечались в анамнезе у 29 пациенток (20,4 %). Лечение бактериальных вагинозов и кольпитов в анамнезе проводили 140 больных (98, %). Кольпиты были ассоциированы с условно патогенной флорой у 35 пациенток (24,6 %). Лечение хламидиоза, трихомоноза, уреоплазмоза и микоплазмоза получали 134 (94,3 %) больных с обязательным контролем излеченности методами ПЦР и бактериальными исследованиями. Статистических различий по группам нами выявлено не было. На момент исследования у всех пациенток определялся нормоценоз влагалища согласно общепринятым критериям.

По поводу трубной беременности ранее были прооперированы (лапароскопическим доступом) 18 пациенток (12,6 %). Операции на придатках (ушивание или коагуляция яичника по поводу апоплексии яичника или удаление фолликулярной кисты яичника) были проведены 28 пациенткам (19,7 %). В связи с бесплодием в анамнезе 15 пациенткам (10,5 %) проводилась диагностическая лапароскопия для исключения трубно-перитонеального бесплодия и перитонеального эндометриоза. У данных пациенток трубно-перитонеальный фактор бесплодия и перитонеальный эндометриоз не подтвердились.

При проведении влагалищного исследования все пациентки имели оволосенение по женскому типу, воспалительных процессов влагалища и патологии шейки матки ни в одном случае не выявлено, что подтверждено микроскопическим исследованием мазков отделяемого из цервикального канала и влагалища. У 47 пациенток (33,1 %) при гинекологическом осмотре была выявлена патология шейки матки: эктопия цилиндрического эпителия у 41 больной (28,8 %), лейкоплакия (5 %), посттравматическая деформация шейки матки у 8 (5,6 %). У 5 пациенток (3,5 %) причиной обращения был пролапс гениталий 3–4 степени. При проведении гинекологического осмотра особое внимание уделялось оценке величины, формы и консистенции матки

в динамике менструального цикла, болезненности при пальпации. Форма матки приближалась к шаровидной практически у всех пациенток, консистенция чаще оценивалась как плотная, умеренно болезненная при пальпации. При определении размеров у 46 пациенток (100 %) с аденомиозом I степени и у 5 пациенток (10,2 %) с аденомиозом II степени размеры матки соответствовали норме, 5–8 неделе беременности размеры матки соответствовали у 44 больных (89,8 %) с аденомиозом II степени и у 12 пациенток (25,6 %) с аденомиозом III степени, у 28 пациенток 3 группы (59,6 %) – матка соответствовала 9–11 неделям беременности, а у 7 (14,9 %) – 12–14 неделям беременности (таблица 13). Размеры матки при аденомиозе максимально увеличивались накануне менструации и уменьшались после нее. Однако при ранней стадии аденомиоза (1 группа) не было выявлено значимых изменений размеров матки. Особенно выраженная динамика увеличения матки отмечалась у пациенток со II степенью аденомиоза.

**Таблица 13** – Размеры матки у больных аденомиозом n = 142

Размеры матки в н.б	1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
норма	46	100	5	10,2	–	–
5–8	–	–	44*	89,7	12*^	25,5
9–11	–	–	–	–	28*^	59,6
12–14	–	–	–	–	7*^	14,9

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 1 группе; ^ – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей во 2 группе.

При проведении лабораторных исследований у 109 пациенток (76,8 %) выявлен симптом анемии (таблица 14). Выраженность анемии варьировала от легкой до тяжелой степени, как правило, соотносясь с длительностью заболевания и объемом менструальных и других маточных кровопотерь. Даже у пациенток 1 группы анемия легкой степени была выявлена у 23 пациенток

(50 %) и у 1 – (2,1 %) анемия средней степени. Пациентки 2 группы страдали анемией первой степени в 65,3 % случаев, анемия средней степени наблюдалась у 7 (14,3 %) пациенток. Все пациентки 3 группы имели анемию разной степени выраженности: тяжелую анемию – в 6 случаях (12,7 %), анемией средней степени страдали 24 женщины (51,1 %), легкую – 27 пациенток (57,4 %). Данные остальных общеклинических стандартных лабораторных анализов (общий анализ мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма) у пациенток всех клинических групп были в пределах физиологической нормы, достоверно не отличаясь от группы контроля (4 группа).

**Таблица 14** – Выраженность анемии у пациенток с аденомиозом

Выраженность анемии	4 группа (контроль-1) n = 35		1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Легкая (Hb 90–110 г/л)	0	0	23	50	32	65,3	27	57,4
Средняя (Hb 70–90 г/л)	0	0	1	2,1	7*	14,3	24*^	51,1
Тяжелая (Hb < 70г/л)	0	0	0	0	0	0	6*^	12,7
Всего	0	0	24		39*		47*^	100

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 1 группе; ^ – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей во 2 группе.

Содержание гормонов в периферической крови в нашем исследовании определялось на 2 – 3 день цикла и 19 – 23 день цикла. Исследование было проведено у всех больных аденомиозом и у 35 пациенток контрольной 4 группы (таблицы 15, 16).

Проведенные исследования показали, что гормональный статус женщин 4 группы соответствовал нормоэстрогеновому овуляторному менструальному циклу с полноценной второй фазой.

Надо отметить, что в 1 и 2 клинических группах больных аденомиозом, уровень стероидных, гонадотропных гормонов соответствовал нормальному референсному промежутку. Однако отклонения внутри групп были

достаточны для того, чтобы выявить некоторую диссоциацию в гормональном профиле у пациенток с аденомиозом.

**Таблица 15** – Концентрация гонадотропных и стероидных гормонов в крови больных аденомиозом на 2–3-й день менструального цикла ( $M \pm m$ )

Показатель	4 группа (контроль-1) n = 35	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
ЛГ, МЕ/л	6,2 ± 1,25	9,21 ± 1,76*	9,78 ± 1,46*	10,52 ± 2,3*
ФСГ, МЕ/л	5,13 ± 1,12	7,89 ± 1,34*	7,93 ± 1,04*	9,63 ± 0,93*
Эстрадиол, Пмоль/л	213,6 ± 57,7	265,4 ± 14,4	278,3 ± 34,6	345,3 ± 26,3*;**:^
Прогестерон, нмоль/л	2,48 ± 0,32	2,61 ± 0,23	2,77 ± 0,45	1,56 ± 0,76

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе; \*\* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 1 группе; ^ – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей во 2 группе.

**Таблица 16** – Концентрация гонадотропных и стероидных гормонов в крови больных аденомиозом на 21–23-й день менструального цикла ( $M \pm m$ )

Показатель	4 группа контроль-1 n = 35	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
ЛГ, МЕ/л	11,4 ± 2,64	9,67 ± 1,54	9,45 ± 1,74	12,21 ± 3,14
ФСГ, МЕ/л	6,34 ± 1,73	6,98 ± 1,47	6,59 ± 1,35	9,98 ± 1,53*
Эстрадиол, Пмоль/л	585,4 ± 98,2	602,6 ± 123,5	601,4 ± 102,3	635,7 ± 113,4
Прогестерон, нмоль/л	43,2 ± 3,3	26,8 ± 2,35*	15,9 ± 2,13*^	12,8 ± 5,87*;**:^

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 4 группе (контроль-1); \*\* – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 2 группе; ^ – соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 1 группе.

Результаты определения белковых и стероидных гормонов на 2–3-й день менструального цикла свидетельствуют о достоверном повышении базальных уровней ЛГ и ФСГ при аденомиозе, наиболее выраженном в 3-й клинической группе (ЛГ –  $10,52 \pm 2,3$  МЕ/л, ФСГ –  $9,63 \pm 0,93$  МЕ/л), по сравнению с 4 группой (контроль-1) (ЛГ –  $6,2 \pm 1,25$  МЕ/л, ФСГ –  $5,13 \pm 1,12$  МЕ/л); для обоих показателей  $p < 0,05$ . У всех больных базальные уровни эстрадиола, прогестерона достоверно не отличались от 4 группы (контроль-1) ( $p > 0,05$ ), за исключением статистически значимого увеличения уровня эстрадиола у пациенток 3 клинической группы ( $p < 0,05$ ).

Обращало на себя внимание достоверное снижение уровня прогестерона на 21–23 день менструального цикла, особенно у пациенток 2 и 3 клинических групп с распространенным аденомиозом (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, по сравнению с  $43,2 \pm 3,3$  нмоль/л в контроле-1) ( $p < 0,05$ ).

При анализе результатов гормонального профиля обращала на себя внимание выраженная тенденция к дисрегуляции центрального звена у пациенток 3-й клинической группы, наблюдаемая и в динамике менструального цикла, а также достоверно выраженная гипопрогестеронемия на фоне повышения уровня эндогенного эстрогена, особенно у пациенток в перименопаузальном периоде.

Проведенные исследования гормонального профиля пациенток с аденомиозом различных степеней свидетельствуют о преобладании у них дисфункции регуляторного механизма репродуктивной функции, затрагивающей как центральное, так и периферическое звенья. Общими гормональными изменениями у данных больных, независимо от степени распространения аденомиоза, являются изменения базальных уровней гонадотропинов, снижение уровня прогестерона во II фазе менструального цикла, наблюдаемое у пациенток даже с I степенью аденомиоза. Эти данные подтверждают дисгормональный генез аденомиоза, но в связи с их

непатогномоничностью не могут служить диагностическим тестом верификации данного заболевания.

### **2.3. Результаты инструментальной диагностики в исследуемых группах**

#### **2.3.1. Результаты ультразвукового исследования больных с аденомиозом различной степени**

Исходно на этапе неинвазивной инструментальной диагностики аденомиоза в данной работе проводилось ультразвуковое исследование с применением ЦДК у всех обследуемых пациенток. Эхографическое исследование включало оценку размеров, структурных изменений матки (эндометрия, «переходной зоны», миометрия), а также особенностей васкуляризации с характеристикой качественных и количественных показателей кровотока, в том числе при динамическом наблюдении на протяжении менструального цикла. Исследование проводилось в первую и вторую фазы менструального цикла.

##### **2.3.1.1. Результаты биометрического ультразвукового исследования у больных аденомиозом различной степени**

Как видно из таблицы 17, размеры матки у пациенток с первой степенью аденомиоза практически не отличались от таковых в 4 группе (контроль-1). Однако уже у этих пациенток отмечался более выраженный, хотя и статистически незначимый прирост толщины, ширины и объема матки во вторую фазу менструального цикла, по сравнению с первой фазой (таблица 17).

Статистически значимое увеличение размеров матки отмечалось во 2 и 3 клинических группах, по сравнению с 4 группой (контроль-1) и с 1 клинической группой как в первую, так и во вторую фазу менструального цикла.

**Таблица 17** – Размеры матки и ее структурных элементов в динамике менструального цикла у пациенток с аденомиозом

Группы	4 группа n = 35 (контроль-1)		1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Ранняя пролиферативная фаза	Средняя секреторная фаза	Ранняя пролиферативная фаза	Средняя секреторная фаза	Ранняя пролиферативная фаза	Средняя секреторная фаза	Ранняя пролиферативная фаза	Средняя секреторная фаза
Длина тела матки, мм	52 ± 1,2	53 ± 1,4	53 ± 1,3	54 ± 2,1	62 ± 2,4	65 ± 2,1	76 ± 2,5	78 ± 2,5
Передне-задний размер, мм	38 ± 1,2	40 ± 1,3	38 ± 1,4	44 ± 2,1	58 ± 2,4	64 ± 2,3	62 ± 2,3	68 ± 2,5
Ширина, мм	51 ± 1,2	52 ± 1,2	51 ± 1,1	56 ± 1,5	63 ± 2,1	65 ± 1,4	72 ± 21,3	76 ± 3,2
Объем матки, см <sup>3</sup>	52,7 ± 1,2	57,6 ± 1,4	53,7 ± 1,3	76,1 ± 1,3	118,5 ± 3,2	141,42 ± 2,5	177,4 ± 2,6	210,8 ± 3,4
Толщина «переходной зоны»	3,2 ± 2,3	3,2 ± 1,6	5,2 ± 1,9	7,2 ± 2,6	12,4 ± 2,6	13,6 ± 3,4	–	–

Особое внимание в нашей работе уделялось ультразвуковому обследованию «переходной зоны» (слоя миометрия, непосредственного прилегающего к эндометрию) с учетом развития аденомиоза при инвазии эндометрия из базального слоя в миометрий. У всех пациенток 1 группы по данным ультразвукового исследования, была обнаружена зона сниженной эхогенности, примыкающая к эндометрию, («переходная зона») до  $5,2 \pm 1,9$  мм в пролиферативной и до  $7,2 \pm 2,6$  мм в секреторной фазе менструального цикла. У пациенток с аденомиозом II степени (2 группа) также визуализировалась «переходная зона» толщиной до  $12,4 \pm 2,6$  мм. В 3 группе у пациенток с распространенным процессом «переходная зона» не визуализировалась, вероятно, в связи с глубокой и обширной по площади инвазией элементов эндометрия в миометрий.

В наших исследованиях одним из наиболее характерных эхографических признаков аденомиоза оказалось увеличение передне-заднего размера у пациенток со второй и третьей стадией (2 и 3 группы) аденомиоза (36 человек – 73,5 % и 47 человек – 100 %), при первой степени аденомиоза увеличение передне-заднего размера не отмечалось. Причем наибольшее увеличение как во 2, так и в 3 группах отмечалось в условной второй фазе менструального цикла (таблица 17). Характерный эхографический признак аденомиоза – округлая (шаровидная) форма матки – наблюдался во второй фазе цикла у 77,6 % пациенток с второй степенью аденомиоза и у 89,4 % пациенток с аденомиозом третьей степени. В первой фазе цикла характерная шаровидность имела лишь у 65,4 % пациенток с аденомиозом III степени и у 32,2 % пациенток с аденомиозом II степени. Таким образом, для аденомиоза ранних степеней в целом не характерно увеличение размеров матки и формирование ее округлой (шаровидной) формы.

У 10 обследованных пациенток 1 группы (26,1 %), у 71,4 % пациенток 2 группы и у всех пациенток 3 клинической группы нами был обнаружен эхографический признак аденомиоза, проявляющийся в виде наличия неоднородной структуры миометрия (ячеистость, пятнистость в зонах, вовлеченных в патологический процесс, за счет чередования участков пониженной и повышенной эхогенности). Мелкокистозные образования округлой форм и трубчатые анэхогенные структуры в миометрии и «переходной зоне» размерами от 2 до 4 мм встречались у 12 пациенток 1 группы (26,1 %), у 34 пациенток 2 группы (69,4 %), в 3 группе подобные изменения наблюдались у 46 человек, что составило 97,9 %.

Ультразвуковые данные больных аденомиозом в зависимости от степени распространения приведены в таблице 18.

Таким образом, по данным ультразвукового исследования, зона сниженной эхогенности, примыкающая к эндометрию, («переходная зона») визуализировалась у всех пациенток 1 группы при толщине  $5,2 \pm 1,9$  мм

**Таблица 18** – Эхографические признаки аденомиоза в исследуемых группах

Группы	1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Увеличение размеров матки	0	0	36	73,5	47	100
Асимметрия стенок матки	0	0	25	51,0	35	74,5
Округлая (шаровидная) форма матки	0	0	38	77,6	42	89,4
Ячеистость миометрия	10	26,1	35	71,4	47	100
Мелкокистозные полости и анэхогенные трубчатые структуры	12	26,1	34	69,4	46	97,9
Неоднородная структура границы «эндометрий-миометрий»	38	82,6	46	93,8	47	100
«Переходная зона»	46	100	39	79,6	0	0

( $M_0 = 5,2$  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. При этом эхографические критерии аденомиоза I степени были выявлены только у 26,1 % пациенток 1 группы, что свидетельствует о малой информативности стандартного УЗИ для ранней диагностики аденомиоза.

### **2.3.1.2. Допплерометрические характеристики кровотока в бассейне маточных артерий больных с аденомиозом различной степени**

После проведения биометрии матки и яичников осуществлялось цветное доплеровское картирование с последующей качественной оценкой кривых скоростей кровотока в маточных, аркуатных, радиальных, спиральных артериях миометрия, яичниковых ветвях маточной артерии. Визуализацию маточных артерий проводили на уровне перешейка матки, до вступления сосуда в миометрий, аркуатных артерий – в наружной, радиальных артерий – в средней

трети миометрия, спиральных артерий – на границе миометрия и эндометрия. Исследование яичниковой ветви маточной артерии проводилось на уровне ворот яичника. После определения локализации исследуемого сосуда с помощью цветного доплеровского картирования осуществляли регистрацию кривых скоростей кровотока. Для этого получали стабильное изображение кривых в течение как минимум трех сердечных циклов. Для устранения низкочастотных сигналов, производимых движениями стенок сосудов, применяли фильтр 100 Гц. Общая мощность доплеровского излучения не превышала 100 мВт/см<sup>2</sup>. У всех женщин группы сравнения и больных аденомиозом определение параметров, характеризующих кровотоки, проводили в динамике менструального цикла на 2–5 и 19–23 дни.

При анализе кривых скоростей кровотока определяли следующие параметры: систоло-диастолическое отношение (R), индекс резистентности (RI), пульсационный индекс (PI).

Анализ доплерометрических показателей в бассейне правой и левой маточных артерий у женщин 4 группы (контроль-1) и больных аденомиозом не выявил достоверных различий между сопоставимыми показателями. Поэтому в дальнейшем мы использовали среднее значение параметров, определяемых в этих сосудах.

По результатам нашего исследования (таблица 19), у женщин из 4 группы (контроль-1) значение систоло-диастолического соотношения к середине секреторной фазы менструального цикла в маточных и аркуатных артериях статистически значимо снижалось по сравнению с ранней пролиферативной фазой ( $7,9 \pm 0,21$  против  $5,7 \pm 0,12$  и  $6,0 \pm 0,23$  против  $4,4 \pm 0,21$ , соответственно) ( $p < 0,05$ ). Динамика показателей R в радиальных и базальных артериях практически отсутствовала ( $2,9 \pm 0,11$  против  $2,8 \pm 0,21/6,9$  % и  $1,7 \pm 0,23$  против  $1,6 \pm 0,01/5,9$  %, соответственно) ( $p > 0,05$ ). У пациентов 1 группы с аденомиозом I степени обращало на себя внимание статистически значимое увеличение значений систоло-диастолического

соотношения во всем бассейне маточных артерий по сравнению с 4 группой (контроль-1), как в первую. так и во вторую фазу цикла. Rm в 1 группе в первую фазу цикла составило  $8,8 \pm 0,15$ , во вторую –  $6,5 \pm 0,121$  против  $7,9 \pm 0,21$  и  $5,7 \pm 0,12$ , – показателей 4 группы (контроль-1) ( $p > 0,05$ ).

**Таблица 19** – Допплерометрические показатели в бассейне маточных сосудов у здоровых женщин и при аденомиозе

Показатели гемодинамики	4 группа n = 35 (контроль-1)		1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Ранняя пролиферативная фаза (5–7 день цикла)	Средняя секреторная фаза (19–23 день цикла)	Ранняя пролиферативная фаза (5–7 день цикла)	Средняя секреторная фаза (19–23 день цикла)	Ранняя пролиферативная фаза (5–7 день цикла)	Средняя секреторная фаза (19–23 день цикла)	Ранняя пролиферативная фаза (5–7 день цикла)	Средняя секреторная фаза (19–23 день цикла)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
R med маточных артерий	$7,9 \pm 0,21$	$5,7 \pm 0,12$	$8,8 \pm 0,15^*$	$6,5 \pm 0,12^*$	$9,5 \pm 0,12^*/$	$7,0 \pm 0,23^*/$	$10,0 \pm 0,12^*/$	$9,9 \pm 0,11^*/$
R med аркуатных артерий	$6,0 \pm 0,23$	$4,4 \pm 0,21$	$7,6 \pm 0,11^*$	$5,5 \pm 0,11^*$	$8,0 \pm 0,98^*/$	$6,0 \pm 0,1^*/$	$8,4 \pm 0,12^*/$	$8,0 \pm 0,21^*/$
R med радиальных артерий	$2,9 \pm 0,11$	$2,8 \pm 0,21$	$5,01 \pm 0,35^*$	$4,4 \pm 1,37^*$	$5,9 \pm 0,57^*/$	$5,3 \pm 0,01^*/$	$6,2 \pm 1,01^*/$	$5,7 \pm 0,21^*/$
R med базальных артерий	$1,7 \pm 0,23$	$1,6 \pm 0,11$	$3,0 \pm 0,43^*$	$2,5 \pm 0,78^*$	$4,6 \pm 0,72^*/$	$3,9 \pm 0,98^*/$	$4,9 \pm 1,3^*/$	$4,6 \pm 1,7^*/$
IR med маточных артерий	$0,85 \pm 0,12$	$0,81 \pm 0,12$	$0,92 \pm 0,12^*$	$0,93 \pm 0,12^*$	$0,95 \pm 0,15^*$	$0,93 \pm 0,06^*$	$0,98 \pm 0,01/$	$0,95 \pm 0,03/$
IR med аркуатных артерий	$0,66 \pm 0,03$	$0,6 \pm 0,02$	$0,71 \pm 0,01$	$0,75 \pm 0,01$	$0,73 \pm 0,01^*$	$0,72 \pm 0,01^*$	$0,68 \pm 0,05/$	$0,65 \pm 0,01^*/$
IR med радиальных артерий	$0,52 \pm 0,01$	$0,49 \pm 0,01$	$0,58 \pm 0,07$	$0,59 \pm 0,03$	$0,63 \pm 0,07$	$0,59 \pm 0,03$	$0,60 \pm 0,03^*/$	$0,58 \pm 0,02^*/$

Продолжение таблицы 19

1	2	3	4	5	6	7	8	9
IR мед базальных артерий	0,42 ± 0,05	0,37 ± 0,04	0,48 ± 0,04	0,56 ± 0,01	0,45 ± 0,04	0,62 ± 0,09	0,58 ± 0,03*/	0,47 ± 0,01*/
PI маточных артерий	2,95 ± 0,51	2,4 ± 0,31	3,02 ± 0,51*	2,84 ± 0,31*	3,42 ± 1,2*/	2,76 ± 1,3*/	3,52 ± 1,8*/	3,02 ± 0,91*/
PI аркуатных артерий	1,93 ± 0,32	1,84 ± 0,32	2,34 ± 0,51	1,92 ± 0,21	2,67 ± 0,23*/	2,01 ± 0,31*/	2,81 ± 0,29*/	2,2 ± 0,221*/
PI радиальных артерий	1,16 ± 0,2	1,02 ± 0,05	1,34 ± 0,06	1,26 ± 0,07	2,06 ± 0,05*/	1,94 ± 0,01*/	2,12 ± 0,01*/	1,98 ± 0,01*/
PI базальных артерий	0,63 ± 0,02	0,48 ± 0,03	0,86 ± 0,02	0,84 ± 0,01	1,66 ± 0,02*/	1,5 ± 0,01*/	1,76 ± 0,01*/	1,64 ± 0,02*/

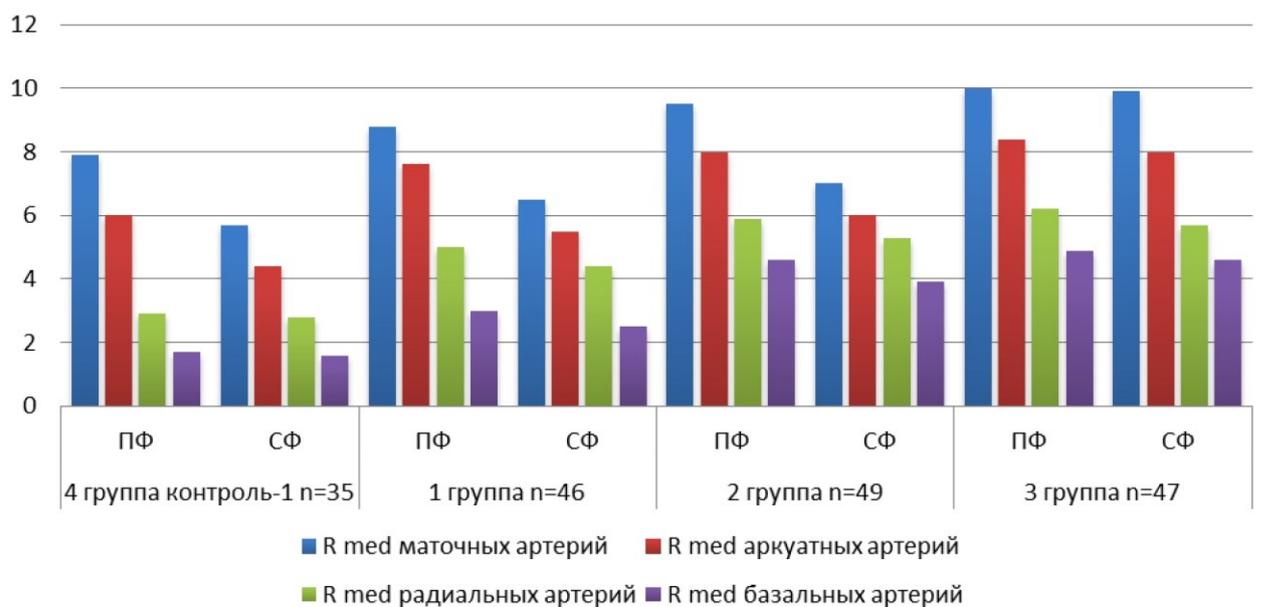
Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе; / – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей в группах с аденомиозом.

Однако при этом разница между значениями R в маточных и аркуатных артериях в 1 и 2 фазу цикла в 1 группе составила 27,3 % и 26,3 %, что практически соответствует таковым в 4 группе (контроль-1) 27,8 % и 26,7 %. При этом отмечались статистически значимые изменения в динамическом понижении систоло-диастолического соотношения значений R в 1 и 2 фазу цикла в радиальных и базальных артериях по сравнению с 4 группой (контроль-1) (18,2 % против 6,9 % и 16,7 % против 5,9 %).

Во 2 группе у пациенток с аденомиозом II степени R в бассейне маточных артерий статистически значимо ( $p < 0,05$ ) превышало значения относительно 4 группы (контроль-1) и по сравнению с пациентками 1 группы. При этом наиболее показательная разница отмечалась именно в радиальных и базальных артериях ( $R_r 5,9 \pm 0,57$ ,  $R_b 4,6 \pm 0,72$  во 2 группе,

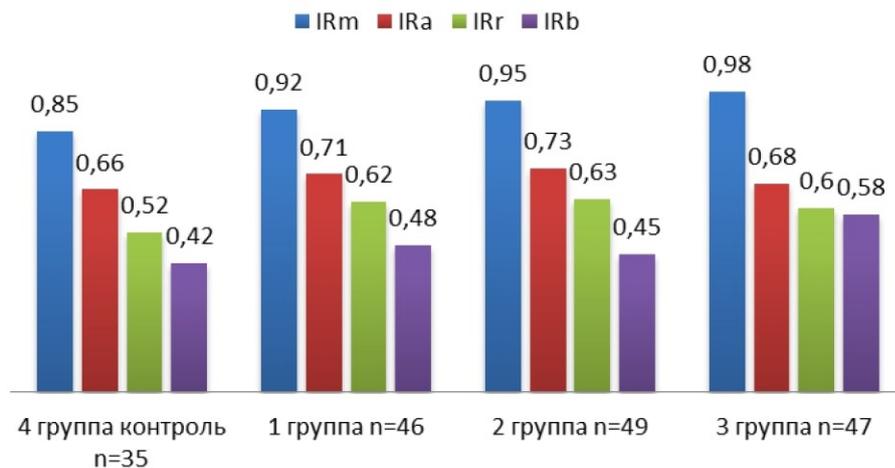
против  $R_r$   $2,9 \pm 0,1$  и  $R_b$   $1,7 \pm 0,23$  в 4 группе (контроль-1)). Изменения в динамическом понижении систоло-диастолического соотношения значений R в 1 и 2 фазу цикла в радиальных и базальных артериях также были статистически значимы по сравнению с аналогичными показателями 4 группы (контроль-1) (15,3 % против 6,9 % и 15,2 % против 5,9 %).

В 3 группе у пациенток с III степенью аденомиоза значение систоло-диастолического соотношения было максимальным и статистически достоверно увеличивалось во всем бассейне маточных артерий в 1 и 2 фазы менструального цикла (таблица 19) ( $R_m$   $10,0 \pm 0,12$  и  $9,9 \pm 0,11$ ;  $R_a$   $8,4 \pm 0,12$  и  $8,0 \pm 0,21$ ;  $R_r$   $6,2 \pm 1,01$  и  $5,7 \pm 0,21$ ;  $R_b$   $4,9 \pm 1,3$  и  $4,6 \pm 1,7$  против  $R_m$   $7,9 \pm 0,21$  и  $5,7 \pm 0,12$ ;  $R_a$   $6,0 \pm 0,23$  и  $4,4 \pm 0,21$ ;  $R_r$   $2,9 \pm 0,11$  и  $2,8 \pm 0,21$ ;  $R_b$   $1,7 \pm 0,23$  и  $1,6 \pm 0,11$  в 4 группе (контроль-1), ( $p < 0,05$  для всех показателей). Также у пациентов 3 группы с распространенным аденомиозом практически не отмечалось разницы между значениями R в пролиферативной и секреторной фазе менструального цикла в маточных, аркуатных, радиальных и базальных артериях матки (рисунок 6).



**Рисунок 6** – Систолю-диастолическое отношение (R) в зависимости от фазы менструального цикла у здоровых женщин и пациенток с аденомиозом

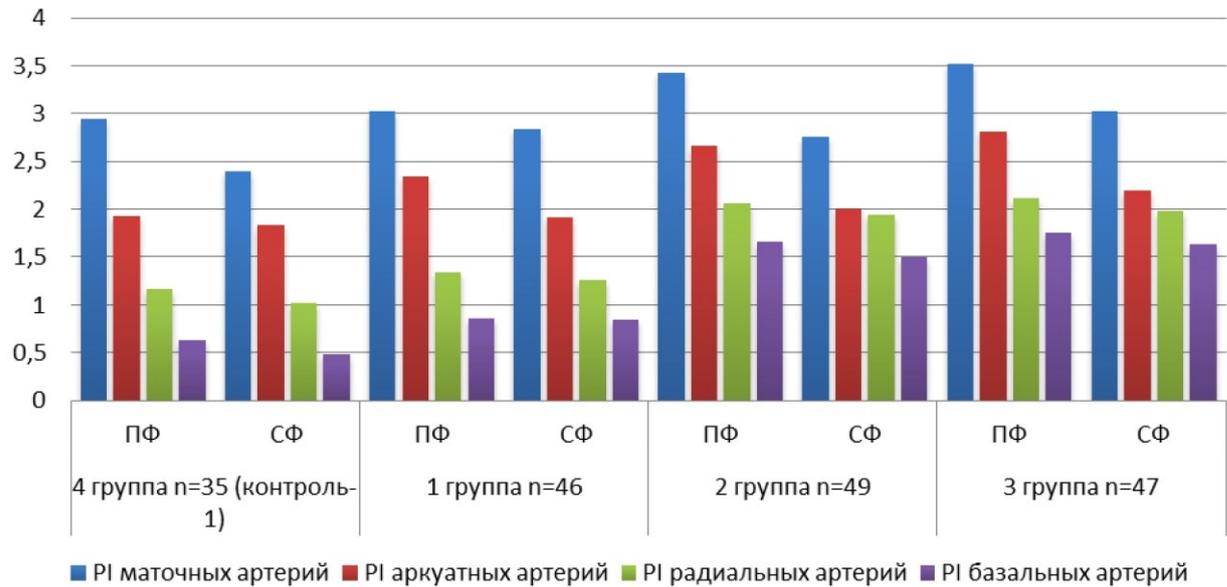
Индекс резистентности (IR) у пациенток всех исследуемых групп и группы контроль-1 (4 группа) не имел статистически значимых отклонений в динамике менструального цикла (таблица 19). При этом у пациенток с аденомиозом всех клинических групп наблюдался высокорезистентный кровоток максимально и статистически значимо с высокой степенью достоверности выявляемый во всем бассейне маточных артерий при аденомиозе III степени ( $IR_m 0,98 \pm 0,01$ ,  $IR_a 0,68 \pm 0,05$ ,  $IR_r 0,60 \pm 0,03$ ,  $IR_b 0,58 \pm 0,03$  против  $IR_m 0,85 \pm 0,12$ ,  $IR_a 0,66 \pm 0,03$ ,  $IR_r 0,52 \pm 0,01$ ,  $IR_b 0,42 \pm 0,05$  в группе контроля,  $p < 0,05$  для всех показателей). У пациентов 1 группы достоверные различия IR наблюдались лишь в маточных артериях ( $IR_m 0,92 \pm 0,12$  против  $IR_m 0,85 \pm 0,12$  в 4 группе (контроль-1),  $p < 0,05$ ), а у пациенток со второй степенью аденомиоза – в маточных и аркуатных ( $IR_m 0,95 \pm 0,15$ ,  $IR_a 0,73 \pm 0,01$  против  $IR_m 0,85 \pm 0,12$ ,  $IR_a 0,66 \pm 0,03$  в контрольной 4 группе,  $p < 0,05$ ) (рисунок 7).



**Рисунок 7** – Индекс резистентности (IR) у здоровых женщин и пациенток с аденомиозом

Пульсационный индекс (PI) у пациенток не имел статистически значимых отклонений в динамике менструального цикла в 4 группе (контроль-1) и во всех клинических группах (рисунок 8). Статистически значимые различия значений пульсационного индекса в маточных, аркуатных, радиальных и базальных артериях наблюдались во 2 и 3

клинических группах относительно 4 группы (контроль-1) (2 группа –  $PI_m 3,42 \pm 1,2$   $PI_a 2,67 \pm 0,23$ , 3 группа –  $PI_m 3,52 \pm 1,8$   $PI_a 2,81 \pm 0,29$  против 4 группы контроля  $PI_m 2,95 \pm 0,51$ ,  $PI_a 1,93 \pm 0,32$ ,  $p < 0,03$ ).



**Рисунок 8** – Пульсационный индекс (PI) в зависимости от фазы менструального цикла у здоровых женщин и пациенток с аденомиозом

Таким образом, оценка функционального состояния матки на основании изучения параметров гемодинамики в маточной артерии и ее ветвях по фазам менструального цикла при аденомиозе разных степеней показала, что при аденомиозе, даже I степени, определяется более высокое сопротивление кровотоку в бассейне маточных артерий по сравнению с таковым у здоровых женщин, что свидетельствует об уменьшении интенсивности артериального кровообращения в матке у пациенток с аденомиозом.

### 2.3.2. Гистероскопическое исследование больных с аденомиозом различной степени

С целью уточнения диагноза всем пациенткам проводилась гистероскопия с отдельным диагностическим выскабливанием матки при подозрении на гиперпластический процесс. Учитывая данные ретроспективного анализа о низкой чувствительности и специфичности

гистероскопии для выявления аденомиоза ранних степеней, дополнительно всем пациенткам была выполнена 6-точечная трансцервикальная пункционная биопсия миометрия с последующим гистологическим исследованием материала. Наш интерес к дополнительной биопсийной диагностике заболевания был обусловлен необходимостью гистологического подтверждения диагноза. Гистероскопические критерии аденомиоза (Бреусенко В.Г., Савельева Г.М. и др., 2012) и распределение больных соответственно степеням распространения процесса приведены в таблице 20.

**Таблица 20** – Гистероскопические критерии, выявляемые при аденомиозе различных степеней (n = 142)

Критерии	Степень распространения аденомиоза					
	I степень n = 46		II степень n = 49		III степень n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Изменение рельефа (хребты, разволокнения, крипты)	0	0	49	100	47	100
Открытые, кровоточащие «глазки»	16	34,7	39	79,5	37	100
Темно-синюшные «глазки»	18	39,1	49	100	42	89,3
Ригидность стенки	0	0	30	61,2	47	100
Неровные, шероховатые, бугристые стенки полости матки по типу «булыжной мостовой»	0	0	0	0	47	100

Минимальное количество гистероскопических критериев аденомиоза наблюдалось у пациенток 1 группы: рельеф стенок у всех пациенток не был изменен, при выскабливании стенки матки были обычной плотности. У 16 (34,7 %) определялись открытые, кровоточащие «глазки», у 18 (39,1 %) визуализировались эндометриоидные ходы в виде глазков темно-синюшного цвета. У 12 больных первой клинической группы (26,1 %) не наблюдалось гистероскопических критериев аденомиоза, однако после проведения пункционной биопсии миометрия и гистологического исследования биоптатов были выявлены участки инвазии эндометрия в гиперплазированный

миометрий «переходной зоны». У всех пациенток с аденомиозом II степени (2 группа) наблюдалось изменение рельефа внутренней стенки матки, ригидность стенки отмечалась у 30 пациенток (61,2 %), «глазки» суммарно определялись у 93,8 % пациенток. При III степени аденомиоза (3 группа) гистологическая картина была наиболее патогномичной: у всех пациенток по внутренней поверхности матки определялись выбухания различной величины без четких контуров. На поверхности этих выбуханий визуализировались эндометриоидные ходы, открытые или закрытые. При выскабливании ощущались плотные неровные, ребристые стенки матки.

Материал, полученный в результате отдельного выскабливания матки или биопсии эндометрия, подвергался гистологическому исследованию. Результаты гистологического исследования эндометрия представлены в таблице 21.

**Таблица 21** – Результаты гистологического исследования (n = 142)

Данные гистологического исследования	Степень распространения аденомиоза					
	I степень n = 46		II степень n = 49		III степень n = 47	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Пролиферативный тип эндометрия (ранняя пролиферация)	44	95,6	37	75,5	5	10,6
Неатипическая простая гиперплазия эндометрия	2	4,3	9	18,4	35	74,4
Железистый (железисто-фиброзный) эндометриальный полип	0	0	3	2,1	12	24,5

При I степени распространения аденомиоза преобладал пролиферативный тип эндометрия в 95,6 % случаях, гиперпластические процессы составили 4,3 %; при II степени также преобладал пролиферативный тип эндометрия, соответствующий ранней пролиферативной фазе менструального цикла (37 %), гиперпластические процессы составили 20,5 %, в том числе железисто-фиброзные полипы

эндометрия – 2,1 %; при III степени распространения аденомиоза неатипическая простая гиперплазия эндометрия составила 74,4 %, в 24,5 % выявлялись железисто-фиброзные полипы эндометрия.

В основной группе 28 пациенткам, страдающим бесплодием, проводилась диагностическая лапароскопия и хромосальпингоскопия для исключения наружного генитального эндометриоза и трубно-перитонеального фактора. При этом во время лапароскопии у пациенток с аденомиозом I степени патологии не было выявлено, а у пациенток с аденомиозом II и III степени были выявлены только косвенные признаки аденомиоза (увеличение и шаровидная форма матки, мраморность серозного покрова). У всех больных подтверждена проходимость маточных труб.

Таким образом, по нашим данным, гистероскопия явилась ценным методом диагностики патологии эндометрия, сопровождающей аденомиоз (гиперпластические процессы эндометрия, полип эндометрия), но не обеспечила полноценную верификацию аденомиоза I степени, а также не позволила даже косвенно судить об изменениях, наблюдающихся в миометрии «переходной зоны». Привлечение шеститочечной биопсии миометрия позволило гистологически в 100 % случаев выявить наличие эндометриоидных гетеротопий (в том числе при I степени аденомиоза) и на основании морфометрических и иммуногистохимических изменений изучить первичные нарушения функции и архитектуры в области «переходной зоны».

#### **2.4. Морфологическая, морфометрическая и иммуногистохимическая характеристика биопсийного и операционного материала**

Как уже отмечалось, при изучении стенки матки в норме и при аденомиозе нами описывались следующие зоны:

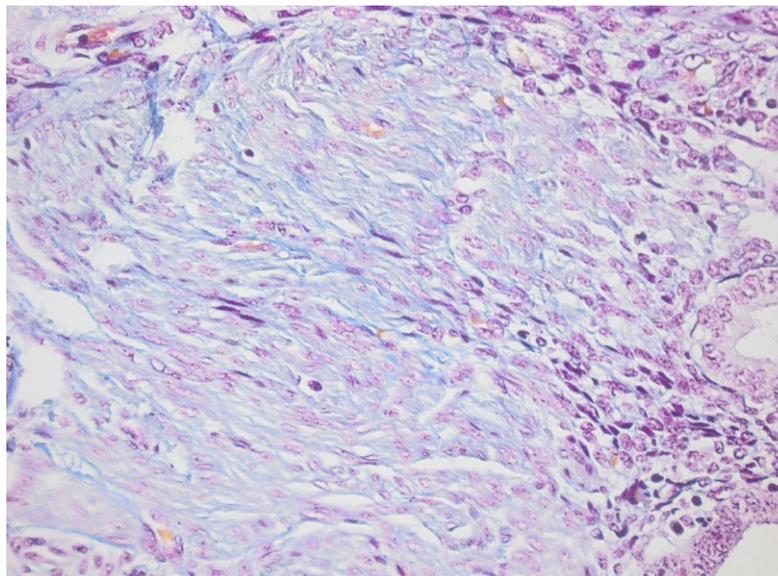
- зона эутопического эндометрия (ЭЭ) – функциональный слой и часть базального слоя эндометрия;

- «переходная зона»:
  - а) эндометриальная порция (ЭП) – участок, граничащий с внутренним миометрием и включающий в себя нижнюю часть базального слоя, представленного донными частями эндометриальных желез, цитогенной стромой и внеклеточным матриксом;
  - б) миометриальная порция (ВМ) – это внутренние гладкомышечные клетки, прилегающие к базальному слою эндометрия;
- наружный миометрий (НМ) – силовой миометрий матки – гладкомышечные клетки с элементами окружающей их цитогенной стромы и внеклеточным матриксом.

#### **2.4.1. Морфологические и морфометрические особенности ткани «переходной зоны», эутопического эндометрия и наружного миометрия в норме**

При окраске гематоксилином и эозином структурная организация эутопического эндометрия соответствует стандарту и в зоне базального слоя без видимой границы переходит в миометрий. Не типизируется она и в условиях окраски по Ван-Гизону. При окраски по Маллори в препарате отчетливо видны синие коллагеновые волокна, они окружают пучки гладкомышечных клеток, изредка встречаются окрашенные в красный цвет эластические волокна и эпителиоциты маточных желез, заполненных слизью, окрашенной в голубой цвет (рисунок 9). Деление на внутреннюю и наружную зоны отсутствует.

Изучение морфометрических особенностей ядер эндометрия в норме показало, что объем ядерной массы (ОЯМ) стромы эутопического эндометрия составил  $19,77 \pm 0,4$ , а объем волокнистого компонента (ВК) –  $20,42 \pm 1,18$ . На изученных участках эутопического эндометрия преобладала доля аморфного компонента (АК), которая составила  $31,92 \pm 1,04$ . Изучение ядер стромы ЭЭ позволило установить, что доля объема гиперхромных ядер оказалась равной  $10,65 \pm 0,61$  и практически не отличалась от доли объема гипохромных ядер, составивших в среднем  $9,38 \pm 0,48$ .



**Рисунок 9** – Окрашивание по Маллори. Об.40х; Ок.10х

Следует отметить тот факт, что показатель энтропии для нормального эутопического эндометрия составил  $1,7 \pm 0,5$ , что может указывать на упорядоченный характер и структурно-функциональную целостность изученного нами объекта (таблица 22).

**Таблица 22** – Сравнительная морфометрическая характеристика ядер стромального компонента эутопического эндометрия и эндометрия «переходной зоны»

	Объем гиперхромных ядер	Объем гипохромных ядер	ОЯМ	ВК	АК	Энтропия
ЭЭ	$10,65 \pm 0,61$	$9,38 \pm 0,48$	$19,77 \pm 0,4$	$20,42 \pm 1,18$	$31,92 \pm 1,04$	$1,7 \pm 0,5$
ЭП	$9,23 \pm 0,74$	$9,82 \pm 0,69$	$19,05 \pm 1,29$	$22 \pm 0,19$	$31,45 \pm 1,17$	$2,8 \pm 0,14^*$

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей эутопического эндометрия (ЭЭ) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей эндометрия «переходной зоны» (ЭП).

Компьютерная морфометрия ядер стромальных клеток «переходной зоны» показала, что на участке эндометрия объем ядерной массы составляет  $19,05 \pm 1,29$ . Согласно полученным результатам объем волокнистого компонента оказался равным  $22,0 \pm 0,19$ , а аморфного – почти в 1,5 раза выше –  $31,45 \pm 1,17$ , таким образом, соотношение волокнистого и аморфного компонента эндометрия «переходной зоны» сдвинуто в сторону последнего.

Объем гиперхромных ядер эндометриальной порции «переходной зоны» был в среднем равен  $9,23 \pm 0,7$ , а гипохромных –  $9,82 \pm 0,6$ , и по отношению к одноименным ядрам неизмененного эндометрия различия оказались статистически недостоверными (таблица 22). Следует отметить, в строме ЭП энтропия статистически значимо увеличилась и составила  $2,8 \pm 0,14$  по сравнению с ЭЭ ( $1,7 \pm 0,5$ ,  $p < 0,03$ ), что указывает на некоторую дезорганизацию структурно-функциональной целостности в отличие от эутопического эндометрия, который характеризуется высокой степенью морфологической организованности.

Для характеристики функционального статуса клеток, формирующих изученные зоны, мы использовали показатель оптической плотности (ОП) ядер по уровню содержания в них ДНК, а также проводили измерение диаметра ядер с последующим соотношением минимального и максимального размеров с выведением коэффициента эллиптичности.

Кариометрия ядер цитогенной стромы эутопического эндометрия показала, что диаметр колебался от 6 до 49, составляя в среднем  $24,75 \pm 1,92$ . В эндометриальной порции «переходной зоны» при наличии среднего размера диаметра, соответствующего  $25,8 \pm 0,79$ , коэффициент эллиптичности оказался на 44 % ниже, что приближает этот показатель к нормальному. Интересно отметить наличие различий оптической плотности для ядер клеток этих двух сравниваемых зон. Так, оказалось, что ядра клеток «переходной зоны» обнаруживают более низкий коэффициент оптической плотности, чем клетки цитогенной стромы эндометрия, но эти различия были статистически недостоверны (таблица 23).

При проведении сравнительного изучения ядер эпителиоцитов эндометриальных желез в двух зонах на участке эутопического эндометрия и в эндометриальной порции «переходной зоны» выявлено, что оптическая плотность хроматина в ЭЭ составила в среднем для ядер эпителиоцитов желез  $92,72 \pm 5,19$ , и проявила тенденцию к нарастанию этого параметра в ядрах эпителиоцитов переходной зоны, где показатель составил

100,07 ± 2,26, но это различие оказалось статистически недостоверным,  $p > 0,05$ . Размеры диаметров ядер так же совпадали, что сказалось на отсутствии различий и коэффициента эллиптичности этих ядер (таблица 24).

**Таблица 23** – Сравнительная морфометрическая характеристика ядер стромального компонента эутопического эндометрия и эндометрия «переходной зоны»

Строма эутопического эндометрия					Строма эндометрия «переходной зоны»				
Диаметр ядер			ЭЛ	ОП	Диаметр ядер			ЭЛ	ОП
max	min	сред			max	min	сред		
35,29 ± 2,69	14,21 ± 1,16	24,75 ± 1,9	2,48 ± 1,92	118,51 ± 5,68	29,87 ± 0,72	21,07 ± 0,83	25,8 ± 0,79	1,4 ± 0,15*	102,33 ± 8,36

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей эутопического эндометрия (ЭЭ) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей эндометрия «переходной зоны» (ЭП).

**Таблица 24** – Сравнительная морфометрическая характеристика ядер железистого компонента эутопического эндометрия и эндометрия «переходной зоны»

	Диаметр ядер			ЭЛ	ОП
	max	min	сред		
ЭЭ	28,84 ± 1,61	17,36 ± 2,34	23,10 ± 1,96	1,69 ± 0,14	92,72 ± 5,19
ЭП	32,44 ± 1,68	19,41 ± 1,29	25,81 ± 0,9	1,73 ± 0,16	100,07 ± 2,26

При изучении наружного миометрия оказалось, что объем ядерной массы в среднем равен 20,69 ± 2,8, но показатели, включенные в статистическую обработку, отличаются высоким коэффициентом вариации 26,8 %. Гипохромные ядра составляют по объему 10,5 ± 0,75, а гиперхромные – 10,22 ± 2,17, что позволяет говорить о соответствиях их объемной массы (таблица 25). Объем ядерной массы внутреннего миометрия «переходной зоны» не имел статистически значимого отличия от НМ и составил 18,2 ± 0,6 ( $p > 0,05$ ).

При сравнении морфометрических характеристик наружного и внутреннего миометрия в зоне внутреннего миометрия имели место статистически значимые ( $p < 0,001$ ) различия для показателя энтропии.

Последний в зоне наружного миометрия составил  $0,98 \pm 0,22$ , тогда как на участке «переходной зоны» он оказался в 2 раза выше, составляя в среднем  $2,8 \pm 0,16$  (таблица 25).

**Таблица 25** – Сравнительная морфометрическая характеристика наружного миометрия и миометрия «переходной зоны»

	Объем гиперхромных ядер	Объем гипохромных ядер	ОЯМ	МТ	МВ	Энтропия
НМ	$10,22 \pm 2,17$	$10,5 \pm 0,75$	$20,69 \pm 2,8$	$50,4 \pm 13,9$	$10,7 \pm 3,6$	$0,98 \pm 0,22$
ВМ	$8,7 \pm 0,68$	$9,5 \pm 0,25$	$18,2 \pm 0,6$	$39,4 \pm 0,6$	$14,98 \pm 0,43$	$2,8 \pm 0,16^*$

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей внутреннего (ВМ) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей наружного миометрия (НМ).

Статистически выраженные различия не были отмечены при изучении отношения наружного миометрия ко внутреннему миометрию. Так, оптическая плотность ядер наружного миометрия была ниже, чем в ядрах миометрия «переходной зоны» при  $p > 0,05$  (таблица 26).

**Таблица 26** – Сравнительная морфометрическая характеристика ядер наружного и внутреннего миометрия «переходной зоны»

Наружный миометрий					Внутренний миометрий				
Диаметр ядер			ОП	ЭЛ	Диаметр ядер			ОП	ЭЛ
max	min	сред			max	min	сред		
$28,67 \pm 1,02$	$18,05 \pm 0,81$	$23,36 \pm 0,91$	$122 \pm 6,34$	$1,42 \pm 1,25$	$64,73 \pm 1,41$	$21,67 \pm 0,82$	$43,2 \pm 0,98$	$136,4 \pm 8,58^*$	$3,1 \pm 0,08^*$

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей внутреннего (ВМ) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей наружного миометрия (НМ).

Изучение ядер внутреннего миометрия «переходной зоны» и наружного миометрия показало, что диаметр ядер гладких миоцитов переходной зоны в 2 раза больше, при этом увеличивается и коэффициент

эллиптичности. Так, для зоны внутреннего миометрия он составил  $3,1 \pm 0,08$ , а в наружном миометрии –  $1,42 \pm 1,25$ , где преобладали клетки с относительно округлыми, и, следовательно, менее активными ядрами. Увеличение коэффициента эллиптичности для клеток «переходной зоны» может указывать на возможность повышения их митотической активности с укорочением клеточного цикла. При этом оптическая плотность ядер гладкомышечных клеток внутреннего и наружного миометрия не отличалась, хотя в случае «переходной зоны» показатель ее составил  $136,4 \pm 8,58$ . Таким образом, различия регистрируются лишь для клеток внутреннего миометрия «переходной зоны», диаметр которых больше ядер клеток наружного миометрия почти в 2 раза при  $p < 0,001$  (таблица 26).

Итак, проведенное исследование показало, что встречающееся в литературе определение «переходная зона» миометрия приводит к несоответствию понятия и морфологически типизируемых ее границ. Действительно, авторы (Mc Carthy S. et al., 1989; Brown H.K. et al., 1991; Naftalin J. et al., 2009; Ibrahim M.G. et al., 2015) указывают на трудности типирования этой зоны в норме. Проведенный нами морфометрический и иммуногистохимический анализ этой зоны показал ее тканевую гетерогенность (выделение эндометриальной и миометриальной порций), где каждый из элементов влияет на ее структурную организацию. Динамичность статуса эндометриальной порции «переходной зоны» по отношению к эутопическому эндометрию подтверждается увеличением показателя энтропии. Миометрий, входящий в «переходную зону», по морфологическим чертам соответствует нормальному, за исключением более высокого ядерно-цитоплазматического соотношения и более высокой оптической плотности. У здоровых женщин при сравнении участков эутопического эндометрия и миометрия с соответствующими порциями «переходной зоны», выраженные отличия по морфологическим признакам отсутствуют. Это позволяет утверждать, что «переходная зона», нетипизируемая в условиях УЗИ и МРТ,

скорее всего является функциональной зоной. При этом эта зона проявляет себя не изменением статуса состава цитогенной стромы, а, по-видимому типом рецепторов, находящихся на поверхности клеток.

Таким образом, под понятием «переходная зона» обозначается не только зона внутреннего миометрия, но и часть эндометрия, то есть речь идет о тканевой гетерогенности «переходной зоны», что согласуется с мнением I. Brosens, G. Venagiano (2011), которые считают, что в условиях патологии матки клинический статус участка «переходной зоны» в патогенезе определяется как эндометриальный и внутренний миометриальный дисфункциональный синдром.

#### **2.4.2. Морфологические и морфометрические особенности ткани «переходной зоны», эутопического, эктопического эндометрия и наружного миометрия при аденомиозе различной степени**

Тканевый состав патологически измененных участков аденомиоза гетерогенный, он включает в себя железистый и стромальный компоненты. Железистые структуры различны по величине и форме, располагаются в основном в виде скоплений. Эпителиоциты желез по форме цилиндрические, в просвете желез виден секрет. Стромальный компонент характеризуется высокой цитогенностью. Превалирующим элементом являются фибробласты различной стадии активности. Повсюду встречаются очаги скопления лимфоцитов, а также макрофагов. Вокруг очагов аденомиоза миометрий подвергается гиперплазии и гипертрофии с формированием периваскулярных зон роста.

При микроскопическом исследовании в очагах аденомиоза имеет место преобладание цитогенной стромы с фрагментами маточных желез с различными изменениями. Так, встречались железы с призматическим эпителием с округлыми или овальными темноокрашенными ядрами, они

были окружены рыхлой стромой, включающей фибробластоподобные клетки с округлыми или вытянутыми ядрами. Цитоплазма этих клеток обнаруживала базофилию. Иногда встречались железы с карманообразной складчатостью, железы распределялись неравномерно и были различной величины. Железы могли быть округлой или вытянутой формы, несколько расширенные, выстланные однорядным, а на отдельных участках многорядным эпителием с гиперхромными ядрами. Изучение эктопических эндометриoidных очагов в миометрии подтверждает наличие эффекта миграции стромальных клеток базального слоя в толщу миометрия. Включенные в эндометриoidный очаг железы обнаруживают эффект пролиферации с формированием местами многорядной выстилки в зоне концевых отделов желез с увеличением их секреторной активности. В цитогенной строме типичны псевдодецидуальные клетки.

В отдельных случаях наблюдается эффект регрессии аденомиозных очагов с изменением, прежде всего, высоты железистых эпителиоцитов и снижением их функциональной активности. Местами формируются кисты.

Вокруг очагов эктопического эндометрия выявляются кровеносные сосуды, лимфатические капилляры и компоненты стромы в виде множества фибробластоподобных клеток, среди которых преобладали клетки вытянутой формы с округлыми ядрами. Лимфатические капилляры встречаются по всему очагу или располагаются вплотную, примыкая к концевым отделам эндометриальных желез. Структура стенки сосудов отчетливо видна в условиях окраски по Маллори. У пациенток первой клинической группы (I степени) очаги эндометриоза верифицировались в 56 % случаев в области «переходной зоны». У пациенток с II и III степенью распространения процесса очаги эктопического эндометрия выявлялись в 100 % случаев и распространялись до 2/3 миометрия у пациенток 2 группы и прорастали практически всю толщу миометрия у женщин 3 клинической группы.

В препаратах, окрашенных по Ван-Гизону, мы провели морфометрическое изучение соотношения объема ядерной массы, волокнистого и аморфного компонентов в зоне эктопического эндометрия с установлением энтропии. Оказалось, что объем ядерной массы в зоне очага эктопического эндометрия колеблется от 14,1 до 26,6, составляя в среднем  $19,64 \pm 1,08$  у женщин с I степенью аденомиоза, не имея статистически значимых различий с объемом ядерной массы в эутопическом эндометрии и эндометрии «переходной зоны» у здоровых женщин 5 группы (контроль-2) ( $19,77 \pm 0,4$  и  $19,05 \pm 1,29$ , соответственно,  $p > 0,05$ ). Статистически достоверных межгрупповых различий по этому показателю также не наблюдалось (таблица 27).

**Таблица 27** – Морфометрическая характеристика эктопического эндометрия при различных стадиях аденомиоза по сравнению с эутопическим эндометрием и эндометрием «переходной зоны» в группе контроля-2

Показатель	5 группа n = 25 контроль-2 ЭЭ	5 группа n = 25 контроль-2 ЭП	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
ОЯМ	$19,77 \pm 0,4$	$19,05 \pm 1,29$	$19,64 \pm 1,08$	$20,68 \pm 1,67$	$18,08 \pm 0,69$
ВК	$20,42 \pm 1,18$	$22 \pm 0,19$	$13,79 \pm 0,58^*$ ; /	$13,7 \pm 0,78^*$ ; /	$13,93 \pm 1,0^*$ ; /
АК	$31,92 \pm 1,04$	$31,45 \pm 1,17$	$39,76 \pm 1,26^*$ ; /	$40,18 \pm 2,15^*$ ; /	$39,13 \pm 0,36^*$ ; /
Энтропия	$1,7 \pm 0,5$	$2,8 \pm 0,14$	$3,16 \pm 0,01/$	$3,16 \pm 0,01/$	$3,18 \pm 0,03/$
Средний диаметр ядер	$24,75 \pm 1,9$	$25,8 \pm 0,79$	$18,68 \pm 0,64^*$ ; /	$17,73 \pm 0,93^*$ ; /	$17,04 \pm 0,51^*$ ; /
ОП	$118,51 \pm 5,68$	$102,33 \pm 8,36$	$123,3 \pm 5,6$	$121,3 \pm 6,2$	$119,4 \pm 0,2$
ЭЛ	$2,48 \pm 1,92$	$1,40 \pm 0,15$	$1,75 \pm 0,13$	$1,71 \pm 0,12$	$1,67 \pm 0,09$

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей эктопического эндометрия по сравнению со средними значениями аналогичных показателей эндометрия «переходной зоны» (ЭП) в 5 группе (контроль-2); / – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей эктопического эндометрия по сравнению со средними значениями аналогичных показателей эутопического эндометрия (ЭЭ) в 5 группе (контроль-2).

Волокнистый компонент для участка эктопического эндометрия составил в среднем  $13,79 \pm 0,58$ , а аморфный  $39,76 \pm 1,26$  для пациенток 1

группы (I степень) (таблица 27), эти компоненты статистически значимо отличались от соответствующих показателей в 5 группе (контроль-2) ( $20,42 \pm 1,18$  и  $31,92 \pm 1,04$  в ЭЭ,  $22,0 \pm 0,19$  и  $31,45 \pm 1,17$  в ЭП). Однако статистически значимых межгрупповых различий у пациенток с различными степенями аденомиоза также не наблюдалось ( $p > 0,05$ ).

Показатель энтропии в очагах аденомиоза у пациенток 1 группы равен  $3,16 \pm 0,01$ , что практически в 2 раза превышает показатель  $1,7 \pm 0,5$ , характерный для неизмененного эутопического эндометрия, но при этом не имеет статистически достоверного различия с тем же показателем в эндометрии «переходной зоны» 5 группы (контроль-2). Межгрупповых отличий по этому показателю у пациенток с аденомиозом также не наблюдалось (таблица 27).

Проведенная нами кариометрия показала, что для эндометрия эутопического и эктопического типов различия связаны с величиной диаметра ядер, формирующих цитогенную строму. Так, средний диаметр ядер для эутопического эндометрия у здоровых женщин составил  $24,75 \pm 1,9$ , а в случае аденомиоза, независимо от степени его распространения, эктопический участок эндометрия содержал клетки с мелкими ядрами, средний диаметр которых составил  $18,68 \pm 0,64$  у пациенток из 1 группы, и с высокой степенью достоверности ( $p < 0,01$ ) отличался от исходного. На этом фоне произошло снижение и коэффициента эллиптичности, однако без статистической достоверности ( $p > 0,05$ ).

Необходимо отметить наличие различий описанного типа и в эндометриальной порции «переходной зоны» у пациенток с аденомиозом. Здесь объем волокнистого компонента составил у лиц 1 клинической группы  $12,41 \pm 0,8$ , у 2 –  $14,03 \pm 0,83$  и у 3 –  $16,45 \pm 0,59$ . Межгрупповые различия здесь отсутствовали, но в сравнении с 5 группой (контроль-2), снижение объема волокнистого компонента было статистически значимым –  $22,0 \pm 0,19$  ( $p < 0,001$ ).

Объем аморфного компонента у пациентов всех клинических групп нарастал и составил для 1 группы –  $36,02 \pm 0,47$ , для 2 –  $38,27 \pm 1,02$  и для 3 –  $39,82 \pm 1,4$  против  $31,45 \pm 1,17$  в ЭП 5 группы (контроль-2), ( $p < 0,01$ ) (таблица 28).

**Таблица 28** – Морфометрическая характеристика эндометрия «переходной зоны» при различных стадиях аденомиоза по сравнению с эутопическим эндометрием и эндометрием «переходной зоны» в 5 группе (контроль-2)

Показатель	5 группа n = 25 контроль-2 ЭЭ	5 группа n = 25 контроль-2 ЭП	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
ОЯМ	$19,77 \pm 0,4$	$19,05 \pm 1,29$	$18,98 \pm 0,63$	$19,89 \pm 0,44$	$20,5 \pm 0,49$
ВК	$20,42 \pm 1,18$	$22 \pm 0,19$	$12,41 \pm 0,8^{*,**}$	$14,03 \pm 0,83^{*,**}$	$16,45 \pm 0,59^{*,**}$
АК	$31,92 \pm 1,04$	$31,45 \pm 1,17$	$36,02 \pm 0,47^{*,**}$	$38,27 \pm 1,02^{*,**}$	$39,82 \pm 1,4^{*,**}$
Энтропия	$1,7 \pm 0,5$	$2,8 \pm 0,14$	$3,17 \pm 0,01^{*,**}$	$3,17 \pm 0,01^{*,**}$	$3,16 \pm 0,03^{*,**}$
Средний диаметр ядер	$24,75 \pm 1,9$	$25,8 \pm 0,79$	$18,3 \pm 0,5$	$17,45 \pm 0,75$	$17,1 \pm 0,38$
ОП	$118,51 \pm 5,68$	$102,33 \pm 8,36$	$124,5 \pm 5,5$	$120,2 \pm 4,8$	$120,4 \pm 3,8$
ЭЛ	$2,48 \pm 1,92$	$1,40 \pm 0,15$	$1,73 \pm 0,2$	$1,71 \pm 0,1$	$1,69 \pm 0,1$

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей эктопического эндометрия по сравнению со средними значениями аналогичных показателей эндометрия «переходной зоны» (ЭП) в 5 группе (контроль-2); \*\* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей эктопического эндометрия по сравнению со средними значениями аналогичных показателей эутопического эндометрия (ЭЭ) в 5 группе (контроль-2).

Изменение уровня содержания волокнистого и аморфного компонентов в составе эктопического эндометрия привело к увеличению показателя энтропии (таблица 28),  $p < 0,01$  для всех групп, что позволяет говорить о нарушении упорядоченности структурной организации объекта.

Проведенная нами кариометрия показала, что для эндометрия эутопического и эктопического типов различия связаны с величиной диаметра ядер, формирующих цитогенную строму. Так, средний диаметр ядер для эутопического эндометрия составил  $24,75 \pm 1,9$ , а в случае

**Таблица 29** – Морфометрическая характеристика эутопического эндометрия при различных стадиях аденомиоза по сравнению с эутопическим эндометрием и эндометрием «переходной зоны» в группе контроль-2

Показатель	5 группы n = 25 контроль-2 ЭЭ	5 группы n = 25 контроль-2 ЭП	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
ОЯМ	19,77 ± 0,4	19,05 ± 1,29	20,68 ± 1,67	19,64 ± 1,08	18,08 ± 0,69
ВК	20,42 ± 1,18	22 ± 0,19	13,7 ± 0,78	13,79 ± 0,58	13,93 ± 1,0
АК	31,92 ± 1,04	31,45 ± 1,17	40,18 ± 2,15	39,76 ± 1,26	39,13 ± 0,36
Энтропия	1,7 ± 0,5	2,8 ± 0,14	3,16 ± 0,01	3,16 ± 0,01	3,16 ± 0,02
Средний диаметр ядер	24,75 ± 1,9	25,8 ± 0,79	18,5 ± 0,5*;**	17,6 ± 0,78*;**	17,2 ± 0,48*;**
ОП	118,51 ± 5,68	102,33 ± 8,36	125,4 ± 4,6	122,5 ± 5,3	120,4 ± 4,7
ЭЛ	2,48 ± 1,92*	1,40 ± 0,15	1,68 ± 0,12	1,7 ± 0,11	1,65 ± 0,08

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей эктопического эндометрия по сравнению со средними значениями аналогичных показателей эндометрия «переходной зоны» (ЭП) в 5 группе (контроль-2); / – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей эктопического эндометрия по сравнению со средними значениями аналогичных показателей эутопического эндометрия (ЭЭ) в 5 группе (контроль-2).

аденомиоза эутопический эндометрий содержал клетки с мелкими ядрами, средний диаметр которых составил  $18,5 \pm 0,5$  у пациенток 1 группы,  $17,6 \pm 0,78$  у пациенток 2 группы и  $17,2 \pm 0,48$  в 3 группе, что статистически значимо отличало его клеточную структуру от эутопического эндометрия женщин группы контроля  $24,75 \pm 1,9$  ( $p < 0,01$ ), на этом фоне также статистически значимо произошло снижение и коэффициента эллиптичности ( $p < 0,05$ ).

Характерной особенностью внутреннего миометрия на фоне аденомиоза было падение объема мышечной массы с формированием однородного вариационного ряда с колебанием от 27,5 до 34,1. В среднем содержание мышечной ткани составило у пациентов 1 группы  $29,5 \pm 0,67$ , у 2 –  $30,5 \pm 0,64$  и у 3 –  $28,5 \pm 0,64$  против  $39,4 \pm 0,6$  во ВМ 5 группы (контроль-2),  $p < 0,003$

(таблица 30). Объем межклеточного вещества составил  $17,92 \pm 0,72$  в 1 группе,  $18,78 \pm 0,82$  во 2 группе и  $18,12 \pm 0,97$  в 3 клинической группе и был статистически значимо выше, чем в ВМ 5 группы (контроль-2)  $14,98 \pm 0,43$ ,  $p < 0,003$ .

**Таблица 30** – Морфометрическая характеристика внутреннего миометрия на различных стадиях аденомиоза по сравнению с наружным и внутренним миометрием 5 группы (контроль-2)

Показатель	5 группы n = 25 (контроль-2) НМ	5 группы n = 25 (контроль-2) ВМ	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
ОЯМ	$20,69 \pm 2,8$	$18,2 \pm 0,6$	$19,52 \pm 0,42$	$18,91 \pm 0,64$	$18,67 \pm 0,78$
МТ	$50,4 \pm 13,9$	$39,4 \pm 0,6$	$29,5 \pm 0,67^{*,**}$	$30,5 \pm 0,64^{*,**}$	$28,5 \pm 0,64^{*,**}$
МВ	$10,7 \pm 3,6$	$14,98 \pm 0,43$	$17,92 \pm 0,72^{*,**}$	$18,78 \pm 0,82^{*,**}$	$18,12 \pm 0,97^{*,**}$
Энтропия	$0,98 \pm 0,22$	$2,8 \pm 0,16$	$4,10 \pm 0,01^*$	$4,16 \pm 0,01^*$	$4,12 \pm 0,01^*$
Средний диаметр ядер	$23,36 \pm 0,91$	$43,2 \pm 0,98$	$31,67 \pm 1,6^*$	$32,39 \pm 2,8^*$	$31,98 \pm 1,9^*$
ОП	$122 \pm 6,34$	$136,4 \pm 8,58$	$112,59 \pm 7,12$	$114,59 \pm 6,39$	$113,89 \pm 7,76$
ЭЛ	$1,42 \pm 1,25$	$3,1 \pm 0,08/$	$4,91 \pm 0,59^{*,**}$	$5,0 \pm 0,98^{*,**}$	$5,1 \pm 0,77^{*,**}$

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей внутреннего миометрия (ВМ) при аденомиозе по сравнению со средними значениями аналогичных показателей внутреннего миометрия в 5 группе (контроль-2); \*\* –соответствует статистически значимому различию средних значений показателей внутреннего миометрия (ВМ) при аденомиозе по сравнению со средними значениями аналогичных показателей наружного миометрия (НМ) в 5 группе (контроль-2); / – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей внутреннего миометрия (ВМ) по сравнению с аналогичными показателями в 5 группе (контроль-2).

При вычислении энтропии определяющего структурную организацию внутреннего миометрия, а также степени надежности функции миоцитов и возможности адаптации в условиях аденомиоза оказалось, что для миометрия «переходной зоны» ее показатель составил  $4,10 \pm 0,01$  для 1 группы,  $4,16 \pm 0,01$  и  $4,12 \pm 0,01$  для 2 и 3 групп соответственно, что составило

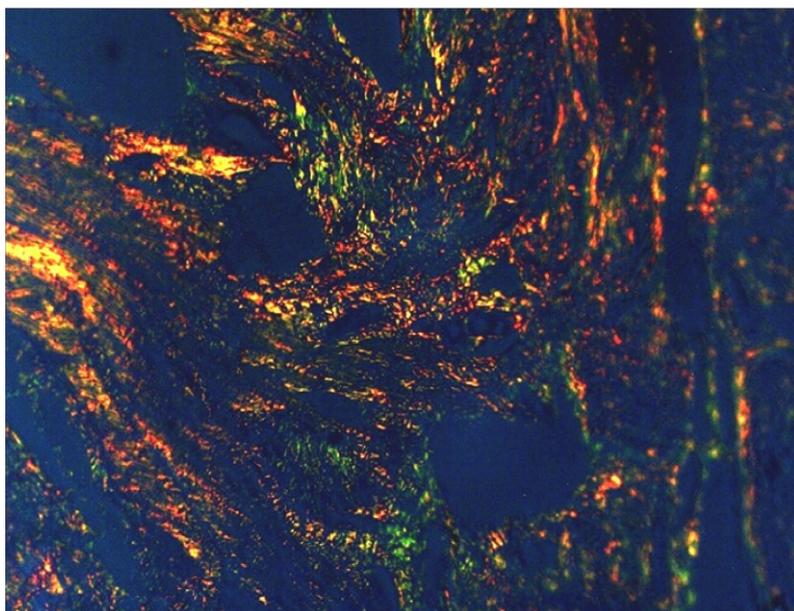
выраженную статистически значимую разницу по отношению к 5 группе (контроль-2)  $0,98 \pm 0,22$  ( $p < 0,001$ ).

При наличии в миометрии эктопических очагов в нем происходило увеличение диаметра ядер, и в среднем этот показатель составил у пациенток 1 группы –  $31,67 \pm 1,6$ , во 2 группе –  $32,39 \pm 2,8$  и в 3 группе –  $31,98 \pm 1,9$ . Статистические различия с участком наружного миометрия контрольной 5 группы были достоверны  $23,36 \pm 0,91$  ( $p < 0,05$ ). При этом показатель эллиптичности для ядер внутреннего миометрия возрос более чем в 3 раза, составив даже в 1 клинической группе, где инвазия эндометрия была минимальной,  $4,91 \pm 0,59$ , против  $1,42 \pm 1,25$  в наружном миометрии здоровых женщин и  $3,1 \pm 0,08$  во внутреннем миометрии 5 группы (контроль-2),  $p < 0,05$ .

Проведенное морфологическое и морфометрическое исследование тканей матки при аденомиозе разных степеней свидетельствуют о том, что эктопический эндометрий и, особенно, эндометрий «переходной зоны» характеризуется повышением коэффициента эллиптичности и нарастанию оптической плотности ядер, при котором последняя оказывается выше уровня контроля-2 (5 группа). Эндометрий данных пациенток обладает повышенной способностью к пролиферации и, следовательно, к инвазивной активности. При этом преобладание в тканях миометрия «переходной зоны» аморфного вещества благоприятствует процессу инвазии эндометрия в миометрий даже на ранних стадиях аденомиоза. Независимо от степени распространения аденомиоза ядра гладких миоцитов «переходной зоны» обнаруживают эффект плеоморфизма, но при этом 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.

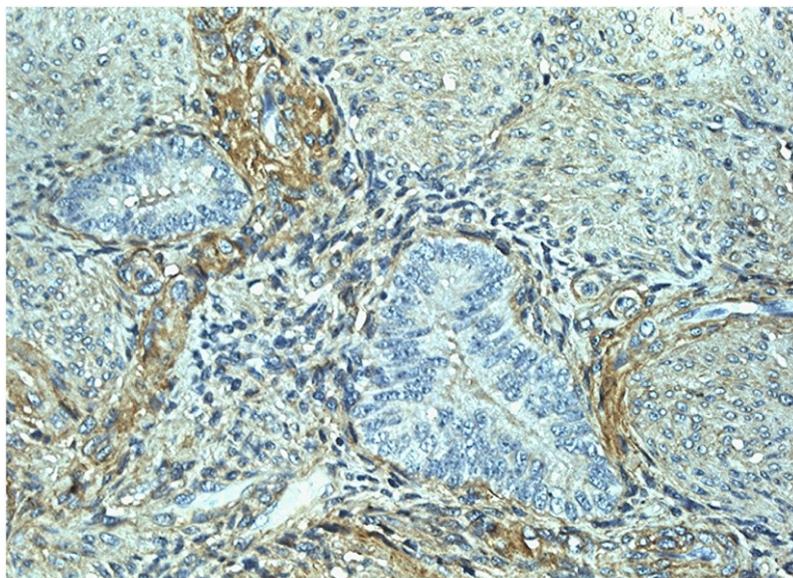
### **2.4.3. Результаты морфологического и иммуногистохимического исследования фрагментов внутреннего миометрия «переходной зоны» и наружного миометрия в группе здоровых женщин и пациенток с аденомиозом различных степеней**

В условиях иммуногистохимического тестирования «переходной зоны» у здоровых женщин с использованием антител к коллагену I типа видно, что он встречается в небольшом количестве и не везде, а вокруг отдельных мышечных групп, где эти волокна формируют соединительнотканную прослойку. Интенсивность реакции от слабой до умеренной. При окрашивании пикросириусом красным в поляризационном свете стромальный компонент в основном представлен коллагеном I типа, между этими фибриллами встречается коллаген III типа в виде тонких волокон, обнаруживающих зеленое свечение (рисунок 10). Изучение участка «переходной зоны» после окрашивания пикросириусом красным с последующей поляризационной микроскопией позволил выявить коллаген I, и III типов, при этом коллаген I типа превалировал.



**Рисунок 10** – Выявление коллагена I и III типов. Окраска пикросириусом красным. Поляризационная микроскопия. Об.40х; Ок.10х

В условиях избирательного выявления коллагена I типа с помощью иммуногистохимического теста оказалось, что в препаратах окрашиваются в светло-коричневый цвет расположенные в прослойке соединительной ткани, тонкие коллагеновые фибриллы, сопровождающие кровеносные сосуды (рисунок 11). На отдельных участках встречаются фибробласты, цитоплазма которых окрашивается диффузно в темно-коричневый цвет. Клетки этого типа встречаются чаще всего по одиночке.



**Рисунок 11** – Выявление коллагена I типа. Об.40х; Ок.10х

При количественной оценке результатов окрашивания по Маллори выявлено, что в зоне топографии «переходной зоны» у здоровых женщин уровень содержания соединительнотканного компонента во внутреннем миометрии был статистически значимо выше, чем в наружном миометрии ( $5,16 \pm 1,01$  против  $2,93 \pm 0,67$ ,  $p < 0,05$ ). Таким образом, в области миометрия «переходной зоны» (внутренний миометрий) у здоровых женщин наблюдается увеличение объема экстрацеллюлярного фибриллярного компонента, что, вероятно, усиливает его протективные свойства (таблица 31).

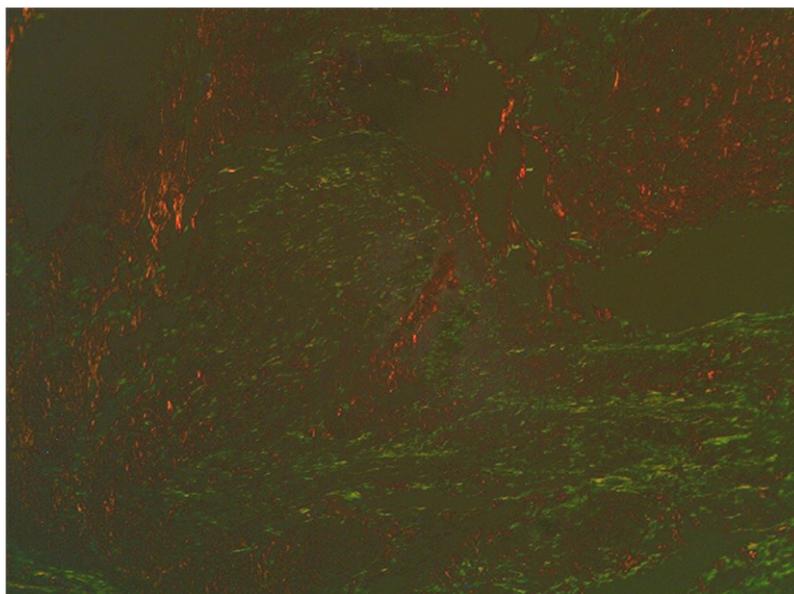
У пациенток с аденомиозом при выявлении коллагена пикросириусом красным с последующей поляризационной микроскопией отчетливо видно, что волокна экстрацеллюлярного матрикса обнаруживают свечение от

**Таблица 31** – Количественный анализ результатов окрашивания по Маллори участков внутреннего и наружного миометрия у пациенток с аденомиозом

Показатель	5 группа n = 25 (контроль -2)	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
Внутренний миометрий, %	5,16 ± 1,01*	1,64 ± 0,94**	2,1 ± 2,24**	3,1 ± 2,24**
Наружный миометрий, %	2,93 ± 0,67	1,36 ± 0,74**	1,64 ± 0,77**	1,88 ± 0,987**

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей внутреннего миометрия (ВМ) в 5 группе (контроль-2) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей наружного миометрия (НМ) в 5 группе (контроль-2); \*\* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей при аденомиозе по сравнению со средними значениями аналогичных показателей наружного миометрия (НМ) в 5 группе (контроль-2).

светло-зеленого до темно-зеленого, на этом фоне выявляется небольшое количество волокон желтого и красного цветов. Названные окраски позволяют считать, что преобладающим компонентом экстрацеллюлярного матрикса переходной зоны является коллаген III типа (рисунок 12).



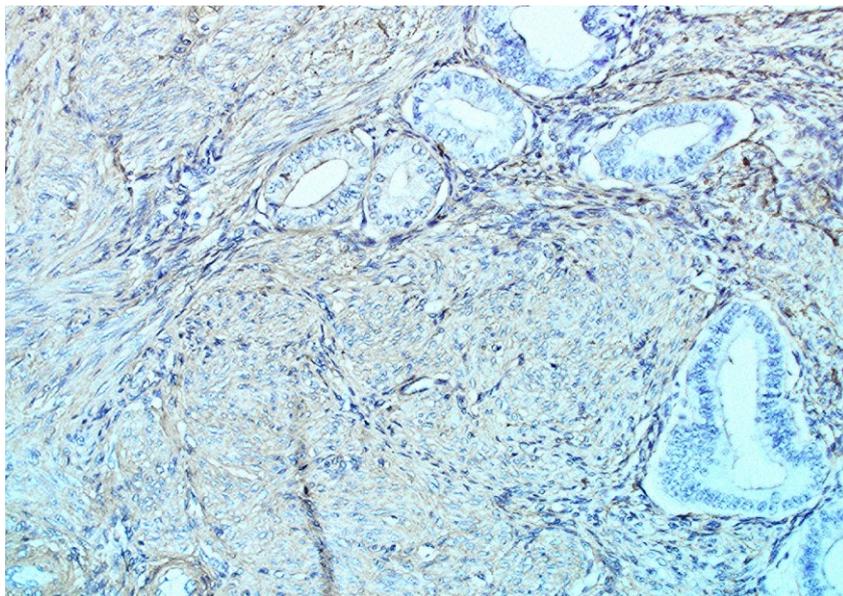
**Рисунок 12** – Окрашивание пикросириусом красным.  
Поляризационная микроскопия. Об.40х; Ок.10х

Соединительнотканная строма, прилежащая на участке «переходной зоны» к концевым отделам маточных желез, обнаруживает красное свечение,

соответствующее локализации коллагена I типа. На участке «переходной зоны» с внутренним миометрием соединительнотканый остов формируется преимущественно за счет коллагена III типа, и в условиях поляризационной микроскопии отчетливо видно, что эти волокна обнаруживают свечение зеленого спектра от светлого до насыщенного темно-зеленого.

При проведении иммуногистохимических реакций оказалось, что коллаген I типа локализуется вокруг очагов аденомиоза в прослойках соединительной ткани, сопровождающей кровеносные сосуды. При этом интенсивность реакции отдельных коллагеновых волокон высокая. В гладкомышечных клетках окрашивается зона их периферии, соответствующая локализации базальной мембраны, а также аморфный матрикс, который обнаруживает реакцию слабой интенсивности.

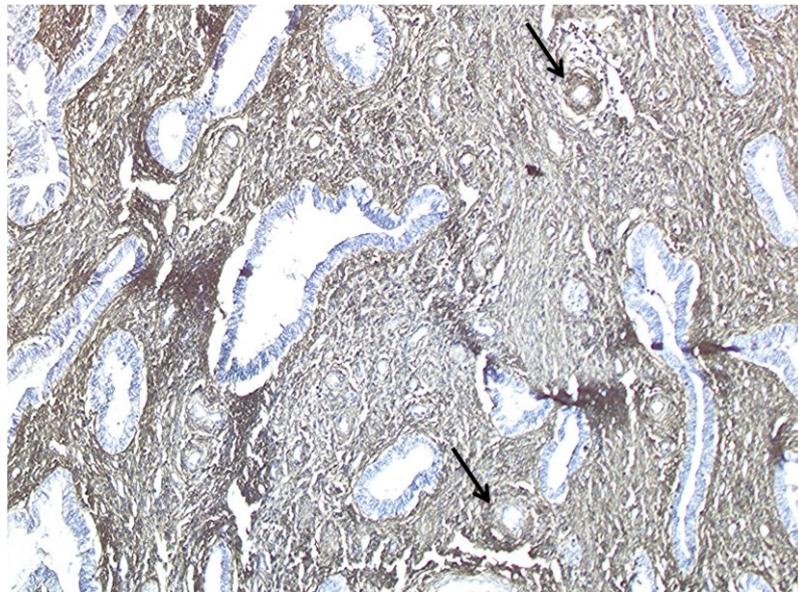
На участке «переходной зоны», принадлежащей к эндометрию, положительную иммуногистохимическую реакцию на коллаген I типа обнаруживают лишь волокна, принадлежащие базальной мембране, на которой располагаются эпителиоциты маточных желез, а также коллагеновые фибриллы, окружающие пучки ГМК (рисунок 13).



**Рисунок 13** – Иммуногистохимическое выявление коллагена I типа. Экстрацеллюлярный матрикс окружающий эндометриальные железы. Об.20х; Ок.10х

В последнем случае местами положительную реакцию умеренной интенсивности обнаруживает экстрацеллюлярный матрикс. Здесь появляются клетки, цитоплазма которых содержит проколлаген. Не исключено, что это миофибробласты, они чаще всего располагаются вокруг донных частей маточных желез.

При иммуногистохимической реакции на коллаген III типа реакцию слабой интенсивности обнаруживают экстрацеллюлярный матрикс и отдельные коллагеновые фибриллы, типичные в матриксе, который чаще всего располагается вокруг мелких кровеносных сосудов типа артериол (указаны стрелкой на рисунке) (рисунок 14).



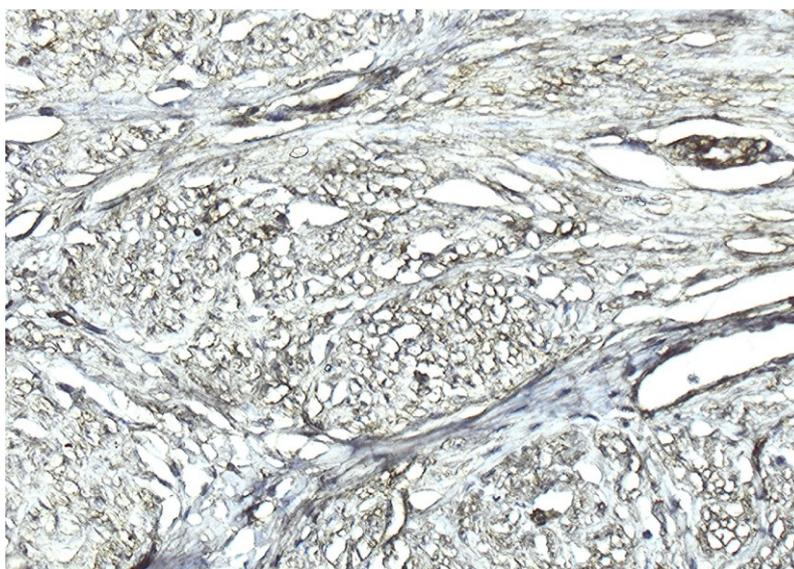
**Рисунок 14** – Иммуногистохимическое выявление коллагена III типа.

Эктопический эндометрий. Артериолы. Об.20х; Ок.10х

На участке эндометрия, принадлежащего «переходной зоне», коллаген III типа выявляется в экстрацеллюлярном матриксе цитогенной стромы, окружающей гипертрофированные маточные железы. Интенсивность реакции от слабой до умеренной. В зоне внутреннего миометрия, принадлежащего «переходной зоне», положительную реакцию на коллаген III типа обнаруживают волокна, окружающие ГМК, и волокна, прилежащие к стенкам капилляров и артериол. Интенсивность их окраски варьирует от

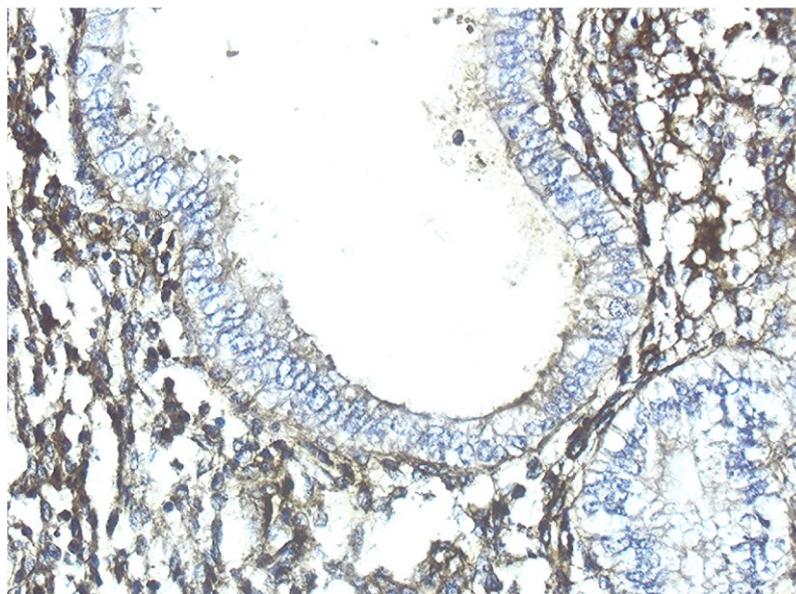
слабой до умеренной. В цитогенной строме появляются миофибробласты, накопившие коллаген, но еще не приступившие к процессу его внеклеточного фибриллогенеза.

Изучение распределения коллагена IV типа, исходя из его особенностей, было связано с мембранами эндометриальных желез, которые в условиях его избирательного обнаружения очень четко контурировались. Следует отметить структурированность и мембран, входящих в состав стенок кровеносных сосудов. Коллаген IV типа является основным компонентом базальной мембраны сосудов и играет важную роль в обеспечении нормальной пространственной и функциональной организации сосудистой стенки. Иммуноцитохимическое выявление коллагена IV типа показало присутствие его вдоль стенок кровеносных сосудов как внутреннего, так и наружного миометрия, взятого у здоровых женщин и пациентов с аденомиозом разных степеней. На участке внутреннего миометрия, принадлежащего «переходной зоне», мембраны, окружающие гладкие миоциты окрашиваются слабо и умеренно. При наличии поперечно срезанных ГМК видна окраска их мембран, интенсивность реакции умеренная (рисунок 15).



**Рисунок 15** – Иммуногистохимическое выявление коллагена IV типа.  
Гладкомышечные клетки. Об.40х; Ок.10х

Цитоплазма ГМК не окрашивается, а ее периферическая часть дает положительную реакцию за счет окружающих клетку мембран, и такие участки выглядят как зоны «вакуолизации». На участке эндометрия, принадлежащего «переходной зоне», положительную реакцию на коллаген IV типа обнаруживают тонкие фибриллы цитогенной стромы, а также базальная мембрана эпителиоцитов эндометриальных желез (рисунок 16).



**Рисунок 16** – Иммуногистохимическое выявление коллагена IV типа. Базальная мембрана эндометриальных желез. Об.40х; Ок.10х

При количественной оценке результатов окрашивания по Маллори выявлено: в области «переходной зоны» у пациенток с аденомиозом в области внутреннего миометрия наблюдается достоверно значимое снижение объема экстрацеллюлярного фибриллярного компонента, и это падение наиболее ярко выражено для «переходной зоны». Так, в 1 группе данный показатель снижается более чем в 3 раза ( $1,64 \pm 0,94$  против  $5,16 \pm 1,01$  в 5 группе (контроль-2)). Такая же тенденция прослеживается для 2 и 3 групп ( $2,1 \pm 2,24$  и  $1,98 \pm 0,65$  соответственно против  $5,16 \pm 1,01$  в 5 группе (контроль-2)). Статистически значимых различий между группами не наблюдалось. В области топографии наружного миометрия наиболее значимые изменения выявлялись при аденомиозе II и III степеней,

усиливаясь по мере инвазии эндометрия в межмиометральные пространства ( $1,67 \pm 0,98$  против  $2,93 \pm 0,67$  в 5 группе (контроль-2)).

**Таблица 32** – Показатели оптической плотности коллагена IV типа участков внутреннего и наружного миометрия у пациенток с аденомиозом

Показатель	5 группа n = 25 контроль-2	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
Внутренний миометрий, %	$3,2 \pm 0,21$	$4,54 \pm 0,34^*$	$5,39 \pm 2,24^*$	$5,62 \pm 1,76^*$
Наружный миометрий, %	$3,23 \pm 0,55$	$4,13 \pm 0,54^{**}$	$4,64 \pm 0,77^{**}$	$5,35 \pm 0,987^{**}$

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей внутреннего миометрия (ВМ) у пациенток с аденомиозом по сравнению со средними значениями аналогичных показателей ВМ в 5 группе (контроль-2); \*\* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей наружного миометрия (НМ) у пациенток с аденомиозом по сравнению со средними значениями аналогичных показателей НМ в 5 группе (контроль-2).

Во время исследования количественный показатель проэкспрессировавшего коллагена IV типа в образцах внутреннего миометрия при аденомиозе составил в 1 группе  $4,54 \pm 0,34$ , во 2 группе –  $5,39 \pm 2,24$  и в третьей –  $5,62 \pm 1,76$  у.е. В контрольных образцах (5 группа) она статистически значимо ниже –  $3,2 \pm 0,21$  ( $p < 0,01$ ). В образцах, зонально принадлежащих к наружному миометрию, экспрессия коллагена IV типа статистически значимо не отличались от соответствующих значений во внутреннем миометрии (таблица 32) ( $p > 0,01$ ). При наличии аденомиоза нами было выявлено статистически значимое увеличение показателей экспрессии коллагена IV в наружном миометрии у пациенток с аденомиозом (1, 2, 3 группы) ( $4,13 \pm 0,54$ ,  $4,64 \pm 0,77$  и  $5,35 \pm 0,987$  соответственно против  $3,23 \pm 0,55$  в 5 группе (контроль-2) ( $p < 0,03$ ).

Таким образом, при аденомиозе даже ранних степеней в области миометрия изменяется соотношении объема соединительной ткани,

окружающей мышечные группы в зоне внутреннего миометрия. При сравнении с 5 группой (контроль-2), при аденомиозе происходит снижение объема экстрацеллюлярного фибриллярного компонента, и это падение наиболее ярко выражено для «переходной зоны». Повышение экспрессии коллагена IV типа при аденомиозе, выявляемое в зоне внутреннего миометрия уже на ранних стадиях, связано с патологически избыточным ангиогенезом, сопровождающим процесс инвазии и роста участков эктопического эндометрия.

Сравнительное изучение распределения гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA) в «переходной зоне» (зона внутреннего миометрия) и в наружном миометрии у пациентов с аденомиозом и в 5 контрольной группе показало, что положительную реакцию различной степени интенсивности обнаруживают ГМК стенки матки. При этом ГМК, ориентированные циркулярно, дают реакцию от слабой до умеренной интенсивности, а ГМК, выявляемые в поперечном сечении, – интенсивную. В последнем случае среди групп ГМК удастся типировать клетки с различной степенью интенсивности реакции: одни клетки окрашены интенсивно, другие – умеренно, третьи – слабо.

**Таблица 33** – Количественный анализ результатов степени экспрессии  $\alpha$ -актина в гладких миоцитах у пациенток с аденомиозом

$\alpha$ -SMA	5 группа n = 25 (контроль-2)	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
Внутренний миометрий, %	44 ± 10,1	28,52 ± 6,35*	25,42 ± 5,45*	23,4 ± 3,76*
Наружный миометрий, %	40,75 ± 4,25	47,72 ± 5,73	37,8 ± 6,56**	32,5 ± 8,65**

Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей внутреннего миометрия «переходной зоны» (ВМ) у пациенток с аденомиозом по сравнению со средними значениями аналогичных показателей ВМ в 5 группе (контроль-2); \*\* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей наружного миометрия (НМ) у пациенток с аденомиозом по сравнению со средними значениями аналогичных показателей НМ в 1 группе.

С одной стороны, этот факт может служить показателем различной экспрессии  $\alpha$ -SMA. С другой стороны, этот эффект может быть связан с уровнем среза ГМК в центре или на периферии, то есть на участках с различным уровнем содержания актина. В «переходной зоне» при реакции на  $\alpha$ -SMA, реакцию умеренной или даже высокой степени обнаруживают ГМК этой зоны.

Проведенное исследование уровня экспрессии  $\alpha$ -SMA показало, что у женщин 5 контрольной группы характер экспрессии этого фактора и в зоне внутреннего и наружного миометрия совпадал и составил  $44,0 \pm 0,1$  и  $40,75 \pm 4,25$  соответственно. В то же время у пациенток 1 группы выявлены различия уровня экспрессии этого маркера для «переходной зоны» и наружного миометрия. Так, во внутреннем миометрии пациенток с первой степенью аденомиоза (1 группа) экспрессия  $\alpha$ -SMA в среднем оказалась равной  $28,52 \pm 6,35$  против  $44 \pm 10,1$  в контроле-2 ( $p < 0,05$ ), тогда как в наружном миометрии экспрессия  $\alpha$ -SMA оказалась в 1,5 раза больше и составила в среднем  $47,75 \pm 5,73$ , что статистически значимо не отличалось от экспрессии  $\alpha$ -SMA в наружном миометрии 5 контрольной группы ( $40,75 \pm 4,25$ ,  $p > 0,01$ ).

Дальнейшее статистически значимое уменьшение экспрессии  $\alpha$ -SMA во внутреннем миометрии мы наблюдали по мере увеличения степени распространения аденомиоза. Так, у пациенток 2 группы этот показатель составил  $25,42 \pm 5,45$ , у пациенток 3 клинической группы –  $23,4 \pm 3,76$  ( $p < 0,05$ ).

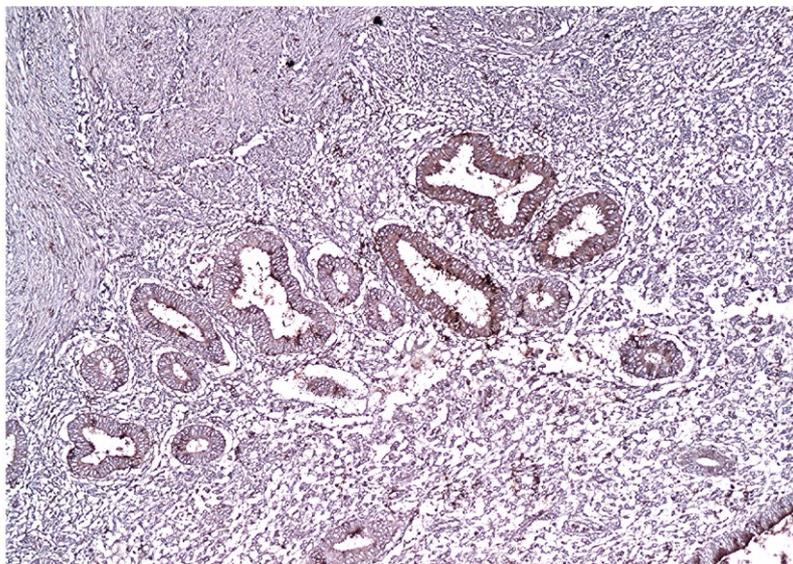
В наружном миометрии статистически значимое снижение экспрессии  $\alpha$ -SMA выявлено у пациенток 2 и 3 клинической группы ( $37,8 \pm 6,56$  и  $32,5 \pm 8,65$ , соответственно против  $40,75 \pm 4,25$  в 5 группе (контроль-2)),  $p < 0,05$ , тогда как в наружном миометрии больных аденомиозом I степени (1 группа) статистически значимой динамики не наблюдалось ( $47,72 \pm 5,73$  против  $40,75 \pm 4,25$  в контроле-2),  $p > 0,01$ .

Результатом изучения количественной экспрессии  $\alpha$ -SMA актином методом оценки площади позитивных участков следует считать факт снижения уровня содержания в гладкомышечных клетках внутреннего миометрия  $\alpha$ -SMA при аденомиозе. Не исключено, что различия уровня содержания  $\alpha$ -SMA отражают процессы, протекающие в ГМК миометрия в процессе их патологической дифференцировки, поскольку при аденомиозе речь идет об эффекте трансформации эндометриальных стромальных клеток в клетки-миофибробласты, а затем – в ГМК со склонностью к гиперплазии и гипертрофии и сниженным накоплением в них контрактильных миофиламентов, обеспечивающих экспрессию – гладкомышечного актина. Косвенным подтверждением этого были выраженная периваскулярная реакция стромы и явления неоангиогенеза, сопровождающиеся активным ремоделированием миометрия уже на ранних стадиях аденомиоза.

#### **2.4.4. Иммуногистохимическое изучение экспрессии фактора VEGF-A в эутопическом эндометрии и цервикальной слизи у пациенток с аденомиозом**

Иммуногистохимическое изучение экспрессии фактора VEGF-A показало, что в контрольной группе слабую положительную реакцию обнаруживают эпителиоциты эндометриальных желез эутопического эндометрия, «переходной зоны» и эндотелиальные клетки. При наличии аденомиоза, независимо от степени процесса, иммуногистохимическое выявление VEGF-A показало, что положительную реакцию обнаруживают эпителиоциты маточных желез и эндотелиальные клетки сосудов. При этом цитоплазма эпителиоцитов желез обнаруживает интенсивную диффузную реакцию, местами встречаются гладкие миоциты со слабо окрашенной цитоплазмой. При наличии группы желез отчетливо видны различия в уровне экспрессии VEGF-A их эпителиоцитами. В то же время интенсивность реакции в клетках стромы, окружающей концевые отделы желез, варьирует в

зависимости от ее топографического расположения: ближе к концевым отделам желез располагаются группы клеток, окрашенные умеренно, по мере удаления – слабо. Отдельные гладкие миоциты обнаруживают слабую реакцию с диффузным распределением красителя. Между поперечно срезанными пучками гладких миоцитов располагаются прослойки соединительной ткани, в которой встречаются интенсивно окрашенные клетки. В участках миометрия VEGF-позитивные клетки обнаруживаются в зоне периваскулярных инфильтратов. Так при малом увеличении (рисунок 17) отчетливо видна положительная реакция эпителиоцитов желез и отдельных клеток окружающей их стромы.



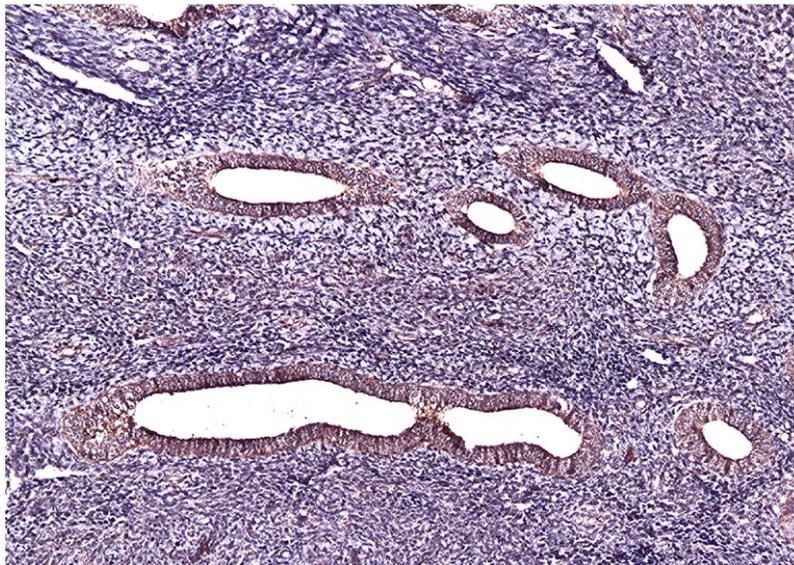
**Рисунок 17** – Иммуногистохимическое выявление VEGF-A в эпителиоцитах.

Об.10х; Ок.10х

При большом увеличении четко видно, что снаружи от стромы располагаются гладкие миоциты, уровень экспрессии VEGF-A в них умеренный. Наиболее выражена экспрессия этого фактора регистрируется в железах эндометрия и в эпителии очагов аденомиоза (рисунок 18).

Положительная реакция на VEGF-A отдельных гладкомышечных клеток указывает на факт привлечения муральных клеток к процессу ангиогенеза. Не исключено, что это перициты, находящиеся на базальной мембране с эндотелиальными клетками и непосредственно контактирующие

с ними. При этом исходом такой трансформации может быть эффект формирования сосудов с неподвижным фенотипом, а, следовательно, и стенки сосуда с нарушенной степенью проницаемости.



**Рисунок 18** – Иммуногистохимическое выявление VEGF-A в очаге аденомиоза.  
Об.20х; Ок.10х

Так, при наличии группы желез отчетливо типизируются различия в уровне экспрессии VEGF-A их эпителиоцитами от слабой до умеренной, а местами – интенсивной реакции с нарастанием площади окрашивания. Необходимо отметить слабую реакцию в гладкомышечных клетках зоны внутреннего миометрия.

При расчете оптической плотности и продукции секрета VEGF-A в эутопическом эндометрии, эндометрии «переходной зоны» и эктопических очагах выявлены следующие закономерности:

1. Показатель оптической плотности (ОП) VEGF-A в эутопическом эндометрии при аденомиозе I степени был статистически значимо увеличен по сравнению с аналогичным показателем в 5 группе (контроль-2) ( $82,91 \pm 7,2$  против  $43,56 \pm 6,37$ ) при  $p < 0,001$ . При этом достоверных межгрупповых различий при усугублении тяжести процесса отмечено не было между значениями ( $82,91 \pm 7,24$ ) в 1-й группе, ( $97,67 \pm 8,65$ ) во 2-й группе, ( $99,68 \pm 9,82$ ) в 3-й группе при  $p > 0,05$ .

2. Та же тенденция прослеживалась и относительно расчетного показателя продукции секрета (ПС), так,  $618,62 \pm 50,65$  в 1-й группе против  $497,39 \pm 30,45$  в 5 группе (контроль-2) при  $p < 0,05$ . Аналогично отличие от контроля отмечалось и в других группах, но между группами значения различия не были статистически значимыми (таблица 34).

3. В железах эктопического эндометрия у пациенток с аденомиозом отмечалось достоверно значимое увеличение экспрессии VEGF-A по сравнению с железами эутопического эндометрия (ОП для 1-й группы –  $109,96 \pm 6,67$  против  $82,91 \pm 7,24$ , для 2-й группы –  $121,87 \pm 5,97$  против  $97,67 \pm 8,65$ , для 3-й группы –  $124,94 \pm 7,02$ , против  $99,68 \pm 9,82$  соответственно при  $p < 0,05$ ).

**Таблица 34** – Показатели оптической плотности и продукция секрета в эндометрии при иммуногистохимическом выявлении VEGF-A

VEGF-A		5 группа n = 25 (контроль-2)	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
Эутопический эндометрий	ОП	$43,56 \pm 6,37$	$82,91 \pm 7,24^{**}$	$97,67 \pm 8,65^{**}$	$99,68 \pm 9,82^{**}$
	ПС	$497,39 \pm 30,45$	$618,62 \pm 50,65^*$	$675,3 \pm 65,52^*$	$785,47 \pm 60,87^*$
Эктопический эндометрий	ОП	–	$109,96 \pm 6,67$	$121,87 \pm 5,97$	$124,94 \pm 7,02$
	ПС	–	$623,6 \pm 42,8$	$1510,2 \pm 330,0$	$1247,8 \pm 397,1$
Эндометрий переходной зоны	ОП	$67,87 \pm 11,56$	$106,38 \pm 9,43^*$	$130,81 \pm 9,35^*$	$132,76 \pm 12,27^*$
	ПС	$246,58 \pm 67,12$	$769,72 \pm 95,89^*$	$1931,8 \pm 241,6^*$	$1789,6 \pm 236,5^*$

Примечание: \* – статистически значимые отличия величин от величин контрольной группы,  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,001$ .

Для межгрупповых различий при этом статистически значимых различий не наблюдалось,  $p > 0,05$ .

В железах эндометрия «переходной зоны» у пациенток 1 группы отмечалось достоверно значимое увеличение показателей ОП и ПС относительно 5 группы (контроль-2) (для ОП ( $106,38 \pm 9,43$ ) против ОП контроля-2 ( $67,87 \pm 11,56$ ) и для ПС ( $769,72 \pm 95,89$ ) против ПС контрольной группы ( $246,58 \pm 67,12$ ). Во 2 и 3 группе ОП и ПС также

достоверно значимо отличался от показателей 5 группы (контроль-2) (для ОП ( $130,81 \pm 9,35$ ), и ( $132,76 \pm 12,27$ ) и для ПС ( $1931,8 \pm 241,6$ ) и ( $1789,6 \pm 236,5$ ), соответствующих 2-й и 3-й группам, против ( $67,87 \pm 11,56$ ) и ( $246,58 \pm 67,12$ ) в 5 группе (контроль-2,  $p < 0,05$ ).

В целом, 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 ранних степеней. Как известно, при адекватной пролиферативной активности эндометрия ангиогенез протекает упорядочено и с умеренной интенсивностью. Избыточная экспрессия VEGF-A включает эндотелиальные клетки в цикл гиперактивной пролиферации, миграции, организации тубул и изменяет характер ангиогенеза, формируя образование незрелых кровеносных сосудов. В дальнейшем этот ростовой фактор способствует выживанию эндотелиальных клеток, ингибируя апоптоз, что, в конечном счете, приводит к «созреванию» капилляров и увеличению проницаемости стенок сосудов.

Исследование цервикальной слизи широко используется для диагностики инфекционных и онкологических заболеваний женской половой сферы в связи с тем, что его исследование неинвазивно, а цервикальный секрет содержит в растворимой форме ингибиторы и активаторы процессов неоангиогенеза коррелирующие с локальным гомеостазом тканей матки.

При оценке состояния локального ангиогенеза у пациенток с аденомиозом по сравнению с 4 группой здоровых женщин исходно выявлено достоверно значимое повышение концентрации VEGF-A в 1 клинической группе ( $102,5 \pm 19,3$  пг/мл) по сравнению с нормативными значениями ( $54,3 \pm 12,5$  пг/мл) при  $p < 0,05$ . Уровень растворимого рецептора VEGF-R1 в цервикальной слизи был также достоверно повышен относительно 4 группы (контроль-1) :  $54,7 \pm 9,0$  пг/мл против  $19,8 \pm 12,2$  пг/мл при  $p < 0,05$ ; а уровень рецепторов VEGF-R2, являющихся ингибиторами ангиогенеза не

имел достоверного увеличения:  $66,8 \pm 15,6$  пг/мл против  $61,1 \pm 11,1$  пг/мл в контроле-1 при  $p > 0,05$ .

Отношение рецепторов VEGF-R1/VEGF-A в 1-й группе ( $0,53 \pm 0,15$ ) не отличалось от аналогичного отношения в 4 контрольной группе ( $0,36 \pm 0,12$ ), а отношение VEGF-R2/VEGF-A снижалось до  $0,65 \pm 0,21$  против  $1,13 \pm 0,13$  в 4 группе (контроль-1) статистически значимо ( $p < 0,05$ ).

Во 2-й и в 3-й клинических группах наблюдалось выраженное увеличение содержания ангиогенных активаторов в цервикальной слизи, а ключевой показатель состояния ангиогенного баланса – отношение VEGF-R2/VEGF-A – был снижен относительно нормы 4 группы (контроль-1) практически в 10 раз (таблица 35).

**Таблица 35** – Содержание про- и антиангиогенных маркеров в цервикальной слизи у больных аденомиозом по сравнению с 4 группой (контроль-1)

Показатель	4 группа n=35 (контроль-1)	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
VEGF-A, пг/мл	$54,3 \pm 12,5$	$102,5 \pm 19,3^*$	$768,6 \pm 84,3^*$	$974,3 \pm 57,6^*$
VEGF-R1, пг/мл	$19,8 \pm 12,2$	$54,7 \pm 9,0$	$89,7 \pm 15,8$	$110,8 \pm 29,1$
VEGF-R2, пг/мл	$61,1 \pm 11,1$	$66,8 \pm 15,6$	$90,4 \pm 18,7$	$105,6 \pm 22,6$
VEGF-R1/ VEGF-A	$0,36 \pm 0,12$	$0,53 \pm 0,15$	$0,12 \pm 0,06^*$	$0,11 \pm 0,06^*$
VEGF-R2/ VEGF-A	$1,13 \pm 0,13$	$0,65 \pm 0,21^*$	$0,12 \pm 0,08^*$	$0,11 \pm 0,09^*$

Примечание: \* – статистически значимые различия величин от величин контрольной группы-1,  $p < 0,05$ .

Такой дисбаланс между увеличением активности антиангиогенного и проангиогенного фактора роста в цервикальной слизи указывает на изменение аутокринной регуляции ангиогенеза в эндометрии уже на ранних стадиях аденомиоза и, как следствие, на усиление пролиферативной активности сосудов и инвазивного роста ткани эндометрия. Кроме того, полученные статистически значимые различия параметров ангиогенеза в цервикальной слизи при аденомиозе различных степеней позволяют использовать уровень VEGF-A как один из неинвазивных критериев верификации аденомиоза I степени.

## **2.5. Корреляционная зависимость между морфометрическими и иммуногистохимическими параметрами тканей миометрия, эндометрия «переходной зоны» и уровнем VEGF-A в цервикальной слизи при аденомиозе**

Для сопряжения полученных результатов морфогистологического исследования с иммуногистохимическими параметрами тканей миометрия и эндометрия «переходной зоны» нами был проведен корреляционный анализ внутри клинических групп. Объектами корреляционных связей взяты показатели, характеризующие пролиферативные свойства тканей (энтропия внутреннего миометрия и средний диаметр ядер эндометрия «переходной зоны»), величины экспрессии сократительных белков ( $\alpha$ -SMA) и соединительнотканых компонентов (коллаген I и IV типов), а также количественные характеристики факторов, отражающих интенсивность ангиогенеза (VEGF-A) эндометрия и цервикальной слизи обследуемых пациенток с диффузным аденомиозом разных степеней.

Так, в 1 группе у пациенток с аденомиозом I степени имеет место наличие сильной отрицательной связи между Э ВМ и СДЯ ЭП ( $r = -0,86$ ,  $p < 0,05$ ), а также между Э ВМ и уровнями коллагена I типа ( $r = -0,87$ ,  $p < 0,05$ ), тогда как между коллагеном IV типа и Э ВМ наблюдалась сильная положительная связь ( $r = 0,83$ ,  $p < 0,05$ ), как и между Э ВМ и экспрессией VEGF-A ЭП ( $r = 0,85$ ,  $p < 0,05$ ). Такая же сильная положительная связь наблюдалась между показателями оптической плотности VEGF-A эндометрия «переходной зоны» и концентрацией VEGF-A в цервикальной слизи ( $r = 0,82$ ,  $p < 0,05$ ).

Экспрессия  $\alpha$ -SMA соотносилась положительно с показателями экспрессии коллагена I типа и отрицательно – с показателями экспрессии коллагена IV типа, причем связь в обоих случаях была сильной ( $r = 0,75$ ,  $p < 0,05$ ) и ( $r = -0,78$ ,  $p < 0,05$ ) соответственно.

У пациенток 2 группы с аденомиозом II степени отмечались те же тенденции в корреляционных связях, но коэффициент корреляции по модулю был несколько выше по некоторым позициям. Так как между коллагеном IV типа и Э ВМ наблюдалась сильная положительная связь ( $r = 0,93$ ,  $p < 0,05$ ), имело место наличие сильной отрицательной связи между Э ВМ и СДЯ ЭП ( $r = -0,96$ ,  $p < 0,05$ ), как и между Э ВМ и экспрессией VEGF-A ЭП ( $r = 0,95$ ,  $p < 0,05$ ), ( $r = -0,92$ ,  $p < 0,05$ ), сильная положительная связь наблюдалась между показателями оптической плотности VEGF-A эндометрия «переходной зоны» и концентрацией VEGF-A в цервикальной слизи ( $r = 0,95$ ,  $p < 0,05$ ), при этом наблюдалось уменьшение численного значения коэффициента корреляции между уровнем коллагена I типа, Э ВМ и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,76$ ,  $p < 0,05$ ) и ( $r = 0,75$ ,  $p < 0,05$ ), при этом связь оставалась в пределах показателей, характеризующих сильно отрицательную связь.

У пациенток с аденомиозом III степени (3 группа), отмечалось снижение численных значений энтропии в корреляционных взаимосвязях между сопрягаемыми параметрами. Наблюдалось наличие средней отрицательной связи между Э ВМ и СДЯ ЭП ( $r = -0,65$ ,  $p < 0,05$ ), а также между Э ВМ и уровнями коллагена I типа ( $r = -0,63$ ,  $p < 0,05$ ), средняя статистически значимая положительная связь отмечалась между коллагеном IV типа и Э ВМ ( $r = 0,64$ ,  $p < 0,05$ ), как и между Э ВМ и экспрессией VEGF-A ЭП ( $r = 0,65$ ,  $p < 0,05$ ). Экспрессия  $\alpha$ -SMA также соотносилась положительно с показателями экспрессии коллагена I типа, и отрицательно – с показателями экспрессии коллагена IV типа, но связь в обоих случаях была средней статистически значимой ( $r = 0,55$ ,  $p < 0,05$  и  $r = -0,68$ ,  $p < 0,05$  соответственно). Однако между показателями оптической плотности VEGF-A эндометрия «переходной зоны» и концентрацией VEGF-A в цервикальной слизи у пациентов 3 клинической группы (аденомиоз III степени), сохранялась сильная статистически значимая положительная связь ( $r = 0,87$ ,  $p < 0,05$ ).

Выявленные особенности изменения энтропии внутреннего миометрия (Э ВМ), среднего диаметра ядер клеток эндометрия «переходной зоны» (СДЯ ЭП), соотношения между коллагенами I и IV типов, экспрессии  $\alpha$ -SMA, показателей оптической плотности VEGF-A эндометрия и концентрации VEGF-A в цервикальной слизи у пациенток при различных степенях аденомиоза свидетельствуют об их взаимозависимости, что подтверждают таблицы коэффициентов парной корреляции между исследуемыми показателями в группах сравнения. Таким образом, все эти данные в целом подтверждают существование определенных закономерностей в изменениях тканей «переходной зоны», позволяющих считать взаимовлияние и взаимодействие изучаемых факторов патогенетически значимым для формирования аденомиоза. Одним из функциональных проявлений изменения иммуноморфологических параметров тканей «переходной зоны» можно считать повышенную резистентность маточного кровотока при аденомиозе даже ранних степеней.

## **2.6. Разработка и результаты доплерометрической функциональной нагрузочной пробы в исследуемых группах**

Систолодиастолическое соотношение, индекс резистентности, пульсационный индекс отражают сосудистое сопротивление периферической части сосудистого русла. Его увеличение отражается главным образом на уменьшении диастолического компонента доплеровского спектра кривой кровотока, что приводит к повышению численных значений вышеперечисленных индексов. Изменения сосудистого кровотока зависят от строения стенки сосуда, наличия тромбообразования, архитектоники сосудистой сети, а также морфологических особенностей окружающих тканей. Поэтому усиление резистентности в сосудах маточной артерии при аденомиозе, определяемое по результатам доплерометрии может являться

функциональным проявлением изменения морфоиммуногистохимических параметров тканей матки. В связи с этим нами был проведен корреляционный анализ соотношения между показателями, характеризующими интенсивность кровотока в матке (IR в бассейне маточной артерии), величинами экспрессии сократительных белков ( $\alpha$ -SMA) и соединительнотканых компонентов (коллаген IV типа) и количественных характеристик факторов, отражающих интенсивность ангиогенеза (VEGF-A) в эндометрии «переходной зоны» обследуемых пациенток с диффузным аденомиозом разных степеней.

В 1 клинической группе (таблица 36) между коэффициентом IR в системе маточной артерии ( $IR_{ma}$ ) наблюдалась статистически значимая сильная положительная корреляционная связь между  $IR_{ma}$  и экспрессией коллагена IV типа ( $r = 0,91$ ), и  $IR_{ma}$  и VEGF-A эндометрия «переходной зоны» ( $r = 0,92$ ). Сильная статистически значимая отрицательная связь отмечалась между  $IR_{ma}$  и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,96$ ).

**Таблица 36** – Коэффициент парной корреляции между  $IR_{ma}$ , величинами экспрессии сократительных белков ( $\alpha$ -SMA) и соединительнотканых компонентов коллаген I и IV типов) и VEGF-A в эндометрии «переходной зоны» у обследуемых пациенток с диффузным аденомиозом разных степеней

$IR_{ma}$ , коэффициент корреляции	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
Коллаген IV типа	0,91	0,79	0,7
$\alpha$ -SMA	-0,96	-0,79	-0,73
ПС VEGF ЭП	0,92	0,73	0,72

У пациенток 2 и 3 группы отмечались такие же тенденции в корреляционных связях, но коэффициент корреляции по модулю был несколько ниже по некоторым позициям. Так, между коллагеном IV типа и  $IR_{ma}$  наблюдалась сильная положительная связь ( $r = 0,79$  и  $r = 0,7$ ,  $p < 0,05$ ), также сильная положительная связь наблюдалась между показателями

оптической плотности VEGF-A эндометрия «переходной зоны» и IRma ( $r = 0,73$  и  $r = 0,72$ , соответственно,  $p < 0,05$ ). При этом отмечалось уменьшение численного значения коэффициента корреляции между IRma и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,79$ ,  $p < 0,05$ ) и ( $r = 0,73$ ,  $p < 0,05$ ), то есть связь оставалась в пределах показателей, характеризующих сильную отрицательную связь.

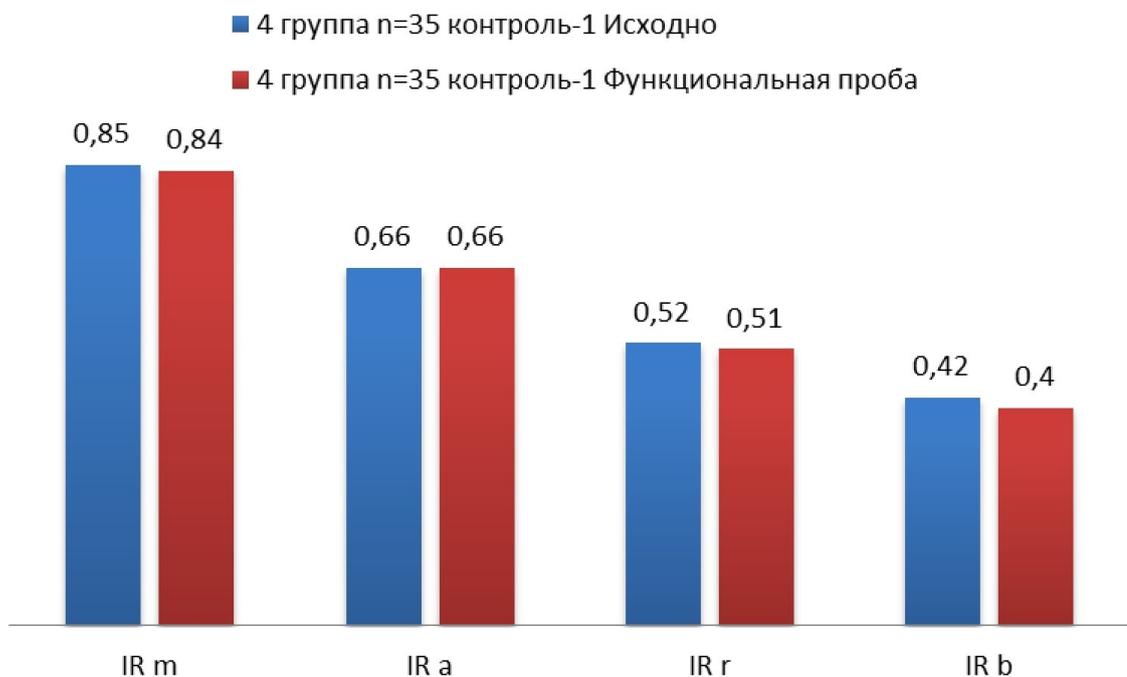
Перфузия миометрия зависит от нескольких параметров, наиболее важные из которых – перфузионное давление и резистентность сосудистого русла. Благодаря механизмам ауторегуляции маточная сосудистая сеть поддерживает перфузию миометрия и эндометрия в пределах очень узкого диапазона колебаний, независимо от физической нагрузки. У здоровых женщин наблюдаются лишь незначительные флуктуации миометриального перфузионного давления, изменяющегося циклически под воздействием гормональных стимулов в различные фазы менструально-овариального цикла (Арутюнян А. Ф. и др., 2013). Избыточный патологический ангиогенез при аденомиозе приводит к усилению резистентности внутриматочного кровотока (Тапильская Н.И. и др., 2015). Учитывая вышесказанное, мы предположили, что микрососуды в зоне миометрия при аденомиозе распространенных степеней уже задействовали свой вазодилататорный резерв и утратили возможность к открытию дополнительных артериовенозных шунтов, стимуляция (нагрузка) не приведёт к увеличению кровотока в той степени, в какой он будет увеличиваться в миометрии пациенток с ранними степенями аденомиоза, где, возможно, сохранился резерв миометриального кровотока. Эти различия составили патофизиологическую основу предложенной нами нагрузочной функциональной пробы для оптимизации ультразвуковой диагностики аденомиоза ранних степеней.

После измерения IR в маточных, аркуатных, радиальных и базальных артериях в горизонтальном положении пациентке предлагалось пять раз привести ноги, согнутые в коленных суставах, к груди, формируя угол в  $90^\circ$

градусов, после чего проводилось повторное измерение IR в бассейне маточных артерий (отношение разницы между максимальной систолической и конечной диастолической скоростью к максимальной систолической скорости кровотока) и оценивалась динамика показателей. Учитывая относительную простоту и приемлемую длительность измерений кровотока в основной маточной артерии, для практического применения мы разработали коэффициент нагрузочной пробы, вычисляемый как отношение разницы между исходным IR<sub>ma</sub> (индекс резистентности маточных артерий) и IR<sub>1ma</sub> (результат, полученный после проведения функциональной пробы) к исходному IR<sub>ma</sub>, умноженному на 10.

$$\text{КФП} = \frac{\text{IR}_{\text{ma}} - \text{IR}_{1\text{ma}}}{\text{IR}_{\text{ma}}} \times 10.$$

В группе 4 группе (контроль-1) при проведении пробы мы не обнаружили достоверных изменений IR, что свидетельствует о сбалансированности кровоснабжения матки (таблица 37, рисунок 19).



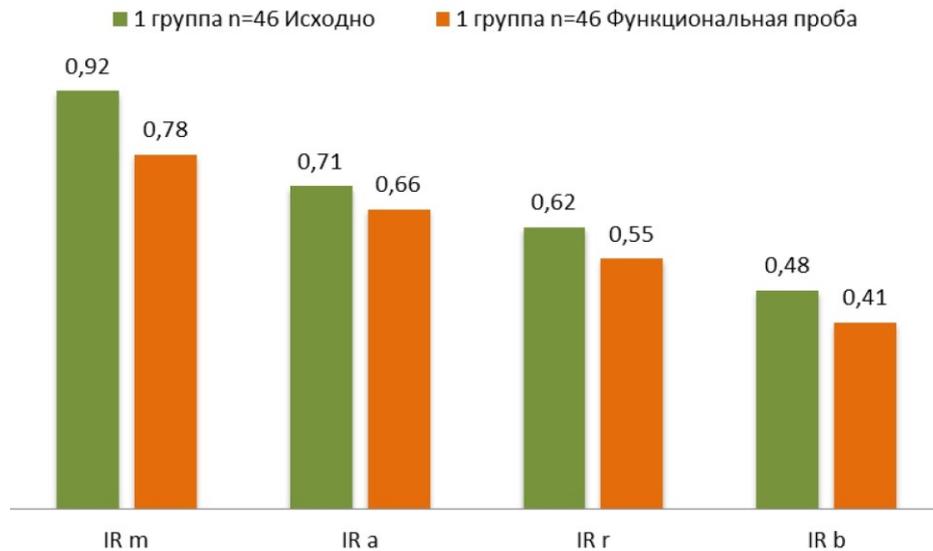
**Рисунок 19** – Динамика индекса резистентности (IR) на фоне проведения нагрузочной пробы в бассейне маточных артерий у здоровых женщин

**Таблица 37** – Изменения индекса резистентности в бассейне маточной артерии при проведении функциональной пробы у здоровых женщин и у пациенток с аденомиозом различных степеней

Показатели гемодинамики	4 группа n = 35 контроль-1		1 группа n = 46		2 группа n = 49		3 группа n = 47	
	Исходно	Функциональная проба	Исходно	Функциональная проба	Исходно	Функциональная проба	Исходно	Функциональная проба
IR med маточных артерии	0,85 ± 0,04	0,84 ± 0,01	0,92 ± 0,03	0,78 ± 0,02*	0,95 ± 0,6	0,87 ± 0,05**	0,98 ± 0,03	0,95 ± 0,04
IR med аркуатных артерий	0,66 ± 0,03	0,66 ± 0,01	0,71 ± 0,07	0,66 ± 0,06*	0,73 ± 0,03	0,69 ± 0,05	0,68 ± 0,06	0,64 ± 0,03
IR med радиальных артерии	0,52 ± 0,01	0,51 ± 0,01	0,62 ± 0,08	0,55 ± 0,02	0,63 ± 0,02	0,59 ± 0,03	0,6 ± 0,02	0,59 ± 0,05
IR med базальных артерии	0,42 ± 0,05	0,4 ± 0,01	0,48 ± 0,08	0,41 ± 0,03	0,45 ± 0,05	0,42 ± 0,05	0,58 ± 0,05	0,56 ± 0,03
КФП МА	0,12 ± 0,02		1,52 ± 0,07 <sup>^</sup>		0,84 ± 0,02 <sup>^</sup>		0,31 ± 0,06 <sup>^</sup>	

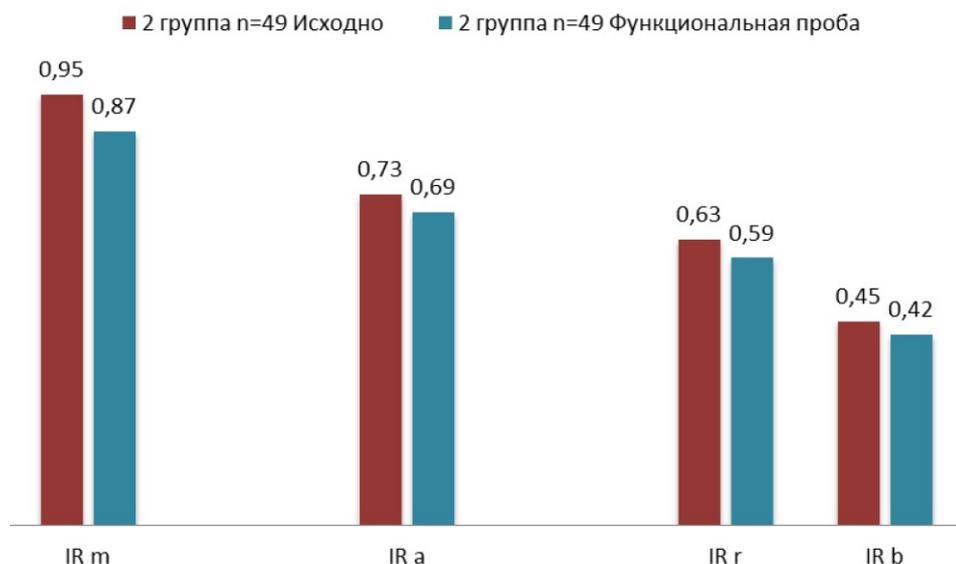
Примечание: \* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей после ФНП по сравнению со средними значениями аналогичных показателей до проведения ФНП в 1 группе; \*\* – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей после ФНП по сравнению со средними значениями аналогичных показателей до проведения ФНП во 2 группе; <sup>^</sup> – соответствует статистически значимому различию средних значений показателей КФП у пациенток с аденомиозом по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 4 группе (контроль-1).

В первой клинической группе у женщин с аденомиозом I степени мы выявили статистически значимое изменение IR в маточных и аркуатных артериях (IRm 0,92 ± 0,03 и IRa 0,71 ± 0,07 против IRm 0,78 ± 0,02 и IRa 0,66 ± 0,06 после проведения пробы, p < 0,03). В радиальных и базальных артериях также наблюдалась некоторая динамика, однако изменения были статистически не значимы (IRr 0,62 ± 0,08 и IRb 0,48 ± 0,08 против IRr 0,55 ± 0,02 и IRb 0,41 ± 0,03 после проведения пробы, p > 0,05) (рисунок 20)



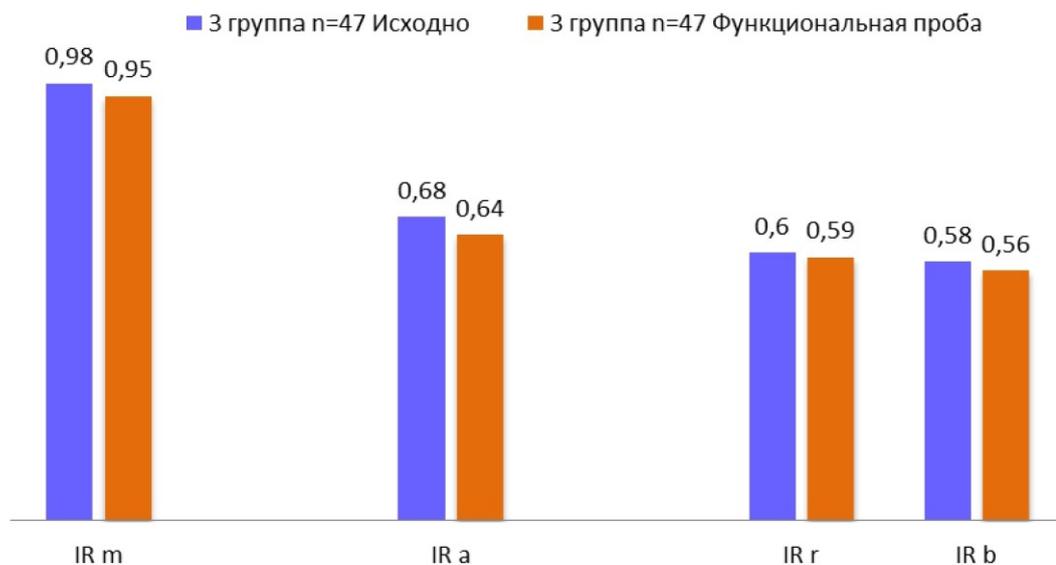
**Рисунок 20** – Динамика индекса резистентности (IR) на фоне проведения нагрузочной пробы в бассейне маточных артерий у пациенток с аденомиозом I степени

Во второй клинической группе статистически достоверные изменения IR наблюдались только в маточных артериях (IRm  $0,95 \pm 0,6$  против IRm  $0,87 \pm 0,05$  после проведения пробы,  $p < 0,05$ ) (рисунок 21; таблица 37), тогда как в аркуатных, радиальных и базальных артериях резистентность сосудов к кровотоку практически не изменялась (IRa  $0,73 \pm 0,03$ , IRr  $0,63 \pm 0,02$ , IRb  $0,45 \pm 0,05$  против IRa  $0,69 \pm 0,05$ , IRr  $0,59 \pm 0,03$ , IRb  $0,42 \pm 0,05$  после проведения пробы,  $p > 0,05$ ).



**Рисунок 21** – Динамика индекса резистентности (IR) на фоне проведения нагрузочной пробы в бассейне маточных артерий у пациенток с аденомиозом II степени

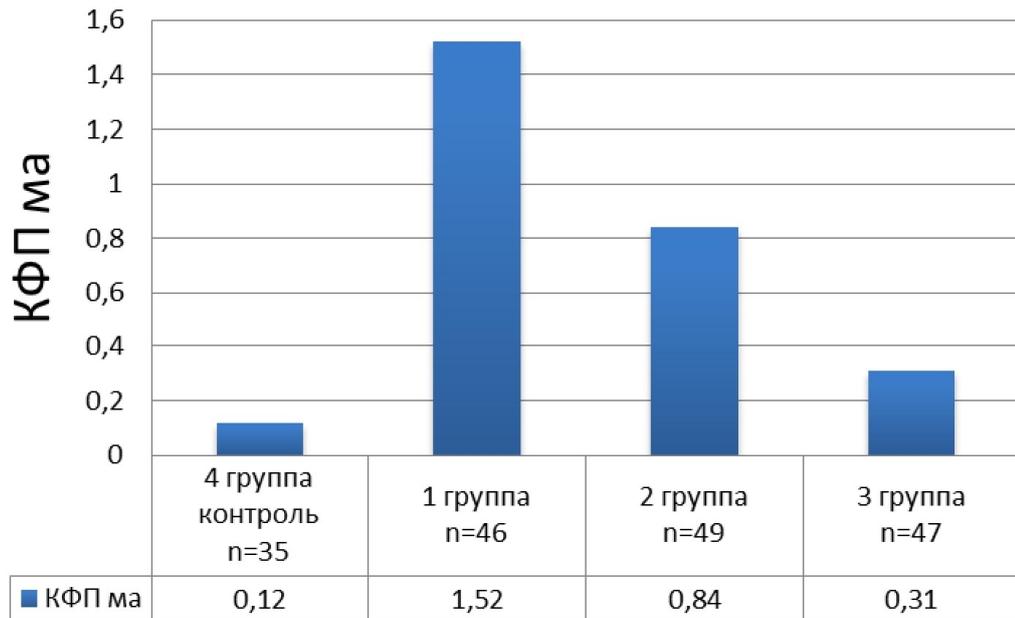
У пациенток 3 клинической группы с поражением миометрия на 2/3 и более при проведении функциональной нагрузочной пробы гемодинамика в бассейне маточных артерий практически не изменялась, оставаясь высокорезистентной на всем протяжении сосудистой сети (IRm  $0,98 \pm 0,03$ , IRa  $0,68 \pm 0,06$ , IRr  $0,6 \pm 0,02$ , IRb  $0,58 \pm 0,05$  против IRm  $0,95 \pm 0,04$ , IRa  $0,64 \pm 0,03$ , IRr  $0,59 \pm 0,05$ , IRb  $0,56 \pm 0,03$  после проведения пробы,  $p > 0,05$ )



**Рисунок 22** – Динамика индекса резистентности (IR) на фоне проведения нагрузочной пробы в бассейне маточных артерий у пациенток с аденомиозом III степени

Расчетный коэффициент нагрузочной пробы, вычисляемый по параметрам динамической доплерометрии в маточных артериях (рисунок 23), составил в 1 клинической группе  $1,52 \pm 0,07$ , во второй –  $0,84 \pm 0,22$ , в третьей –  $0,31 \pm 0,16$ , что статистически достоверно отличалось от значений данного показателя в 4 группе (контроль-1)  $0,12 \pm 0,02$ ,  $p < 0,05$ , при этом наиболее показательная статистически достоверная разница наблюдалась у пациенток с аденомиозом I степени (1 группа).

Таким образом, у пациенток с аденомиозом, даже I степени, наблюдается высокорезистентный кровоток в бассейне маточных артерий. При проведении функциональной нагрузочной пробы у женщин 4 группы (контроль-1) за счет умеренного дополнительного повышения давления во



**Рисунок 23** – Коэффициент функциональной нагрузочной пробы у здоровых женщин и у пациенток с аденомиозом разных степеней

внутриматочных сосудах отмечается статистически незначимое увеличение индекса резистентности в аркуатных, радиальных и базальных сосудах матки ( $p > 0,05$ ). В маточных артериях у здоровых женщин изменения индекса резистентности не наблюдалось, что в целом было расценено как отрицательная проба. У всех женщин с аденомиозом функциональная проба расценена как положительная, так как отмечалось статистически значимое парадоксальное снижение индекса резистентности в маточных, аркуатных и радиальных сосудах миометрия ( $p < 0,01$ ). Однако, практически до значений 4 группы (контроль-1) индекс резистентности в бассейне маточных артерий снижался только у пациенток 1 группы (аденомиоз I степени). Это отражалось на значениях КФП, и максимально высокий коэффициент нагрузочной пробы определялся у пациенток с аденомиозом I степени, что позволило определить данный коэффициент как один из характерных диагностических признаков аденомиоза I степени.

### **2.6.1. Корреляционная зависимость между коэффициентом функциональной нагрузочной пробы и морфометрическими и иммуногистохимическими параметрами тканей «переходной зоны» матки и цервикальной слизи**

Следующим этапом нашего исследования было выявление корреляционной связи между параметрами кровотока, полученными в результате проведения функциональной пробы и морфологическими и иммуногистохимическими особенностями тканей, локализующихся в «переходной зоне» матки у здоровых женщин и больных аденомиозом различной степени тяжести.

Так у пациенток 1 клинической группы с аденомиозом I степени (таблица 38) наблюдалась статистически значимая сильная положительная корреляционная связь между коэффициентом функциональной пробы в маточной артерии (КФП) и энтропией внутреннего миометрия, экспрессией коллагена IV типа, VEGF-A ЭП и VEGF-A в цервикальной слизи ( $r = 0,889$ ,  $r = 0,988$ ,  $r = 0,99$ ,  $r = 0,897$  соответственно,  $p < 0,05$ ). Сильная статистически значимая отрицательная связь отмечалась между КФП, СДЯ ЭП, экспрессией коллагена I типа и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,805$ ,  $r = -0,965$ ,  $r = -0,944$  соответственно,  $p < 0,03$ ).

Во 2 клинической группе (аденомиоз II степени) тенденции корреляционных связей сохранялись, несмотря на статистически незначимое уменьшение самого коэффициента функциональной пробы  $1,5 \pm 0,5$  (1 группа) против  $0,84 \pm 0,6$  (2 группа). Между КФП и Э ВМ, экспрессией коллагена IV типа, VEGF-A ЭП и VEGF-A в цервикальной слизи наблюдалась статистически значимая сильная положительная корреляционная связь с некоторым снижением количественных значений коэффициента корреляции по отношению к коллагену IV типа ( $r = 0,94$ ,  $r = 0,74$ ,  $r = 0,80$ ,  $r = 0,89$  соответственно,  $p < 0,05$ ). Сильная статистически значимая отрицательная связь при аденомиозе II степени сохранялась между

КФП и СДЯ ЭП, экспрессией коллагена I типа и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,883$ ,  $r = -0,862$ ,  $r = -0,924$  соответственно,  $p < 0,03$ ).

**Таблица 38** – Коэффициент парной корреляции между коэффициентом функциональной пробы в маточных артериях, энтропией внутреннего миометрия, средним диаметром ядер эндометрия «переходной зоны» (ЭП), величиной экспрессии сократительных белков ( $\alpha$ -SMA) и соединительнотканых компонентов (коллаген I и IV типов), а также количественными характеристиками факторов, отражающих интенсивность ангиогенеза (VEGF-A) в ЭП и цервикальной слизи у обследуемых пациенток с диффузным аденомиозом разных степеней

КФП, коэффициент корреляции	1 группа n = 46	2 группа n = 49	3 группа n = 47
Энтропия внутреннего миометрия	0,919	0,653	0,479
Средний диаметр ядер эндометрия «переходной зоны»	-0,836	-0,647	-0,545
Коллаген I типа	-0,892	-0,665	-0,525
Коллаген IV типа	0,936	0,668	0,546
A-SMA	-0,914	-0,654	-0,578
ПС VEGF-A ЭП	0,936	0,648	0,578
VEGF-A ЦС	0,887	0,611	0,534

Характерным признаком углубления дезорганизации тканевых структур «переходной зоны» при III степени аденомиоза (3 группа) явилось снижение корреляционных взаимосвязей между соотносимыми параметрами. Помимо статистически значимого уменьшения самого КФП  $0,31 \pm 0,1$  (3 группа) против  $1,5 \pm 0,5$  (1 группа) и  $0,84 \pm 0,6$  (2 группа) наблюдалась положительная средняя статистически значимая корреляционная связь между КФП и Э ВМ, экспрессией коллагена IV типа ( $r = 0,57$ ,  $r = 0,54$  соответственно,  $p < 0,03$ ). Средняя статистически значимая отрицательная связь при аденомиозе III степени (3 группа) отмечалась между КФП и СДЯ ЭП, экспрессией коллагена I типа и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,3$ ,  $r = -0,58$ ,  $r = -0,55$  соответственно,  $p < 0,03$ ).

При этом между КФП и VEGF ЭП и VEGF-A ЦС сохранялась сильная положительная статистически значимая корреляционная связь ( $r = 0,85$ ,  $r = 0,83$  соответственно,  $p < 0,05$ ).

При проведении корреляционного анализа между коэффициентом функциональной пробы в системе маточных артерий (КФП) и параметрами, полученными в результате морфо- и иммуногистохимического анализа миометрия и эндометрия «переходной зоны» матки у здоровых женщин и больных аденомиозом различной степени тяжести, мы выявили, что сильная корреляционная статистически значимая связь имеется только при аденомиозе I степени.

Так, между КФП и энтропией внутреннего миометрия, экспрессией коллагена IV типа, VEGF-A ЭП и VEGF-A цервикальной слизи коэффициенты связи были положительны и соответственно равны ( $r = 0,919$ ,  $r = 0,96$ ,  $r = 0,93$ ,  $r = 0,88$ ,  $p < 0,05$ ). Сильная статистически значимая отрицательная связь отмечалась между КФП МА, СДЯ ЭП, экспрессией коллагена I типа и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,835$ ,  $r = -0,89$ ,  $r = -0,91$  соответственно,  $p < 0,03$ ).

У пациентов 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);  $r = 0,57$  (3 группа) и  $r = 0,66$  (2 группа);  $r = 0,54$  (3 группа) соответственно,  $p < 0,03$ ). Средняя статистически значимая отрицательная связь при аденомиозе II и III степени (2 и 3 группа) отмечалась между КФП и СДЯ ЭП, экспрессией коллагена I типа и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,64$  (2 группа) и  $r = -0,54$  (3 группа),  $r = -0,66$  (2 группа) и  $r = -0,52$  (3 группа),  $r = -0,65$  (2 группа) и  $r = -0,57$  (3 группа) соответственно,  $p < 0,05$ ). Между КФП и VEGF-A ЭП и VEGF-A ЦС у пациентов 2 и 3 групп выявлена средняя положительная статистически значимая корреляционная связь ( $r = 0,65$  (2 группа);  $r = 0,57$  (3 группа);  $r = 0,61$  (2 группа);  $r = 0,53$  (3 группа)).

Таким образом, из проведенного корреляционного анализа следует, что на начальном этапе формирования аденомиоза, несмотря на усиленные пролиферативные процессы в области «переходной зоны», накопление

избыточного количества аморфного вещества и активный неоангиогенез еще сохраняют высокие резервные резистивные возможности кровотока. В ответ на гемодинамическую нагрузку происходит уменьшение сопротивления в микрососудистом русле, возможно, за счет открытия нефункционирующих капилляров, что приводит к нормализации кровотока в зоне маточных артерий, выражающегося высоким КФП. С другой стороны, при активном развитии процесса с углублением степени аденомиоза гиперпродукция коллагена как в миометрии, так и в аномальных сосудах на фоне активной инвазии эндометрия, а также гипертрофия гладкомышечной ткани миометрия «переходной зоны» обуславливают ограничение эластичности сосудистой стенки. При этом на фоне усиливающегося исходного нарушения доплерометрических параметров кровотока функциональная проба в системе маточных артерий становится менее показательной.

\* \* \*

В целом, представленные выше данные комплексного клинико-морфологического исследования позволили разработать метод ранней неинвазивной диагностики аденомиоза, заключающийся в проведении ультразвукового исследования (с визуализацией «переходной зоны» и доплерометрией маточных сосудов с вычислением значения КФП) и определении сосудистого эндотелиального фактора роста в цервикальной слизи.

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.

## **2.7. Эффективность нового метода неинвазивной диагностики аденомиоза ранних степеней**

С целью оценки информативности разработанного метода выявления ранних стадий аденомиоза I степени были обследованы 87 пациенток

(6 группа), находившихся на амбулаторном лечении и диспансерном наблюдении в амбулаторно-поликлиническом отделении БАГК ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и гинекологическом отделении МБУЗ Роддом г. Краснодар по поводу бесплодия. Возраст пациенток составил  $29 \pm 4,5$ . Помимо бесплодия пациенток основной группы 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 № 572 н, дополнительно им было проведено УЗИ с визуализацией «переходной зоны», доплерометрией маточной артерии с проведением функциональной пробы, исследование VEGF-A в цервикальной слизи и шеститочечная биопсия миометрия при проведении гистероскопии с морфологическим исследованием биоптатов. При гистологическом исследовании полученных биоптатов миометрия диагноз «аденомиоз» выставляли на основании визуализации эндометриоидных гетеротопий.

У 46 из 87 пациенток, по данным ультразвукового исследования (на 5–7 день цикла), была обнаружена «переходная зона» до  $7,5 \pm 0,91$  мм. При проведении функциональной пробы у этих пациенток исходно были выявлены повышенные показатели резистентности кровотока в маточной артерии, расчётный коэффициент составил  $1,7 \pm 0,43$ , уровень VEGF-A в цервикальной слизи соответствовал  $113,4 \pm 9,34$  пг/мл. Из 41 пациентки «переходная» зона не визуализировалась у 24, или составила  $3,5 \pm 0,7$  мм у 17 пациенток, КПФ составил  $0,7 \pm 0,3 - 1,7 \pm 0,43$ , а показатель VEGF-A в цервикальной слизи соответствовал  $54,6 \pm 7,76$  пг/мл.

У 2-х из 46-ти пациенток с положительными результатами предложенного нами метода неинвазивной диагностики аденомиоза I степени в пунктате не были обнаружены эндометриоидные очаги. Данные случаи рассматривали как ложноположительный результат.

У 4-х из 41-ой пациентки, которым по параметрам предложенного нами метода диагноз аденомиоза I степени не выставлялся, в толще миометрия

были выявлены эктопические элементы эндометрия, данные результаты были расценены как ложноотрицательные.

Результат проведенных расчетов показал, что чувствительность метода неинвазивной диагностики аденомиоза I степени составила 91,67 %, специфичность – 94,87 %. Чувствительность и специфичность метода шеститочечной биопсии составила 97,8 % и 98,3 % соответственно (таблица 39).

**Таблица 39** – Сравнительная информативность метода неинвазивной диагностики ранних степеней аденомиоза и шеститочечной биопсии миометрия

	Разработанный метод неинвазивной диагностики	Шеститочечная биопсия миометрия
Чувствительность метода, %	91,67	97,8
Специфичность метода, %	94,87	98,3

Полученные данные свидетельствуют о достаточной эффективности предложенного метода ранней неинвазивной диагностики аденомиоза, так как его информативность достоверно не отличалась от информативности метода шеститочечной биопсии миометрия. При этом предложенный нами метод предпочтителен в использовании в связи с неинвазивностью.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аденомиоз занимает одно из ведущих мест в структуре гинекологической заболеваемости (Адамян Л.В. и др., 2013), представляя одну из наиболее дискуссионных проблем современной гинекологии. Частота выявления аденомиоза варьирует весьма широко – от 7,4 % до 53 % (Адамян Л.В. и др., 2013). При этом аденомиоз чаще верифицируется уже на поздних стадиях, когда консервативное лечение этого заболевания представляет значительные трудности. Такой разброс показателей частоты встречаемости и выявляемости связан с отсутствием четких критериев неинвазивной диагностики аденомиоза ранних степеней. Аденомиоз следует рассматривать как хроническую патологию, развивающуюся длительно, в течение всего репродуктивного периода жизни женщины и интенсивно прогрессирующую в период перименопаузы, что требует своевременного выявления заболевания для назначения плановой и непрерывной терапии. При отсутствии лечения клиническая картина аденомиоза постепенно усугубляется, развивается стойкое нарушение менструальной функции (менометроррагия и/или дисменорея), формируется синдром хронической тазовой боли, манифестируются нарушения репродуктивной функции (бесплодие, невынашивание беременности), избыточная потеря крови формирует тяжелые формы железодефицитной анемии, ухудшается качество жизни.

В качестве скринингового метода диагностики аденомиоза широко используется трансвагинальная эхография (ТВЭ) в связи с неинвазивностью, высокой информативностью, доступностью и низкой стоимостью (Brosens J., et al., 2003; Dueholm M., 2006; Naftalin J. et al., 2012; Sakhel K. et al., 2012; Exacoustos C. et al., 2014). Однако в литературных данных присутствует информация о вариабельности чувствительности и специфичности метода в диапазоне 53–89 % и 50–99 % соответственно (Mehasseb M.K. et al., 2011). Считают, что наиболее характерными ультразвуковыми признаками

аденомиоза первой степени являются «кисты в миометрии», «отсутствие визуализации М-эха»; «полосы, перпендикулярные фронту сканирования», «кисты в субэндометрии», «неоднородная структура субэндометрия», которые имеют недостаточно высокую специфичность «Классические» эхографические признаки («шаровидная форма тела матки»; «асимметрия в толщине стенок матки»; «неоднородная структура миометрия»; «повышение эхогенности субэндометрия»; «нечеткость, неровность контуров М-эхо») не являются специфичными для аденомиоза, тем более ранних степеней, а только указывают на наличие патологии миометрия (Поморцев А.В. и др., 2015). В литературе последних лет в связи с широким внедрением в медицинскую практику цветовой доплерографии и доплерометрии появились немногочисленные работы, посвященные изучению кровотока в бассейне маточных сосудов при аденомиозе. Однако оценка показателей сосудистого кровотока в них неоднозначна. Можно полагать, что комплексное исследование параметров, характеризующих кровотоки в бассейне маточных артерий, позволит дополнить представления о патофизиологических процессах в миометрии и сосудистом русле матки при ранних степенях аденомиоза и в последующем улучшить качество ультразвуковой диагностики.

Гистероскопия активно используется как верификационный метод при аденомиозе, позволяет детально рассмотреть внутреннюю поверхность матки, визуализировать эндометриоидные ходы, изменение рельефа стенки матки в виде складок, крипт, хребтов и очаговых выбуханий. Точность данного метода колеблется от 32,2 % до 91,4 %. Однако гистероскопия является инвазивным методом и при ранних степенях аденомиоза малочувствительна в связи с высоким процентом ложноположительных и ложноотрицательных результатов (Ищенко А.И. и др., 2012).

Известно, что аденомиоз – это дихотомическое заболевание, характеризующееся первичным нарушением архитектуры и функции

внутреннего миометрия, с вторичным подключением эффекта инфильтрации эндометриальных компонентов в миометрий. Одной из причин аденомиоза исследователи считают исходную или приобретенную дефектность или отсутствие условной базальной мембраны между эндометрием и миометрием, что позволяет эндометрию врастать в зону миометрия (Kuligowska E. et al., 2005). Поэтому большой интерес представляет изучение изменений и нарушений в «переходной зоне» между эндо- и миометрием, имеющей структурные и функциональные различия по сравнению с остальным миометрием. В своем исследовании С. Reinhold et al. (1999) пришли к выводу, что аденомиоз может быть с высокой степенью точности диагностирован при МРТ, когда выявляется «переходная зона» толщиной 12 мм или более. По данным дальнейших исследований (Agostincho L.I.R. et al., 2016), доказано, что МРТ картина аденомиоза характеризуется толщиной «переходной зоны» 8–12 мм и отображает локальную гиперплазию гладкомышечных клеток, окружающих эндометриальные ходы. При этом считается, что верификация аденомиоза требует привлечения дополнительных критериев. Так, по данным Л.В. Адамян и др. (2013), диагностическая информативность МРТ для аденомиоза в целом составляет 42–64 %. Кроме того, толщина «переходной зоны» 8–12 мм соответствует поражению практически половины наружного миометрия, что не позволяет использовать этот критерий для ранней диагностики аденомиоза.

В связи с вышесказанным, 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 ультразвуковой визуализации «переходной зоны» и особенностях кровоснабжения матки даже при ранних степенях аденомиоза. Проведение комплексных

исследований дисфункций, наблюдаемых в «переходной зоне», позволит уточнить патогенетические аспекты заболевания и открывает перспективу оптимизации ранней неинвазивной диагностики аденомиоза.

На первом этапе нашего исследования для оценки информативности стандартно применяющихся методов выявления аденомиоза ретроспективно проанализированы 456 карт больных, подвергшихся гистерэктомии, которым на основании клинико-инструментального и/или гистологического исследования был выставлен диффузный аденомиоз различных степеней. Комплекс исследований, уточняющих диагноз по данным истории болезни, включал ТВУЗИ, гистероскопию с проведением отдельного диагностического выскабливания и последующим гистологическим исследованием соскобов, а также гистологическое исследование материала, полученного в ходе операции. Проведенный анализ показал, что у 334 из 456 пациенток аденомиоз был выявлен или подтвержден гистологически. Проведя анализ чувствительности и специфичности методики стандартного УЗИ и гистероскопии, мы получили следующие результаты:

1. Чувствительность ТВУЗИ для аденомиоза I степени составила 23,3 %, для аденомиоза II степени – 48,7 %, для аденомиоза III степени – 96,4 %.

2. Специфичность данной методики составила для аденомиоза I степени 39,3 %, для аденомиоза II степени – 63,4 %, для аденомиоза III степени – 97,3 %.

При анализе результатов верифицирующей возможности гистероскопии выявлено, что чувствительность данного метода составила для аденомиоза I степени 42,8 %, для аденомиоза II степени – 66,4 %, для аденомиоза III степени – 96,4 %. Специфичность гистероскопии составила для аденомиоза I степени 43,1 %, для аденомиоза II степени – 59,5 %, для аденомиоза III степени – 97,5 %. Из представленных данных следует, что чувствительность и специфичность гистероскопии далеки от параметров «золотого стандарта» при диагностике ранних (I и II) степеней аденомиоза.

Стандартное УЗИ, включающее многочисленные качественные ультразвуковые признаки, также не обладает достаточной чувствительностью и специфичностью для диагностики аденомиоза ранних степеней. Вышесказанное подтверждает литературные данные об отсутствии на сегодняшний момент методик эффективной ранней верификации аденомиоза на дооперационном этапе.

На втором (проспективном) этапе исследования мы провели клинко-инструментальное обследование 142 пациенток с гистологически подтвержденным аденомиозом различных степеней, а также изучили морфологические, морфометрические и иммуногистохимические особенности тканей матки этих больных. Контрольную группу составили 35 здоровых женщин и аутопсийный материал от условно здоровых женщин (25 случаев).

В объем инструментальных исследований входила ультразвуковая диагностика с проведением доплерометрического исследования кровотока в бассейне маточных артерий и выполнением разработанной нами функциональной нагрузочной пробы, а также гистероскопия с диагностическим выскабливанием матки и шеститочечной биопсией миометрия. При наличии у пациенток показаний к операции производилась гистерэктомия.

Гистологическому исследованию с определением параметров обуславливающих пролиферативный потенциал, функции коллагенообразования и неоангиогенеза подвергались:

– **зона эутопического эндометрия (ЭЭ)** – функциональный слой и часть базального слоя эндометрия;

– **«переходная зона»:**

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

б) миометриальная порция (ВМ) – это внутренние гладкомышечные клетки прилегающие к базальному слою эндометрия;

– **наружный миометрий (НМ)** – силовой миометрий матки, гладкомышечные клетки с элементами окружающей их цитогенной стромы и внеклеточным матриксом.

Всему обследуемому контингенту было проведено иммуногистохимическое исследование цервикальной слизи с количественным определением проангиогенных и антиангиогенных маркеров.

В зависимости от степени распространения аденомиоза пациентки были разделены на три клинические группы: 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) (n = 35) – условно здоровые женщины и 5 группа (контроль-2) – аутопсийный материал от условно здоровых женщин (25 случаев).

Как показали наши исследования, 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), по нашим данным, характеризовался наличием дисменореи легкой или средней степени (73,9 %), кровомазания до и после менструации (76 %), бесплодием (43,4 %), что подтверждает данные литературы о малосимптомности и неспецифичности клинической картины ранних степеней заболевания.

На первом месте среди соматических заболеваний у пациенток всех клинических групп преобладали железодефицитные анемии (109 пациенток – 76,7 %). Обращало на себя внимание то, что показатели соматической заболеваемости (железодефицитная анемия, гепатохолециститы, эндокринная патология) у пациенток 1 группы не имели статистически значимого отличия данных от 4 группы (контроль-1), тогда как показатели

пациенток 2 и 3 групп имели статистически значимую разницу как по сравнению с данными как 4 группы, так и 1 группы. Возможно, это связано с более молодым возрастом пациенток 1 группы.

В гинекологическом анамнезе у всех больных аденомиозом отмечена высокая частота хронических воспалительных заболеваний женских половых органов (хронический метроэндометрит и/или сальпингоофорит) – 135 пациенток (95 %).

Проведенные исследования гормонального профиля у пациенток с аденомиозом всех клинических групп свидетельствуют о преобладании дисфункции регуляторного механизма репродуктивной функции, затрагивающей как центральное, так и периферическое звенья. Общими гормональными изменениями являлось изменение базальных уровней гонадотропинов, относительная гиперэстрогемия, снижение уровня прогестерона во II фазе менструального цикла, 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 диагностическим 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 ( $M_0 = 5$  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 заболевания, определялось статистически значимое увеличение сопротивления кровотоку в бассейне маточных артерий по сравнению с таковым у здоровых женщин, что свидетельствует об уменьшении у страдающих аденомиозом интенсивности артериального кровообращения в матке. При этом у пациенток 1 группы достоверные различия IR наблюдались в маточных артериях ( $IR_m 0,92 \pm 0,12$  против  $IR_m 0,85 \pm 0,12$  в 4 группе (контроль-1),  $p < 0,05$ ), у пациенток со второй степенью аденомиоза (2 группа) – в маточных и аркуатных ( $IR_m 0,95 \pm 0,15$ ,  $IR_a 0,73 \pm 0,01$  против  $IR_m 0,85 \pm 0,12$ ,  $IR_a 0,66 \pm 0,03$  в 4 группе,  $p < 0,05$ ). 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  $IR_m 0,85 \pm 0,12$ ,  $IR_a 0,66 \pm 0,03$ ,  $IR_r 0,52 \pm 0,01$ ,  $IR_b 0,42 \pm 0,05$  в 4 группе,  $p < 0,05$  для всех показателей).

Проведенный морфологический, морфометрический и иммуногистохимический анализ тканей матки аутопсийного материала условно здоровых женщин (группа 5 – контроль-2) в области «переходной зоны» сравнительно с наружным миометрием и эутопическим эндометрием показал тканевую гетерогенность «переходной зоны», где каждый из элементов влияет на структурную организацию. Динамичность статуса эндометриальной порции «переходной зоны» по отношению к эутопическому эндометрию подтверждалась лишь увеличением показателя энтропии. Миометрий, входящий в «переходную зону» по морфологическим чертам, соответствовал наружному, за исключением более высокого ядерно-цитоплазматического соотношения и более высокой оптической плотности. Статистически значимые различия для энтропии также имели место в зоне внутреннего миометрия ( $p < 0,001$ ), который в зоне наружного миометрия составил  $0,98 \pm 0,22$ , тогда как на участке «переходной зоны» он оказался в 2 раза выше. Это позволяет утверждать, что «переходная зона», нетипируемая

в условиях УЗИ у здоровых женщин, является функциональной зоной, осуществляющей «барьерную функцию».

Проведенное морфологическое и морфометрическое исследование тканей матки при аденомиозе разных степеней (1, 2 и 3 группы) свидетельствует о том, что эутопический эндометрий и эндометрий «переходной зоны» характеризуются статистически значимым повышением коэффициента эллиптичности и нарастанием оптической плотности ядер, при котором она оказывается выше уровня контроля-2 (5 группа), что обуславливает повышенную способность эндометрия к пролиферации и, следовательно, к инвазивной активности. 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 «переходной зоны» обнаруживают эффект плеоморфизма, но средний диаметр ядер оказывается ниже уровня контроля-2. 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 внутреннего миометрия изменяется соотношение 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.

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

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 в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов даже при аденомиозе первой степени (1 группа). Как известно, при адекватной пролиферативной активности эндометрия ангиогенез протекает упорядочено 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 внутреннего миометрия 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, показал, что избыточная пролиферативная активность тканей, коллагенообразование и неоангиогенез имеют статистически значимую сильную положительную корреляционную связь во всех клинических группах больных аденомиозом.

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 представленного выше корреляционного анализа, мы предположили, что микрососуды в зоне миометрия при распространенном аденомиозе прогрессивно задействовали свой вазодилататорный резерв и утратили возможность к открытию дополнительных артериовенозных шунтов. Поэтому стимуляция (нагрузка) маточных сосудов 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 миометрального кровотока. Эти различия составляют патофизиологическую основу предложенной нами нагрузочной функциональной пробы для оптимизации ранней ультразвуковой диагностики аденомиоза.

Проба заключалась в следующем: после измерения IR в маточных артериях в горизонтальном положении пациентке предлагалось пять раз привести ноги, согнутые в коленных суставах к груди, формируя угол в 90<sup>0</sup> градусов, после чего проводилось повторное измерение IR в бассейне маточных артерий (отношение разницы между максимальной систолической и конечной диастолической скоростью к максимальной систолической скорости кровотока). Вычисляли коэффициент функциональной пробы (КФП) как отношение разницы между исходным IR<sub>ма</sub> и IR<sub>1ма</sub> (результат, полученный после проведения функциональной пробы) к исходному IR<sub>ма</sub>, умноженному на 10.

$$\text{КФП} = \frac{\text{IR}_{\text{ма}} - \text{IR}_{1\text{ма}}}{\text{IR}_{\text{ма}}} \times 10.$$

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 данный коэффициент 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 шеечная слизь 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 ( $p < 0,05$ ). Увеличение активности ангиогенного фактора в цервикальной слизи указывает на изменение аутокринной регуляции ангиогенеза в эндометрии уже на ранних стадиях аденомиоза и, как следствие, на усиление пролиферативной активности сосудов. Это позволяет считать концентрацию VEGF-A в цервикальной слизи одним 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 внутреннего миометрия, экспрессией коллагена IV типа, VEGF-A ЭП и VEGF-A цервикальной слизи коэффициенты связи были положительны и соответственно равны ( $r = 0,919$ ,  $r = 0,96$ ,  $r = 0,93$ ,  $r = 0,88$ ) ( $p < 0,05$ ). Сильная статистически значимая отрицательная связь отмечалась между КФП, СДЯ ЭП, экспрессией коллагена I типа и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,835$ ,  $r = -0,89$ ,  $r = -0,91$  соответственно,  $p < 0,03$ ).

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);  $r = 0,57$  (3 группа) и  $r = 0,66$  (2 группа);  $r = 0,54$  (3 группа) соответственно,  $p < 0,03$ ). Средняя статистически значимая отрицательная связь при аденомиозе II и III степени (2 и 3 группа) отмечалась между КФП и СДЯ ЭП, экспрессией коллагена I типа и  $\alpha$ -SMA ( $r = -0,64$  (2 группа) и  $r = -0,54$  (3 группа);  $r = -0,66$  (2 группа) и  $r = -0,52$  (3 группа);  $r = -0,65$  (2 группа) и  $r = -0,57$  (3 группа) соответственно,  $p < 0,05$ ). Между КФП и VEGF-A ЭП и VEGF-A ЦС у пациентов 2 и 3 групп выявлена средняя положительная статистически значимая корреляционная связь ( $r = 0,65$  (2 группа);  $r = 0,57$  (3 группа) и  $r = 0,61$  (2 группа);  $r = 0,53$  (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 коэффициентом функциональной пробы. Напротив, при развитии процесса с углублением стадии аденомиоза гиперпродукция коллагена 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 доплерометрических параметров кровотока функциональная проба становится менее показательной.

Проведенные исследования позволили разработать метод ранней неинвазивной диагностики аденомиоза, включающий совокупность ультразвуковых и иммуногистохимических параметров. При ультразвуковой

визуализации толщины «переходной зоны» 5 мм и более при помощи ЦДК проводится доплерометрия сосудистого кровотока в маточных артериях с функциональной нагрузочной пробой и вычисляется коэффициент функциональной пробы. Кроме того, у пациенток с I степенью аденомиоза определяют сосудистый эндотелиальный фактор роста в цервикальной слизи.

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 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», доплерометрией маточной артерии с проведением функциональной пробы, исследование VEGF-A в цервикальной слизи 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 миометрия. Эффективность предложенного нами метода ранней неинвазивной диагностики аденомиоза заключается в применении совокупности показателей, отражающих основные патогенетические моменты развития данной патологии.

## 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 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 пролиферации. 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.

## 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 гистероскопию 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 УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

**АК** – аморфный компонент

**ВК** – волокнистый компонент

**ВМ** – внутренний миометрий (миометрий «переходной зоны»)

**ГМК** – гладкомышечные клетки

**ДНК** – дезоксирибонуклеиновая кислота

**Е-кадгерин** – эпителиальный кадгерин

**ЖДА** – железодефицитная анемия

**ЖКТ** – желудочно-кишечный тракт

**ИЛ** – интерлейкин

**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

**ПЦР** – полимеразная цепная реакция

**СДЯ** – средний диаметр ядер

**ТВУЗИ** – трансвагинальное ультразвуковое исследование

**ТВЭ** – трансвагинальная эхография

**УЗИ** – ультразвуковое исследование

**ФСГ** – фолликулостимулирующий гормон

**ФТЛ** – физиотерапевтическое лечение

**ЦДК** – цветное доплеровское картирование

**ЦС** – цервикальная слизь

**Э** – показатель энтропии

- ЭВМ** – электронно-вычислительная машина
- ЭЛ** – эллиптичность
- ЭП** – эндометрий «переходной зоны»
- ЭЭ** – эутопический эндометрий
- bax** – «проапоптотический» онкоген
- COX 2** – циклооксигеназа
- ED** – конечная диастолическая скорость
- IR** – индекс резистентности
- IR<sub>1ma</sub>** – индекс резистентности маточных артерий после проведения функциональной пробы
- IR<sub>ma</sub>** – индекс резистентности маточных артерий
- JZ** – junctional zone – «переходная зона»
- Ki-67** – маркер пролиферации
- PI** – пульсовой индекс
- PS** – пиковая систолическая скорость
- r** – коэффициент корреляции
- R** – систоло-диастолическое отношение
- SVGA** – (Super Video Graphics Array) – общее название видеоадаптеров
- TNF** – фактор некроза опухоли
- VEGF A** – сосудистый эндотелиальный фактор роста
- V<sub>tamx</sub>** – средняя линейная скорость потока крови
- $\alpha$ -SMA** – гладкомышечный актин

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М. : Медицина, 1990.
2. Адамян Л.В. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева, И.А. Аполохина, В.Ф. Беженарь, М.А. Геворкян, А.И. Гус, В.Н. Демидов, Е.А. Калинина, С.А. Леваков, Л.А. Марченко, А.А. Попов, М.М. Сонова, А.З. Хашукоева, Г.Е. Чернуха, Е.Л. Яроцкая –М., 2013. – С. 65.
3. Адамян Л.В. Эндометриозы : Руководство для врачей / Л.В.Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н Андреева. – М. : Медицина, 2006. – 360 с.
4. Адамян Л.В. Эндометриозы / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков. – М., 1998. – С. 317.
5. Алдангарова Г.А. Оптимизация диагностики и лечения эндометриоза матки / Г.А. Алдангарова, А.А. Сулейманова // Вестник хирургии Казахстана. – 2016. – № 3. – С. 5–10.
6. Андреева Е.Н. Клинический профиль российских пациенток с диагнозом «генитальный эндометриоз», получающих лечение агонистом гонадотропного рилизинг-гормона. Результаты российского открытого многоцентрового наблюдательного исследования / А.Н. Андреева, Е.Л. Яроцкая, Л.В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2011. – № 2. – С. 50–62.
7. Анфигенова Е.А. Клинико-морфологическая и иммуногистохимическая характеристика аденомиоза : Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Минск, 2017.
8. Арутюнян А.Ф. Новые аспекты патогенетически обоснованной терапии аденомиоза в сочетании с миомой матки / А.Ф. Арутюнян, С.Н. Гайдуков // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2015. – № 6.
9. Арутюнян А.Ф. Особенности органного и внутриопухолевого кровотока при миоме матке : Автореф. дис. канд. мед. наук. – СПб., 2002. – С. 33–42.

10. Арутюнян А.Ф. Современные аспекты патогенетической терапии аденомиоза / А.Ф. Арутюнян, С.Н. Гайдуков, В.Н. Кустаров // Педиатр. – 2016. – № 7(3). – С. 92–98.

11. Арутюнян А.Ф. Состояние органного кровотока у пациенток при аденомиозе / А.Ф. Арутюнян, С.Н. Гайдуков, Е.В. Костюшов // Педиатр. – 2013. – Т. 4. – № 2. – С. 28–32.

12. Баксаков В.П. Эндометриоидная болезнь / В.П. Баксаков, Ю.В. Цвелев, Е.Ф. Кира. – СПб., 2002. – 440 с.

13. Барто Р.А. 2017. – URL : <http://barto-clinic.ru/page/page94.html>

14. Ваганов Е.Ф. Современные методы лечения аденомиоза / Е.Ф. Ваганов // Акушерства и женских болезней. – 2011. – С. 80–88.

15. Гаврилова Т.Ю. Аденомиоз: патогенез, диагностика, лечение, методы реабилитации : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М, 2007.

16. Гаврилова Т.Ю. Ангиогенез и ангиогенные факторы роста в патогенезе аденомиоза / Т.Ю. Гаврилова, Л.В. Адамян, В.Ш. Гурджиев // Журнал акушерства и женских болезней (спецвыпуск). – 2006. – С. 56–57.

17. Гайдуков С.Н. Значимость эхографии и доплерографии в диагностике аденомиоза / С.Н. Гайдуков, А.Ф. Арутюнян, Е.В. Костюшов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4.

18. Гайдуков С.Н. Особенности иммунологического статуса у пациенток с аденомиозом журнал / С.Н. Гайдуков, А.Ф. Арутюнян, Е.В. Костюшов // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – № 18 (4). – С. 6–12.

19. Гайдуков С.Н. Особенности иммунологического статуса у пациенток с аденомиозом / С.Н. Гайдуков, А.Ф. Арутюнян, Е.В. Костюшов // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – № 18(4). – С. 6–12.

20. Гигани О.О. Аллельные формы гена бета-цепи интегрин как фактор генетической предрасположенности к некоторым гинекологическим заболеваниям / О.О. Гигани, Н.И. Буянова, С.Л. Соколова, А.В. Иткес,

Э.Х. Фахрутдинова, О.Д. Лобанова, Н.Ю. Григорьева, В.Е. Радзинский, Т.Е. Самойлова, В.П. Сметник // Вестник Российского университета дружбы народов (Вестник РУДН). Серия: Медицина. – 2003. – № 5(24). – С. 23–28.

21. Горшкова О.Н. Современные концепции патогенеза глубокого инфилтративного эндометриоза / О.Н. Горшкова, В.Д. Чупрынин, Е.А. Коган, М.В. Мельников, Г.Н. Хабас, А.М. Хачатрян, Е.Г. Хилькевич // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 7.

22. Давыдов А.И. Аденомиоз: новый взгляд на старую проблему / А. И. Давыдов, В.М. Пашков, М.Н. Шахламова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии : научно-практический журнал. – 2016. – Т. 15. – № 2. – С. 59–66.

23. Дамиров М.М. Новый взгляд на патогенез аденомиоза / М.М. Дамиров, А.М. Шабанов // Неотложная медицинская помощь. – 2013. – № 3. – С. 23–27.

24. Дамиров М.М. Современные подходы к лечению больных аденомиозом / М.М. Дамиров, Н.Н. Слюсарь // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2011. – № 10(3). – С. 45–49.

25. Дамиров М.М. Сопоставление ультразвуковых и морфологических симптомов аденомиоза / М.М. Дамиров, А.М. Шабанов // Акушерство и гинекология. – 2002. – № 5. – С. 28–32.

26. Джемлиханова Л.Х. Особенности гемодинамики в артериях матки и яичников при различных формах овариальной недостаточности : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2002. – С. 42–49.

27. Джобава Э.М. Дисменорея. Современный взгляд на этиопатогенез и терапию в практике акушера-гинеколога / Э.М. Джобава, К.Б. Логинова // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 11.

28. Есипова И.А. Эхографические критерии внутриматочной патологии при трехмерной ультразвуковой визуализации : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2015.

29. Железнов Б.И. Генитальный эндометриоз / Б.И. Железнов, А.Н. Стрижаков. – М. : Медицина, 1985. – 160 с.

30. Зарубина И.П. Клиникоморфологическая характеристика изменений эутопического и эктопического эндометрия при аденомиозе : Дис. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – 119 с.

31. Зотова О.А. Аденомиоз: клиника, факторы риска, проблемы диагностики и лечения / О.А. Зотова, Н.В. Артымук // Гинекология : журнал для практикующих врачей. – 2013. – Т. 15. – № 6. – С. 31–34.

32. Ищенко А.И. Применение лазерной энергии в комплексном лечении аденомиоза / А.И. Ищенко, С.А. Мышенкова, Е.Н.Жуманова, О.Ю. Горбенко, А.А. Ищенко // Лазерная Медицина. – 2013. – № 3. – С. 28–30.

33. Ищенко А.И. Современные подходы в диагностике и органосохраняющем лечении аденомиоза / А.И. Ищенко, Е.Н. Жуманова, А.А. Ищенко, О.Ю. Горбенко, Е.А. Чунаева, Э.С. Агаджанян, Я.С. Савельева // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2013. – № 3. – Т. 7. – С. 30–36.

34. Ищенко А.И. Органосохраняющее лечение аденомиоза журнал / А.И. Ищенко, Е.Н. Жуманова, А.А. Ищенко, О.Ю. Горбенко, С.А. Мышенкова, Э.С. Агаджанян, Я.С. Савельева // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 12.

35. Ключаров И.В. Амбулаторная гистероскопия как пример безопасной и эффективной стационар замещающей технологии / И.В. Ключаров, А.А. Хасанов, Е.В. Савельев // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 2.

36. Коган Е.А. Автономность роста очагов аденомиоза: Иммуногистохимические особенности экспрессии маркеров / Е.А. Коган, Н.В. Нивзяева, Т.А. Демур, Л.С. Ежова, А.Л. Унанян // Иммунология. – 2011. – Т. 12. – С. 311–325.

37. Коган Е.А. Клинико-морфологические особенности очаговой, узловой и диффузной форм аденомиоза / Е.А. Коган, Н.Б. Парамонова, А.А. Шкляр, Н.М. Файзуллина, Л.В. Адамян // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2016. – Т. 3. – № 1.

38. Коган Е.А. Клинико-морфологические параллели и молекулярные аспекты морфогенеза аденомиоза / Е.А. Коган, А.Л. Унанян, Т.А. Демура // Архив патологии. – 2008. – Т. 70. – № 5. – С. 8–12.

39. Коган Е.А. Морфологический и молекулярный субстрат нарушения рецептивности эндометрия у бесплодных пациенток с наружно-генитальным эндометриозом / Е.А. Коган, Е.А. Калинина, А.В. Колотовкина, Н.М. Файзуллина, Л.В. Адамян // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 8.

40. Коган Е.А. Гетерогенность аденомиоза / Е.А. Коган, Н.В. Низяева, Т.А. Демура, Н.М. Файзуллина, Л.С. Ежова, А.Л. Унанян // Материалы XI Всероссийского научного форума «Мать и дитя». – М., 2010. – 402 с.

41. Кондриков Н.И. Аденомиоз: некоторые клинико-морфологические особенности / Н.И. Кондриков, Л.В. Адамян, О.А. Могиревская, М.В. Бобкова // Эндоскопия в диагностике и лечении патологии матки (с курсом эндоскопии) : материалы международного конгресса. – М., 1997. – Т. 2. – С. 13–15.

42. Кузнецова И.В. Хроническая тазовая боль / И.В. Кузнецова // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 5.

43. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. – М. : МИР, 1969. – С. 503–505.

44. Лютая Е.Д. Возможности доплерографии в оценке особенностей васкуляризации миоматозных узлов / Е.Д. Лютая // Эхография. – 2000. – Т. 1. – № 1. – С. 64–65.

45. Максимова А.А. Современные аспекты этиологии и патогенеза эндометриоза / А.А. Максимова, Р.Р. Денишев // Научное сообщество студентов XXI столетия. ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ : сборник статей по

материалам XLIX международной студенческой научно-практической конференции. – 2017. – № 2(49).

46. Мельников М.В. Диагностика и тактика хирургического лечения инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста / М.В. Мельникова, В.Д. Чупрынин, С.В. Аскольская., Г.Н. Хабас, Р.Б. Матроницкий, А.В. Вередченко, П.Н. Бурыкина, Ю.В. Попов, А.М. Хачатрян, Е.Г. Хилькевич // *Акушерство и гинекология*. – 2012. – № 7.

47. Непомнящих Л.М. Патоморфологические аспекты внутреннего эндометриоза / Л.М. Непомнящих // *Сибирский онкологический журнал*. – 2012. – № 2. – С. 41–44.

48. Непомнящих Л.М. Иммуноцитохимический анализ пролиферативной активности клеточных популяций эндометрия и миометрия при очаговом и стромальном аденомиозе / Л.М. Непомнящих, Е.Л. Лушникова, О.П. Молодых, А.К. Пичигина // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2013. – № 4. – С. 511–516.

49. Непомнящих Л.М. Патоморфологические аспекты аденомиоза / Л.М. Непомнящих, Е.Л. Лушникова, О.Г. Пекарев, А.К. Лушникова, Е.В. Никитенко // *Сибирский онкологический журнал*. – 2012. – № 2(50). – С. 39–45.

50. Оразов М.Р. Нейрососудистые отношения в стенке матки при аденомиозе / М.Р. Оразов, О.Н. Сулаева, Е.Н. Носенко // *Морфология*. – 2005. – Т. 9. – № 1. – С. 52–57.

51. Оразов М.Р. Некоторые гистероскопические критерии диагностики тазовой боли, обусловленной аденомиозом / М.Р. Оразов // *Трудный пациент*. – 2013. – № 8–9.

52. Оразов М.Р. Особенности эндокринного баланса у женщин с болевым синдромом аденомиоза / М.Р. Оразов // *Трудный пациент*. – 2014. – № 8–9

53. Ордиянц И.М. Прогностическая значимость генетических факторов в развитии миомы матки и ее сочетании с аденомиозом / И.М. Ордиянц,

С.Э. Аракелов, В.В. Карданова, Е.В. Дмитриева, Е.Г. Ордянец // Журнал Мать и Дитя в Кузбассе. – 2014. – № 3 (58). – С. 32–36.

54. Печеникова В.А. К вопросу о патогенетических механизмах развития и прогрессии внутреннего генитального эндометриоза-аденомиоза / В.А. Печеникова, Р.А. Акопян, И.М. Кветной // Журнал Акушерства и женских болезней. – 2015. – С. 51–58.

55. Побединский Н.М. Цветовое доплеровское картирование и доплерометрия артерий миометрия и эндометрия / Н.М. Побединский, Е.В. Федорова, И.Д. Хохлова, А.Д. Липман // Ультразвуковая диагностика. – 2000. – № 1. – С. 54–62.

56. Поздняков С.А. Трансвагинальная эхография в диагностике аденомиоза и цервикального эндометриоза / С.А. Поздняков, Р.Я. Абдуллаев, О.В. Грищенко, В.В. Бобрицкая // Вестник Харьковского Национального Университета им. В.Н. Каразина. – 2006. – № 12. – С. 123–127.

57. Поморцев А.В. Ультразвуковая диагностика аденомиоза / А.В. Поморцев, К.А. Лобанов, А.Г. Зубахин, Т.Б. Макухина // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – № 2 (151). – С. 116–123.

58. Прилепская В.Н. Дисменорея / В.Н. Прилепская, Е.А. Межевитинова // Русский медицинский журнал. – 1999. – Т. 7. – № 3. – С. 5–8.

59. Радзинский В.Е. Экспрессия сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) в тканях матки как один из механизмов аллогенеза при аденомиозе, ассоциированном с хронической тазовой болью / В.Е. Радзинский, М.Р. Оразов, Е.Н. Носенко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2016. – № 1 (т. 60). – С. 32–35.

60. Радзинский В.Е. Эндометриоз : учебно-методическое пособие / В.Е. Радзинский. – М., 2001. – 52 с.

61. Рухляда Н.Н. Диагностика и лечение манифестного аденомиоза / Н.Н. Рухляда. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2004. – 205 с.

62. Сагиндыкова Р.Р. Молекулярно-генетические механизмы гиперплазии и интраэпителиальной неоплазии эндометрия у женщин перименопаузального периода / Р.Р. Сагиндыкова, С.И. Аскольская, Е.А. Коган, В.Д. Чупрынин // *Акушерство и гинекология*. – 2014. – № 7.

63. Саидданеш Ш.Ф. Современные методы диагностики распространенных форм эндометриоза / Ш.Ф. Саидданеш, В.Д. Чупрынин, Е.Г. Хилькевич, Н.А. Буралкина, С.В. Павлович, А.Ю. Данилов, В.В. Чурсин // *Акушерство и гинекология*. – 2017. – № 5.

64. Самоделкин Е.И. Современные гистологические особенности аденомиоза у пациенток репродуктивного возраста / Е.И. Самоделкин, П.В. Косарева, Е.Н. Трясцина // *Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции*. – Челябинск, 2015. – 130 с.

65. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов / Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – С. 190.

66. Семенов И.А. Особенности регионального кровообращения при аденомиозе : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Спб., 2007.

67. Семенюк А.А. Болевой синдром при генитальном эндометриозе / А.А. Семенюк, В.П. Баскаков, И.В. Поспелов // *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2001. – № 3. – С. 96–97.

68. Серов В.Н. Диагностика гинекологических заболеваний с курсом патологической анатомии / В.Н. Серов, И.Н. Звенигородский. – М. : БИНОМ, 2003. – 139 с.

69. Сидорова И.С. Дифференцированный подход к лечению аденомиоза / И.С. Сидорова, А.Л. Унанян // *Акушерство, гинекология и репродуктология*. – 2011. – Т. 5. – № 2. – С. 16–22.

70. Сорокина А.В. Патогенез, прогнозирование и постгеномная диагностика аденомиоза : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2012.

71. Стрижаков А.Н. Доброкачественные заболевания матки / А.Н. Стрижаков, В.М. Пашков, А.И. Давыдов. – М. : ГОЭТАР-Медиа, 2014. – 312 с.

72. Стрижаков А.Н. Эндометриоз / А.Н. Стрижаков, А.И. Давыдов // Клинические и теоретические аспекты. – М. : Медицина, 1996. – 330 с.

73. Тапильская Н.И. Аденомиоз как самостоятельный фенотип дисфункции эндометрия / Н.И. Тапильская, С.Н. Гайдуков, Т.Б. Шанина // Эффективная фармакотерапия. – 2015. – № 5. – С. 62–68.

74. Тихомиров А.Л. Новая концепция возможного патогенеза эндометриоза. Обоснование профилактики / А.Л. Тихомиров, И.Б. Манухин, А.Е. Батаева // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 1. – С. 6–10.

75. Тихончук Е.Ю. Частота выявления и структура патологических изменений эндометрия у женщин репродуктивного возраста с генитальным эндометриозом / Е.Ю. Тихончук, А.В. Асатурова, Л.В. Адамян // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 12.

76. Ткачева Е.В. Металлопротеиназы 14 и 17 как фактор реваскуляризации при аденомиозе / Е.В. Ткачева, М.З. Горелик, И.В. Дюйзен // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2015. – № 2. – С. 69–73.

77. Тухбатуллин М.Г. Эхография в диагностике аденомиоза / М.Г. Тухбатуллин, Г.Р. Ахунова, Р.Р. Ахунова // «Практическая медицина». – 2015. – № 1(86). – С. 32–37.

78. Унанян А.Л. Активный и неактивный аденомиоз: вопросы патогенеза и патогенетической терапии / А.Л. Унанян, И.С. Сидорова, Е.А. Коган, Т.А. Демура, С.А. Демура // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 4.

79. Унанян А.Л. Активный и неактивный аденомиоз: клинимо-морфологические варианты развития, дифференциальный подход к терапии / А.Л. Унанян, И.С. Сидорова, Е.А. Коган // Акушерство гинекология и репродуктология. – 2012. – Т. 6. – № 2. – С. 25–30.

80. Федорова Е.В. Возможности трансвагинальной эхографии, цветного доплеровского картирования и доплерометрии в диагностике гиперпластических процессов эндометрия и оценке эффективности проводимого лечения : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2000. – С. 34.

81. Фридман Д.Б. Биопсийная диагностика аденомиоза : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Спб., 2006.

82. Хилькевич Е.Г. Гормональная терапия в послеоперационном периоде у больных с эндометриозом и миомой матки / Е.Г. Хилькевич, О.И. Языкова // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 10.

83. Цвелев Ю.В. Проблемы современной диагностики аденомиоза / Ю.В. Цвелева, Н.Н. Рухляда, В.П. Баскаков // Журнал акушерства и женских болезней. – 2002. – № 1. – С. 105–111.

84. Шешукова Н.А. Гиперпластические процессы эндометрия: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение / Н.А. Шешукова, И.О. Макаров, М.Н. Фомина // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 4.

85. Шкляр А.А. Клинико-морфологические особенности диффузной и узловой форм аденомиоза / А.А. Шкляр, Л.В. Адамян, Е.А. Коган, Н.Б. Парамонова, И.Ф. Козаченко, Т.Ю. Гаврилова // Проблемы репродукции 2015. – № 21. – С. 74–79.

86. Шкляр А.А. Трудности диагностики узловой и диффузной форм аденомиоза / А.А. Шкляр, Л.В. Адамян, Е.А. Коган, Н.Б. Парамонова, И.Ф. Козаченко, Т.Ю. Гаврилова, С.Н. Кононов // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 3.

87. Щеголев А.И. Эндометриоз и развитие опухолей / А.И. Щеголев, А.Г. Быков, У.Н. Туманова, С.В. Павлович // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 11.

88. Ярмолинская М.И. Генитальный эндометриоз: влияние гормональных, иммунологических и генетических факторов на развитие, особенности течения и выбор терапии : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2009.

89. Amor R. Endometriosis. Symptoms and diagnosis / R. Amor // *Ginecol. Obstet. Mex.* – 2001. – Vol. 69. – P. 288–296.

90. Bazot M. Limitations of transvaginal sonography for the diagnosis of adenomyosis, with histopathological correlation / M. Bazot, E. Darai, J. Rouger, R. Detchev, A. Cortez // *J. Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2002. – Vol. 12. – № 6. – P. 605–611.

91. Bazot M. Ultrasonography compare with magnetic resonance imaging for the diagnosis of adenomyosis: correlation with histopathology / M. Bazot, A. Cortez, E. Darai, J. Rouger, J. Chopier, J. Antoine, S. Uzan, // *Human Reproduction.* – 2001. – Vol. 16. – № 11. – P. 2427–2433.

92. Bedaiwy M.A., Dahoud W., Skomorovska-Prokvolit Y., Liu J.H., Falcone T., Mesiano S. Expression of progesterone receptor isoforms-A and-B in adenomyosis // *Fertil Steril.* – 2013. – № 100. – P. 387.

93. Benagiano G. Adenomyosis: new knowledge is generation new treatment strategies / G. Benagiano, I. Brosens, S. Carrara // *Women's Health.* – 2009. – Vol. 5. – № 3. – P. 297–311.

94. Benagiano G. Adenomyosis and Endometriosis Have a Common Origin / G. Benagiano, I. Brosens // *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India.* – 2011. – № 61(2). – P. 146–152.

95. Benagiano G. The pathophysiology of uterine adenomyosis: an update / G. Benagiano, M. Habiba, I. Brosens // *Fertil Steril.* – 2012. – № 98(3). – P. 572–579.

96. Bergeron C., Amant F., Ferenczy A. Pathology and physiopathology of adenomyosis // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2006. – № 20(4). – P. 511–521.

97. Bergholt T. Prevalence and risk factors of adenomyosis at hysterectomy / T. Bergholt, L. Eriksen, N. Berendt, M. Jacobsen, J. B. Hertz // *Hum. Reprod.* – 2001. – № 16(11). – P. 2418–2421.

98. Bilotas M. Effect of aromatase inhibitors on ectopic endometrial growth and peritoneal environment in a mouse model of endometriosis / M. Bilotas,

G. Meresman, I. Stella, C. Sueldo, I.R. Baranao // *Fertility and Sterility*. – 2010. – № 93. – P. 2513–2518.

99. Bird C.C. The elusive adenomyosis of the uterus-revisited / C.C. Bird, T.W. McElin, P. Manalo-Estrella // *Am J Obstet Gynecol*. – 1972. – № 112. – P. 583–593.

100. Botsis D. Adenomyoma and leiomyoma: differential diagnosis with transvaginal sonography / D. Botsis // *Clin. Ultrasound*. – 1998. – Vol. 26. – P. 21–25.

101. Bousquet M.C. Adenomyosis / M.C. Bousquet, M. Canis, M.A. Bruhat // *La Revue de Praticien*. – 1999. – Vol. 49(3). – P. 282–286.

102. Brosens I. A compass for understanding endometriosis / I. Brosens, O. Steeno // *Fertil Steril*. – 2000. – Vol. 73. – P. 179.

103. Brosens I. Endometriosis, a modern syndrome / I. Brosens, G. Benagiano // *Indian J Med Res*. – 2011. – Vol. 133. – P. 581–593.

104. Brosens I. Non-invasive methods of diagnosis of endometriosis / P. Puttemans, R. Campo, S. Gordts, J.J. Brosens // *Current Opinion Obstetrics and Gynecology*. – 2003. – Vol. 15. – P. 519–522.

105. Brosens I. Risks of adverse pregnancy outcome in endometriosis / I. Brosens, J.J. Brosens, L. Fusi, M. Al-Sabbagh, K. Kuroda, G. Benagiano // *Fertil. Steril*. – 2012. – Vol. 98. – P. 30–35.

106. Brosens I. The enigmatic uterine junctional zone: the missing link between reproductive disorders and major obstetrical disorders? / I. Brosens, I. Derwig, J. Brosens, L. Fusi, G. Benagiano, R. Pijnenborg // *Human Reproduction*. – 2010. – Vol. 25. – № 3. – P. 569–574.

107. Brosens J.J. Myometrial zonal differentiation and uterine junctional zone hyperplasia in the non-pregnant / J.J. Brosens, G. Barker, M. de Souza // *Human Reproduction Update*. – 1998. – Vol. 4. – № 5. – P. 496–502.

108. Brosens J.J. The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies / J.J. Brosens, R. Pijnenborg, I. Brosens // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2002. – Vol. 187. – № 5. – P. 1416–1423.

109. Brosens J.J. Uterine adenomyosis: a need for uniform terminology and consensus classification / J.J. Brosens, S. Gordts, L. Fusi, G. Benagiano, I. Brosens // *Reproductive Biomedicine Online*. – 2008. – Vol. 17. – № 2. – P. 244–248.

110. Brosens J.J. Uterine junctional zone: function and disease / J.J. Brosens, N.M. de Souza, F.G. Barker // *The Lancet*. – 1995. – Vol. 346. – № 8974. – P. 558–560.

111. Brown H.K. Uterine junctional zone: correlation between histologic findings and MR imaging / H.K. Brown, B.S. Stoll, S.V. Nicosia // *Radiology*. – 1991. – № 179. – P. 409–413.

112. Bulum S. Endometriosis / S. Bulum // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360. – № 3. – P. 268–279.

113. Bulum S.E. Estrogen production and metabolism in endometriosis / S.E. Bulum, S. Yang, Z. Fang // *Ann. New York Acad. Sei.* – 2002. – Vol. 955. – P. 7585.

114. Bulum S.E. Progesterone resistance in endometriosis: Link to failure to metabolize estradiol / S.E. Bulun, Y.H. Cheng, P. Yin // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 248. – № 1–2. – P. 94–103.

115. Campo S. Adenomyosis and infertility / S. Campo, V. Campo, G. Benagiano // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2012. – Vol. 24. – P. 35–46.

116. Chan R.W. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells / R.W. Chan, K.E. Schwab, C.E. Gargett // *Biol Reprod.* – 2004. – Vol. 70. – P. 1738–1750.

117. Chapron C., Tosti C., Marcellin L., Bourdon M., Lafay-Pillet M.-Ch., Millischer A.-E., Streuli I., Borghese B., Petraglia F., Santulli P. Relationship between the magnetic resonance imaging appearance of adenomyosis and endometriosis phenotypes // *Human Reproduction*. – 2017. – № 32(7). – P. 1393–1401

118. Chernoff D.M. Magnetic resonance imaging of the female pelvis. Imaging and endoscopy in gynecology: a practical guid / D.M. Chernoff, H. Hricak H. – 1997. – P. 81.

119. Chopra S. Adenomyosis: Common and Uncommon Manifestations on Sonography Magnetic Resonance Imaging / S. Chopra, A.S. Lei-Toaff, F. Ors, D. Ber // J Ultrasound Med. – 2006. – Vol. 25. – P. 617–627.

120. Colour Deconvolution [Электронный ресурс]. – URL : <http://www.mecourse.com/landinig/software/cdeconv/cdeconv.html> (accessed: 01.06.2016).

121. DAB analyzer [Электронный ресурс]. – URL : [https://github.com/meklon/DAB\\_analyzer/](https://github.com/meklon/DAB_analyzer/) (accessed: 02.06.2016).

122. De Souza N.M. The potential value of magnetic resonance imaging in infertility / N.M. de Souza, J.J. Brosens, J.E. Schwieso, T. Paraschos, R.M. Winston // Clin. Radiol. – 1995. – Vol. 50. – P. 75–79.

123. Devlieger R. Uterine adenomyosis in the infertility clinic / R. Devlieger, T. D'Hooghe, D. Timmerman // Hum Reprod Update. – 2003. – Vol. 9. – № 2. – P. 139–147.

124. Dueholm M. Magnetic resonance imaging and transvaginal ultrasonography for the diagnosis of adenomyosis / M. Dueholm, E. Lundorf, E.S. Hansen, J.S. Sorensen, S. Ledertoug, E. Olesen // Fertil Steril. – 2001. – Vol. 76. – P. 588–594.

125. Dueholm M. Transvaginal ultrasound for diagnosis of adenomyosis: a review / M. Dueholm // Best Practice and Research Clinical Obstetrics Gynaecology. – 2006. – Vol. 20. – № 4. – P. 569–582.

126. Exacoustos C. Adenomyosis: three-dimensional sonographic findings of the junctional zone and correlation with histology / C. Exacoustos, L. Brienza, A. Di Giovanni, B. Szabolcs, M.E. Romanini, E. Zupi, D. Arduini // Ultrasound Obstet Gynecol. – 2011. – Vol. 37(4). – P. 471–479.

127. Exacoustos C. Imaging for the evaluation of endometriosis and adenomyosis / C. Exacoustos, L. Manganaro, E. Zupi // Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2014. – Vol. 28 (5). – P. 655–681.

128. Ferreira de Souza L.R.M., Alencar De Nicola A.L., De Nicola H. Atlas of Imaging in Infertility: A Complete Guide Based in Key Images. – 2017. – "Springer". – 213 P. (Kunz G. et al; Lyendecker G.).

129. Fuji S. Smooth muscle differentiation at endometrial-myometrial junction / S. Fuji, I. Konishi, T. Mori // Virchow Arch., Abt. A. Pathol. Anat. – 1989. – Vol. 414. – P. 105–112.

130. Fumica C. MRI imaging in endometriosis: personal study and pictorial review / C. Fumica, M.M. Leon, P.O. Cnisd // Gynecology. – 2012. – Vol. 8. – № 27.

131. Fusi L. The uterine junctional zone / L. Fusi, B. Cloke, J.J. Brosens // Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. – 2006. – Vol. 20. – № 4. – P. 479–491.

132. Gargett C.E. Generating receptive endometrium in Asherman's syndrome / C.E. Gargett, D.L. Healy // Journal Human Reproduction Sci. – 2011. – № 4. – P. 49–52.

133. Gargett C.E. Isolation and Culture of Epithelial Progenitors and Mesenchymal Stem Cell from Human Endometrium / C.E. Gargett, K.E. Schab, R.M. Zillwood, H. Nuyen, Di Wu // Biology of reproduction. – 2009. – № 80. – P. 1136–1145.

134. Gargett C.E. Uterine stem cells: What is the evidence? / C.E. Gargett // Humam Reproduction Update. – 2007. – Vol. 13. – № 1. – P. 87–101.

135. Garry R. The effect of endometriosis and its radical laparoscopic excision on quality of life indicators / R. Garry, R. Clayton, J. Hawe // Br J Obstet Gynaecol. – 2000. – Vol. 107. – P. 44–54.

136. Gordts S. Uterine adenomyosis: a need for uniform terminology and consensus classification / J.J. Brosens, L. Fusi, G. Benagiano, I. Brosens // Reproductive Biomedicine Online. – 2008. – Vol. 17. – № 2. – P. 244–248.

137. Grant D. Cellular mechanisms of Mullerian duct formation in the mouse / R.Orvis, R. Behninger // Developmental Biology. – 2007. – Vol. 306. – P. 493–504.

138. Grimbizis G.F., Mikos T., Tarlatzis B. Uterus-sparing operative treatment for adenomyosis // *Fertil. Steril.* – 2014. – № 101(2). – P. 472–487.

139. Guo S.W. Dysmenorrhea and its severity are associated with increased uterine contractility and overexpression of oxytocin receptor (OTR) in women with symptomatic adenomyosis / S.W. Guo, X. Mao, Q. Ma // *Fertil Steril.* – 2013. – Vol. 99(1). – P. 231–240.

140. Haheshwari A. Adenomyosis and subfertility: a systematic review of prevalence, diagnosis, treatment and fertility outcomes / A. Haheshwari, S. Gurunath, F. Farah, S. Bhattacharya // *Human Reproduction Update.* – 2012. – Vol. 18. – № 4. – P. 374–392.

141. Harada M. Mechanical stretch stimulates interleukin and production in endometrial stromal cells: possible implications in endometrium related events / M. Harada, Y. Osuga, Y. Hirota, K. Koga, C. Morimoto, T. Hirata, O. Yoshino, O. Tsutsumi, T. Yano, Y. Taketani // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* – 2005. – Vol. 90. – P. 144–148.

142. Harada T., Khine Y.M., Kaponis A., Nikellis T., Decavalas G., Taniguchi F. The Impact of Adenomyosis on Women's Fertility // *Obstet Gynecol Surv.* – 2016. – № 71(9). – P. 557–568.

143. Hauth E.A. MR imaging of the uterus and cervix in healthy women: determination of normal values / E.A. Hauth, H.J. Jaeger, H. Libera, S. Lange, M. Forsting // *Eur. Radiol.* – 2007. – Vol. 17. – P. 734–742.

144. Hong S.C., Khoo C.K. An update on adenomyosis uteri // *Gynecology and Minimally Invasive Therapy.* – 2016. – Vol. 5. – Issue 3. – P. 106–108.

145. Hricak H. Magnetic resonance imaging of the female pelvis: initial experience / H. Hricak, C. Alper, L.R. Crooks // *American Journal of Roentgenology.* – 1983. – Vol. 141. – № 6. – P. 1119–1128.

146. Ibrahim M.G., Sillem M., Plendl J., Chiantera V., Sehoul J., Mechsner S. Myofibroblasts Are Evidence of Chronic Tissue Microtrauma at the Endometrial-Myometrial Junctional Zone in Uteri With Adenomyosis // *Reprod Sci.* – 2017. – № 24(10). – P. 1410–1418.

147. Junqueira L.C.U. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the picosirius-polarization method / L.C.U. Junqueira, G.S. Montes, E.M. Sanchez // *Histochemistry*. – 1982. – Vol. 74. – P. 153–156.

148. Kaligowska E. Pelvic pain: Overlooked and underdiagnosed gynaecologic conditions / E. Kaligowska, L. Deeds, K. Lu // *Radio Graphics*. – 2005. – Vol. 25. – P. 3–20.

149. Kepkep K. Transvaginal sonography in the diagnosis of adenomyosis: which findings are most accurate? / K. Kepkep, Y.A. Tuncay, G. Göynümer, E. Tural // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2007. – Vol. 30. – P. 341–345.

150. Kishi Y. Four subtypes of adenomyosis assessed by magnetic resonance imaging and their specification / Y. Kishi, H. Suginami, R. Kuramori, M. Yabuta, R. Suginami, F. Taniguchi // *Am J Obstet Gynecol.* – 2012. – Vol. 207(2). – P. 114–117

151. Klemmt P. Stromal cells from endometriotic lesions and endometrium from women with endometriosis have reduced decidualization capacity / P. Klemmt, J. Carver, S. Kennedy, P. Koninckx, H. Mardon // *Fertility and Sterility*. – 2006. – Vol. 85. – № 3. – P. 564–572.

152. Konishi I. Development of smooth muscles in the human fetus uterus: an ultrasound study / I. Konishi, S. Fuji, H. Okamura, T. Mori // *J. Anat.* – 1984. – № 139. – P. 239–252.

153. Kunz G. Adenomyosis as a disorder of the early and late human reproductive period / G. Kunz, M. Herbertz, D. Beil, P. Huppert, G. Leyendecker // *Reproductive Bio Medicine Online*. – 2007. – Vol. 15. – № 6. – P. 681–685.

154. Kupesic S. The assessment of uterine and ovarian perfusion in infertile patients / S. Kupesic, A. Kurjak // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1999. – Vol. 71. – № 2. – P. 151–154.

155. Landini G. Digital enhancement of haematoxylin and eosin-stained histological images for red-green colour-blind observers / G. Landini, G. Perryer // *J. Microsc.* – 2009. – Vol. 234. – № 3. – P. 293–301.

156. Landini G. Estimation of tissue layer level by sequential morphological reconstruction / G. Landini, I. E. Othman // *J. Microsc.* – 2003. – Vol. 209. – № 2. – P. 118–125.

157. Larsen S.B. Adenomyosis and junctional zone changes in patients with endometriosis / S.B. Larsen, E. Lundorf, A. Forman, M. Dueholm // *European journal of obstetrics and gynecology and reproductive biology.* – 2011. – Vol. 157. – № 2. – P. 206–211.

158. Levy G., Dehaene A., Laurent N., Lernout M., Collinet P., Lucot J.P. An update on adenomyosis // *Diagn. Interv. Imaging.* – 2013. – № 94(1). – P. 3–25.

159. Leyendecker G. Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium / G. Leyendecker, M. Herberitz, G. Kunz, G. Mall // *Hum Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 2725–2736.

160. Leyendecker G. Endometriosis: a disfunction and disease of the archimetra / G. Leyendecker, G. Kunz, M. Noe, G. Mall, M. Herberitz // *Human Reproduction Update.* – 1998. – Vol. 4. – № 5. – P. 752–762.

161. Leyendecker G., Bilgicyildirim A., Inacker M., Stalf T., Huppert P., Mall G. Adenomyosis and endometriosis. Re-visiting their association and further insights into the mechanisms of auto-traumatisation. An MRI study // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2014. – № 21.

162. Leyendecker G., Kunz G., Kissler S, Wildt L. Adenomyosis and reproduction // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2006. – № 20. – P. 523–546.

163. Linda C. Giudice, Johannes L.H. Evers, David L. Healy *Endometriosis: Science and Practice.* John Wiley & Sons. – 2012. – 581 p.

164. Lyons E.A. Characterization of subendometrial myometrial contractions throughout the menstrual cycle in normal fertile women / E.A. Lyons, P.J. Taylor, X.H. Zheng, G. Ballard, C.S. Levi., J.V. Kredentser // *Fertil Steril.* – 1991. – Vol. 55. – № 4. – P. 771–774.

165. Machado D.E., Abrao M.S., Berardo P.T., Takiya C.M., Nasciutti L.E. Vascular density and distribution of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGF R-2 (Flk-1) are significantly higher in patients with deeply infiltrating endometriosis affecting the rectum // *Fertil Steril.* – 2008. – № 90(1). – P. 148–155.

166. Maheshwari A. Adenomyosis and subfertility: a systematic review of prevalence, diagnosis, treatment and fertility outcomes / A. Maheshwari, S. Gurunath, F. Fatima, S. Bhattacharya // *Hum. Reprod Update.* – 2012. – Vol. 18. – P. 374–392.

167. Maubon A., Fauray A., Kapella M., Pouquet M., Piver P. Uterine junctional zone at magnetic resonance imaging: a predictor of in vitro fertilization implantation failure // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2010. – № 36(3). – P. 611–618.

168. McCarthy S. Uterine junctional zone: MR study of water content and relaxation properties / S. Mc Carthy, G. Scott, S. Majumdar, B. Shapiro, S. Thompson, R. Lange, J. Gore // *Radiology.* – 1989. – Vol. 171. – № 1. – P. 241–243.

169. Mehaseb M.K. Uterine adenomyosis is associated with ultrastructural feature of altered contractility in the inner myometrium / M.K. Mehaseb, S.C. Bell, J.H. Pringle // *Fertility and Sterility.* – 2010. – Vol. 93. – № 7. – P. 2130–2136.

170. Mehaseb M.K. Phenotypic Characterisation of the Inner and Outer Myometrium in Normal and Adenomyotic Uteri / M.K. Mehaseb, S.C. Bell, L. Brown, J.H. Pringle, M. Habiba // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2011. – Vol. 71. – № 4. – P. 217–224.

171. Meredith S.M. Diagnostic accuracy of transvaginal sonography for the diagnosis of the adenomyosis: systematic review and meta-analysis / S.M. Meredith, L. Sanchez-Ramos, A.M. Kaunitz // *Am J Obstet Gynecol.* – 2009. – Vol. 201. – № 1. – P. 1–6.

172. Mitchell D.G. Zones of the uterus: discrepancy between US and MR images / D.G. Mitchell, L. Schonholz, P.L. Hilpert, R.G Pennell, L. Blum, M.D. Rifkin // *Radiology*. – 1990. – Vol. 174. – P. 827–831.

173. Moon S. Adenomyosis by myometrial invasion of endometriosis. Comparison with typical adenomyosis / S. Moon, H.K. Lim, J.Y. Cho, S.H. Kim // *Electronic Presentation Online System*. – 2010. – Vol. 10. – № 1294. – P. 1594.

174. Mori A. Analysis of stem cell factor for mast cell proliferation in the human myometrium / A. Mori, K. Nakayama, J. Sukuki, T. Nikaido, M. Isobe, S. Fujii // *Molecular Human Reproduction*. – 1997. – Vol. 3. – № 5. – P. 411–418.

175. Mori A. Distribution and heterogeneity of mast cells in the human uterus / A. Mori, I.L. Zhai, T. Toki, T. Nikaido, S. Fujii // *Human Reproduction*. – 1997. – Vol. 12. – № 2. – P. 268–372.

176. Moustakas A. Signaling networks guiding epithelial-mesenchymal transitions during embryogenesis and cancer / A. Moustakas, C.H. Heldin // *Cancer Sci*, 2007. – Vol. 98. – № 10. – P. 1512–1520.

177. Naftalin J. Endometrial-myometrial junction: a fresh look at a buzy crossing / J. Naftalin, D. Jurcovic // *Ultrasound Ostet Gynecol*. – 2009. – № 34. – P. 1–11.

178. Naftalin J. How common is adenomyosis? A prospective study of prevalence using transvaginal ultrasound in a gynaecology clinic / J. Naftalin, W. Hoo, K. Pateman // *Human Reproduction*. – 2012. – Vol. 27. – № 12. – P. 3432–3439.

179. Nguyen M.S., Voci S. Adenomyomatosis // *Ultrasound Q*. – 2013. – № 29(3). – P. 215–217.

180. Novellas S. MRI characteristics of the uterine junctional zone: from normal to the diagnosis of adenomyosis / S. Novellas, M. Chassang, J. Delotte, O. Toullalan, A. Chevallier, J. Bouaziz, P. Chevallier // *American Journal of Roentgenology*. – 2011. – Vol. 196. – № 5. – P. 1206–1213.

181. Paterson L. Mesenchymal-to-Epithelial Transition Contributes to Endometrial Regeneration Following Natural and Artificial Decidualization /

L. Paterson, L. Zhang, N. Arango, J. Teixeira, J. Pru // *Stem cells and development*. – 2013. – Vol. 22. – № 6. – P. 964–974.

182. Pontis A., D'Alterio M.N., Pirarba S., de Angelis C., Tinelli R., Angioni S. Adenomyosis: a systematic review of medical treatment // *Gynecol Endocrinol*. – 2016/7. – № 32(9). – P. 696–700.

183. Rabinovici J. Minimally Invasive Gynecological Surgery // Olav Istre Editor “Springer”. – 2015. – 205 p.

184. Reinhold C. Diffuse adenomyosis: comparison of endovaginal US and MR imaging with histopathologic correlation / C. Reinhold, S. McCarthy, P.M. Bret // *Radiology*. – 1996. – № 199. – P. 151–158.

185. Reinhold C. Uterine adenomyosis: endovaginal US and MR imaging features with histopathologic correlation / C. Reinhold, F. Tafazoli, A. Mehio, L. Wang, M. Atri, E. S. Siegelman, L. Rohoman // *Radiographics*. – 1999. – № 19. – P. 147–160.

186. Rocha A.L. Activin A stimulates interleukin 8 and vascular endothelial growth factor release from cultured human endometrial stromal cells: possible implications for the pathogenesis of endometriosis / A.L. Rocha, P. Carrarelli, R. Novembri, F. de Pascalis, S. Luisi, F.M. Reis, F. Petraglia // *Reprod Sci*. – 2012. – Vol. 19(8). – P. 832–838.

187. Ruifrok A.C. Quantification of histochemical staining by color deconvolution / A.C. Ruifrok, D.A. Johnston // *Anal. Quant. Cytol. Histol*. – 2001. – Vol. 23. – № 4. – P. 291–299.

188. Sabo E. Computerized morphometry as an aid in determining the grade of dysplasia and progression to adenocarcinoma in Barrett's esophagus / E. Sabo, A. Beck, E. Montgomery // *Labor. Invest*. – 2006. – Vol. 86. – P. 1261–1271.

189. Sakhel K. Sonography of adenomyosis / K. Sakhel, A. Abuhamad // *J Ultrasound Med*. – 2012. – Vol. 31(5). – P. 805–808.

190. Schwab K.E. Putative stem cell activity of human endometrial epithelial and stromal cells during the menstrual cycle / K.E. Schwab, R.W. Chan, C.E. Gargett // *Fertil Steril*. – 2005. – Vol. 84(2). – P. 1124–1130.

191. Scutt L.M. Junctional zone of uterus: correlation of MR imaging and histologic examination of hysterectomy specimens / L.M. Scutt, S.D. Flynn, D.J. Luthringer, T.R. McCauley, S.M. McCarthy // *Radiology*. – 1991. – Vol. 179. – № 2. – P. 403–407.

192. Starzinski-Powitz A. In search of pathogenic mechanisms in endometriosis: the challenge for molecular cell biology / A. Starzinski-Powitz, A. Zeitvogel, A. Schreiner, R. Baumann // *Curr Mol Med*. – 2001. – Vol. 1. – P. 655–664.

193. Sydow B.D. Uterine MRI: a review of technique and diagnosis / B.D. Sydow, E.S. Seigelman // *Applied radiology*. – 2008. – № 12.

194. Tamai K. MR imaging findings of adenomyosis: correlation with histopathologic features and diagnostic pitfalls / K. Tamai, K. Togashi, T. Ito, T. Koyama, N. Morisawa, T. Fujiwara // *Radiographics*. – 2005. – Vol. 25. – № 1. – P. 21–40.

195. Tetlow R.L. Histological analysis of the uterine junctional zone as seen by transvaginal ultrasound / R.L. Tetlow, I. Richmon, D.J. Manton, J. Greenman, L.W. Turnbull, S.R. Killick // *Ultrasound Obstet Gynecol*. – 1999. – Vol. 14. – P. 188–193.

196. Vercellini P. Uterine adenomyosis and in vitro fertilization outcome: a systematic review and meta-analysis / P. Vercellini, D. Consonni, D. Drudi et al. // *Human Reproduction*. – 2014. – Vol. 29. – № 5. – P. 964–977.

197. Vercellini P. Adenomyosis: epidemiological factors / P. Vercellini, P. Viganò, E. Somigliana, R. Daguati, A. Abbiati, L. Fedele // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. – 2006. – Vol. 20. – P. 465–477.

198. Weiss G. Adenomyosis a variant not a disease Evidence from Hysterectomized Menopausal Women in the SWAN Study / G. Weiss, P. Maseelall, L.L. Schott, S.E. Brockwell, M. Schochen, J.M. Johnston // *Fertil Steril*. – 2009. – Vol. 91. – № 1. – P. 201–206.

199. Zandrino F. Magnetic resonance imaging in local staging of endometrial carcinoma diagnostic performance, pitfalls and literature review / F. Zandrino, E. Paglia, F. Musante // *Tumori*. – 2010. – № 96. – P. 601–608.

200. Zhang Y. Ultrastructural features of endometrial-myometrial interface and its alteration in adenomyosis / Y. Zhang, L. Zhou, T. Li, H. Duan, P.Y. Wang // *Int J clin Exp Pathol*. – 2014. – Vol. 7. – № 4. – P. 1469–1477.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

## Приложение 1.

## Схема оценки дисменореи по степени тяжести

Степень тяжести	Работоспособность пациентки	Системные симптомы	Эффективность назначения анальгетиков
0 степень – менструации безболезненные, не влияют на повседневную активность	не снижается	отсутствуют	назначение анальгетиков не требуется
1 степень – менструальное кровотечение сопровождается слабо выраженными болями и лишь изредка ведет к снижению нормальной повседневной активности женщины	снижается редко	отсутствуют	анальгетики требуются редко
2 степень – повседневная активность снижена, пропуск занятий в школе и невыход на работу отмечаются редко, так как анальгетики дают хороший эффект	умеренно снижена	единичные	анальгетики дают хороший эффект, однако прием их необходим
3 степень – повседневная активность резко снижена, анальгетики малоэффективны, наличие вегетативных симптомов (головная боль, быстрая утомляемость, тошнота, рвота, диарея и т.д.)	резко снижена	возникают часто	анальгетики малоэффективны